



---

**Universidad de Valladolid**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA**

**TESIS DOCTORAL**

**ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO  
NUTRICIONAL Y EL ESTRÉS OXIDATIVO EN  
PACIENTES CON HEMODIÁLISIS DE ALTO FLUJO  
VERSUS HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE**

Presentada por Vanesa Camarero Temiño para optar al grado  
de doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por  
Dr. Jesús Bustamante Bustamante, Dra. Pilar Muñiz Rodríguez,  
Dra. Basilia González Díez



## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de esta tesis.

Al Dr. Jesús Bustamante, por sus conocimientos, consejos y orientación en la elaboración de esta tesis.

A la Dra. Pilar Muñoz, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido. Por su rigor científico y su gran capacidad de trabajo.

A la Dra. Basilia González, por hacerme participe de este proyecto, por su ayuda, apoyo y la confianza depositada en mí.

Sin ellos, este trabajo que es tan suyo como mío, no hubiera salido adelante.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Burgos, médicos, enfermeras, auxiliares y secretaria, por su colaboración desinteresada en la realización de este estudio.

A la Dra. M<sup>a</sup> Jesús Coma, Jefa de la Unidad de Investigación del HUBU, donde se ha realizado la parte experimental de este trabajo.

A Mónica Cavia, de la Unidad de Investigación del HUBU, por su ayuda inestimable en la realización de la parte experimental de este trabajo.

A los pacientes de hemodiálisis que han participado voluntariamente y han confiado en nosotros, porque sin ellos este estudio no hubiera sido posible.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de mi familia, en especial de mi marido Raúl, por ser mi apoyo constante.

A todos ellos, muchas gracias.

Este trabajo ha sido realizado en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Burgos, y ha sido financiado por Caja Burgos y la Fundación Burgos por la Investigación de la Salud, a través de las ayudas a la investigación clínica en las convocatorias 2011 y 2013.

*A mis padres y Raúl*



# ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y SU TRATAMIENTO SUSTITUTIVO. ....	1
1.2. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.....	4
1.3. INFLAMACIÓN Y NUTRICION EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.....	8
1.3.1. La inflamación como causa de malnutrición.....	15
1.3.2. Aspectos nutricionales del paciente en hemodiálisis.....	19
1.3.2.1. Métodos de evaluación del estado nutricional .....	20
1.3.2.2. Índices bioquímicos para la evaluación del estado nutricional .....	22
1.4. HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE .....	25
1.4.1. Técnicas convectivas .....	29
1.4.1.1. Hemofiltración .....	31
1.4.1.2. Hemodiafiltración.....	31
1.4.1.3. Los métodos de infusión del fluido de reemplazo .....	31
1.4.1.4. Modo postdilucional.....	32
1.4.1.5. Modo predilucional .....	33
1.4.1.6. Fluido de sustitución.....	33
1.4.1.7. Técnica de producción del líquido online .....	34
1.4.2. Efectos bioquímicos de las técnicas convectivas .....	35
1.4.2.1. Eliminación de solutos con las técnicas convectivas .....	36
1.4.3. Efectos clínicos de las técnicas convectivas .....	37
1.4.3.1. Efectos cardiovasculares.....	38
1.4.3.2. Anemia.....	39
1.4.3.3. Calidad de vida.....	39
1.4.3.4. Nutrición.....	39
1.4.3.5. Amiloidosis relacionada con la diálisis .....	40
1.4.3.6. Tasas de hospitalización .....	41
1.4.3.7. Supervivencia del paciente.....	41
1.5. INDOLAMINA 2,3-DIOXIGENASA (IDO).....	43
1.6. ESTRÉS OXIDATIVO.....	46
1.6.1. Estrategias celulares contra los radicales libres. Sistemas antioxidantes... 56	
1.6.1.1. Antioxidantes enzimáticos .....	58
1.6.1.2. Antioxidantes no enzimáticos .....	65
1.6.1.2.1. Antioxidantes endógenos.....	65

1.6.1.2.2. Antioxidantes presentes en el plasma .....	67
1.6.1.2.3. Antioxidantes exógenos .....	69
1.7. EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO .....	74
1.7.1. Capacidad Antioxidante Total .....	74
1.7.2. Evaluación de los biomarcadores de estrés oxidativo .....	75
1.7.2.1. Biomarcadores de la oxidación a lípidos.....	76
1.7.2.2. Biomarcadores de la oxidación a proteínas .....	77
1.7.2.3. Biomarcadores del daño al DNA.....	77
1.7.3. Evaluación del estado redox .....	79
<b>2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</b>	<b>83</b>
2.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	83
2.2. OBJETIVOS .....	83
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>87</b>
3.1. MATERIAL .....	87
3.1.1. Aparatos .....	87
3.2. POBLACIÓN A ESTUDIO .....	88
3.2.1. Selección de pacientes .....	88
3.2.2. Técnicas dialíticas.....	89
3.2.3. Seguimiento.....	90
3.2.4. Obtención de muestras y procesamiento .....	90
3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS .....	91
3.3.1 Capacidad antioxidante total del plasma.....	91
3.3.1.1. Determinación mediante el método ABTS .....	91
3.3.1.2. Determinación mediante el método FRAP.....	92
3.3.1.3. Determinación de polifenoles totales .....	93
3.3.2. Determinación del estado redox.....	95
3.3.2.1. Determinación del glutatión reducido (GSH).....	95
3.3.2.2. Determinación del GSSG/GSH.....	95
3.3.2.3. Determinación de la concentración de la Tiorredoxina (TRx).....	97
3.3.3. Determinación de biomarcadores de daño oxidativo a biomoléculas .....	98
3.3.3.1. Daño oxidativo a lípidos. Determinación de los niveles de malondialdehído (MDA).....	98
3.3.3.2. Daño oxidativo a proteínas. Determinación de Grupos Carbonilo (GC) .....	100
3.3.4. Determinación de la indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO).....	101
3.3.5. Determinaciones del laboratorio clínico de referencia. ....	103

3.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS .....	106
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>111</b>
4.1. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS INICIALES DE LAS MUESTRAS DE PACIENTES EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE. ....	111
4.2. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO NUTRICIONAL ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.....	115
4.2.1. Comparativa de los parámetros antropométricos .....	116
4.2.1.1. Peso corporal .....	116
4.2.1.2. Índice de masa corporal (IMC).....	118
4.2.2. Comparativa de los parámetros bioquímicos.....	119
4.2.2.1. Proteína visceral.....	120
4.2.2.1.1. Albúmina.....	120
4.2.2.1.2. Transferrina .....	122
4.2.2.1.3. Proteínas totales .....	124
4.2.2.2. Proteína somática.....	125
4.2.2.2.1. Creatinina .....	125
4.2.2.2.2. Niveles de nitrógeno ureico en sangre (BUN) .....	127
4.2.2.3. Lípidos.....	129
4.2.2.3.1. Colesterol total .....	129
4.2.2.3.2. Lipoproteínas de baja densidad (LDL) .....	131
4.2.2.3.3. Lipoproteínas de alta densidad (HDL).....	133
4.2.2.3.4. Triglicéridos .....	134
4.2.2.4. Otros .....	136
4.2.2.4.1. PCR .....	136
4.2.2.4.2. Hemoglobina.....	138
4.3. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO OXIDATIVO ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.....	139
4.3.1. Comparativa de la capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo .....	140
4.3.2. Comparativa de la capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo en el tiempo .....	143
4.3.2.1. Capacidad antioxidante total del plasma .....	143
4.3.2.1.1. Capacidad estabilizadora del radical ABTS <sup>+</sup> .....	143
4.3.2.1.2. Capacidad antioxidante total reductora FRAP .....	145
4.3.2.1.3. Índice de Polifenoles (PF).....	147

4.3.2.2. Estado Redox .....	149
4.3.2.2.1. Niveles de Glutation Reducido (GSH).....	149
4.3.2.2.2. Niveles de tiorredoxina (Trx).....	151
4.3.2.2.3. Niveles de GSSG/GSH.....	153
4.3.2.3 Biomarcadores del daño oxidativo .....	155
4.3.2.3.1. Niveles del biomarcador de daño a paroteínas grupos carbonilo (GC).....	155
4.3.2.3.2. Niveles del biomarcador de peroxidación lipídica MDA.....	158
4.3.2.4. Indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO).....	160
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>165</b>
5.1. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO NUTRICIONAL ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.....	175
5.2. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO OXIDATIVO ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.....	185
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>203</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>207</b>
<b>8. ABREVIATURAS .....</b>	<b>255</b>

# **INTRODUCCIÓN**



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y SU TRATAMIENTO SUSTITUTIVO.**

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública mundial. Se ha observado un incremento progresivo en su prevalencia en los países desarrollados que ha obligado incluso a la creación de planes de intervención estatales.

Según los resultados del estudio EPIRCE (Epidemiología de la Insuficiencia Renal Crónica en España), diseñado para conocer la prevalencia de la ERC en España y promovido por la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.), con el apoyo del Ministerio de Sanidad y Consumo, el 9,24 % de la población adulta sufre algún grado de ERC (Otero *et al.*, 2010). El 6,83 % de la población presenta una disminución del filtrado glomerular (FG) por debajo de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, que corresponde con una ERC estadio 3 (Tabla 1), siendo este porcentaje del 20,6 % en mayores de 64 años. Además de la elevada prevalencia, la ERC se asocia a una importante morbilidad cardiovascular, así como a costes muy significativos.

En 2013, según los datos del Registro Español de Enfermos Renales, la incidencia y prevalencia en terapia renal sustitutiva fue de 124 y 1.122 personas por millón de habitante, de estos el 78,67-42,8 % fue en la modalidad de hemodiálisis, el 17,07-5,5 % en diálisis peritoneal y el 4.27-51,7 % en trasplante renal, respectivamente. Los datos de mortalidad fueron del 15% en hemodiálisis, el 8.9% en diálisis peritoneal y el 2.3 % en trasplante renal. Continúan siendo las causas cardiovasculares, en conjunto, y las infecciones las más frecuentes en todas las modalidades de tratamiento y grupos de edad.

**Tabla 1.** Clasificación de la Enfermedad Renal Crónica (Nefrología al día, nefrologíadigital.revistanefrología.com)

Estadios	Descripción	FG ml / min / 1,73 m <sup>2</sup>
1	Daño renal con FG normal o hiperfiltración	≥ 90
2	Daño renal con leve ↓FG	60-89
3	Moderado ↓FG	30-59
4	Avanzado ↓FG	15-29
5	Fallo renal	< 15 o D

Los estadios 1 y 2 requieren la presencia de daño renal (imagen, sedimento, histología).  
 Los estadios 3-5 pueden tener como única característica el deterioro del filtrado glomerular (FG).  
 D: en programas de diálisis.

En otros países como en Estados Unidos (EE.UU.), la prevalencia de la enfermedad renal crónica estadio 5, también va en aumento (Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease, KDIGO 2012). El número de pacientes incluidos en la ERC estadio 5, financiados por el programa Medicare, ha aumentado de aproximadamente 10.000 beneficiarios en 1973 a 615.899 el 31 de diciembre de 2011. (United States Renal Data System,USRDS 2013 and USRDS 2010). De los 615.899 pacientes prevalentes con ERC estadio 5, el 70% estaban siendo tratado con diálisis, mientras que el 30% tenía un injerto funcionando. Sólo en 2011, 115.643 pacientes entraron en el programa estadounidense de ERC estadio 5. Las tasas ajustadas por incidente y prevalente son 357 y 1.901 casos por millón de habitantes, respectivamente. La diabetes y la hipertensión representan 43.9 y 27.8 por ciento de todas las causas de incidentes, respectivamente.

Aunque las razones exactas para el crecimiento de la ERC estadio 5 se desconocen, los cambios en la demografía de la población, las diferencias en la carga de morbilidad entre los grupos raciales y la falta de reconocimiento de las primeras etapas de la ERC y de los factores de riesgo de ERC, podría explicar en parte este crecimiento (Clinical Practice Guideline for the Evaluation and

Management of Chronic Kidney Disease, KDIGO 2012; Obrador *et al.*, 2002; Nissenson *et al.*, 2001).

Los pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 consumen una gran parte de los recursos sanitarios. El costo total de estos en los EE.UU. fue de aproximadamente \$ 49.3 mil millones en 2011. Los costos de Medicare por persona por año fueron más de \$ 75,000 en general, que van desde \$ 32.922 para los pacientes trasplantados renales hasta los \$ 87,945 para los que recibieron terapia de hemodiálisis (United States Renal Data System, USRDS 2013 and USRDS 2010). En España el coste anual asociado al tratamiento de las fases más avanzadas de la ERC se estima en más de 800 millones de euros anuales (De Francisco, 2011).

Sin embargo, a pesar de la magnitud de los recursos comprometidos para el tratamiento de la enfermedad renal crónica y las mejoras sustanciales en la calidad de la terapia de diálisis, los pacientes continúan experimentando una importante mortalidad y morbilidad, y una reducción de la calidad de vida.

Todos los estadios de enfermedad renal crónica se asocian con una alta morbilidad y una mayor utilización de servicios de salud. Aproximadamente el cincuenta por ciento de los pacientes en diálisis tienen tres o más condiciones comórbidas, el número de hospitalizaciones y días de hospitalización son 1,9 y 12,8 por paciente-año, respectivamente, y la percepción de la calidad de vida de los pacientes en diálisis, es mucho menor que en la población general (United States Renal Data System, USRDS 2010; De Ore, 1997; McClellan *et al.*, 1991).

Los pacientes con enfermedad renal crónica y enfermedad renal avanzada en particular, tienen un mayor riesgo de mortalidad, especialmente por enfermedades cardiovasculares. Sólo en 2011, más de 92.221 pacientes con ERC estadio 5 han muerto en los EE.UU. (USRDS 2013 and USRDS 2010). Las probabilidades de supervivencia para los pacientes de diálisis a uno, dos y cinco años son aproximadamente 81, 65, y 34%, respectivamente (United States Renal Data System 2009 Annual Data Report), para los pacientes en

diálisis mayores de 65 años la tasa de mortalidad es 7 veces la de la población general (USRDS 2010).

### **1.2. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.**

Numerosos estudios observacionales han demostrado que el descenso de la tasa de filtración glomerular (TFG) y la proteinuria está asociados de forma independiente con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares en poblaciones de pacientes que no fueron seleccionados en base a la presencia patología renal o enfermedad cardiovascular conocida (Muntner *et al.*, 2002; Sarnak *et al.*, 2003).

Estudios necrópsicos y clínicos han demostrado que la prevalencia de placas ateromatosas en arterias coronarias es superior en pacientes en diálisis que en la población general. En el estudio HEMO (Cheung *et al.*, 2004), llevado a cabo en una amplia muestra de pacientes prevalentes en hemodiálisis, un 39% de ellos tenían antecedentes de cardiopatía isquémica. Las enfermedades cardíacas son responsables de alrededor del 40% de todas las muertes en diálisis y de ellas, un 60% son por cardiopatía isquémica.

La patología cardiovascular constituye la principal causa de mortalidad en los pacientes con ERC (Alani *et al.*, 2014; Foley *et al.*, 1998). Este hecho es especialmente llamativo entre la población más joven, en el grupo de edad de 25-34 años, donde se encuentra un aumento de 500 veces en la tasa de mortalidad por ECV cuando se compara con la población general (Sarnak *et al.*, 2003).

Los pacientes con enfermedad renal crónica a menudo tienen numerosos factores de riesgo cardiovascular tradicionales y no tradicionales para el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Los factores de riesgo tradicionales parecen estar asociados con mayor aumento de riesgo en las primeras etapas de la enfermedad renal crónica (Shlipak *et al.*, 2005). Factores de riesgo cardiovascular tradicionales, como la hipertensión (que puede ir acompañado

de hipertrofia ventricular izquierda), el tabaquismo, la diabetes, la dislipemia y la edad avanzada, tienen una alta prevalencia en la población con ERC (Foley *et al.*, 2005; Sarnak *et al.*, 2003) y el número de estos factores de riesgo parece que se correlaciona con la gravedad de la disfunción renal (Foley *et al.*, 2005).

Los pacientes con ERC tienen más probabilidad de tener el síndrome metabólico, lo que podría contribuir al aumento del riesgo cardiovascular (Chen *et al.*, 2004). Este síndrome se define como una combinación de resistencia a la insulina, la dislipemia, la glucosa sérica elevada, obesidad abdominal, y la hipertensión.

Los factores de riesgo cardiovascular no tradicionales afectan fundamentalmente en su mayoría a pacientes con enfermedad renal crónica de moderada a severa, incluyen: retención de toxinas urémicas, anemia, niveles elevados de ciertas citoquinas, alteraciones del metabolismo óseo mineral derivadas del hiperparatiroidismo secundario a enfermedad renal crónica, malnutrición y en general, un mayor estado proinflamatorio (Kaysen *and* Eiserich, 2004).

Cómo estos factores de riesgo pueden conducir a enfermedades cardiovasculares no está claro. Como un ejemplo, los trastornos del metabolismo mineral óseo en pacientes con enfermedad renal crónica a menudo se han vinculado a la calcificación arterial coronaria. Existe una asociación consistente entre la ERC y una mayor carga de calcificación de las arterias coronarias. Así niveles elevados de proteína C reactiva (PCR) y dimetilarginina asimétrica (ADMA), los cuales se encuentran típicamente en los pacientes con ERC, han sido asociados de forma independiente con un mayor riesgo de mortalidad cardiovascular (Young *et al.*, 2009; Menon *et al.*, 2005).

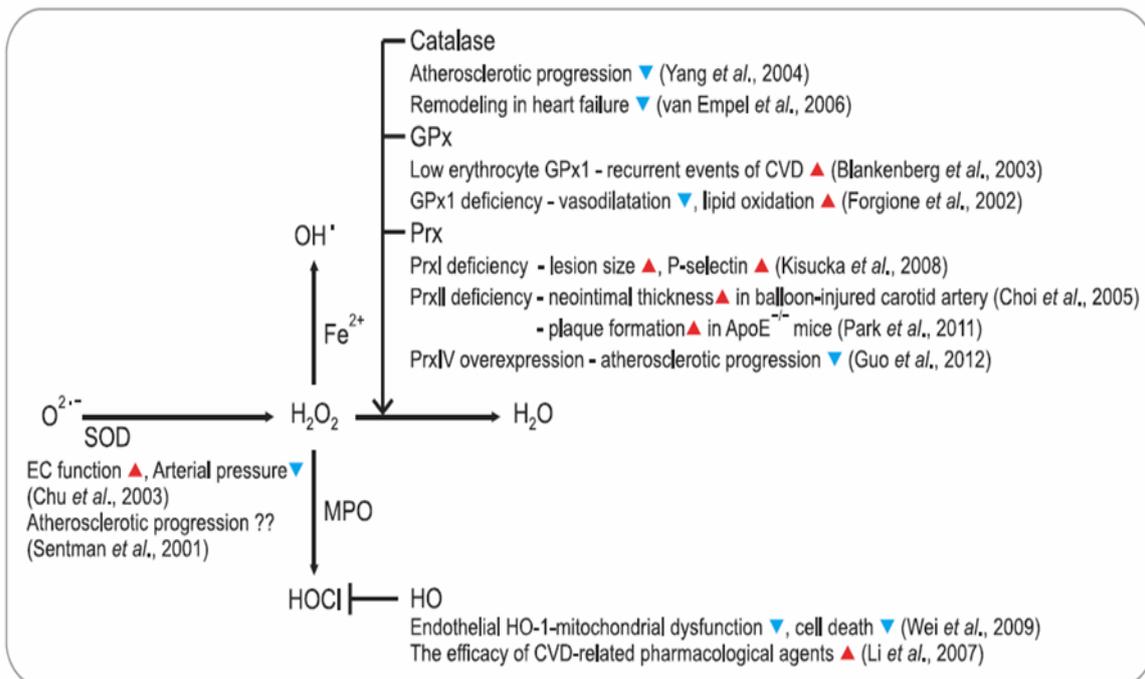
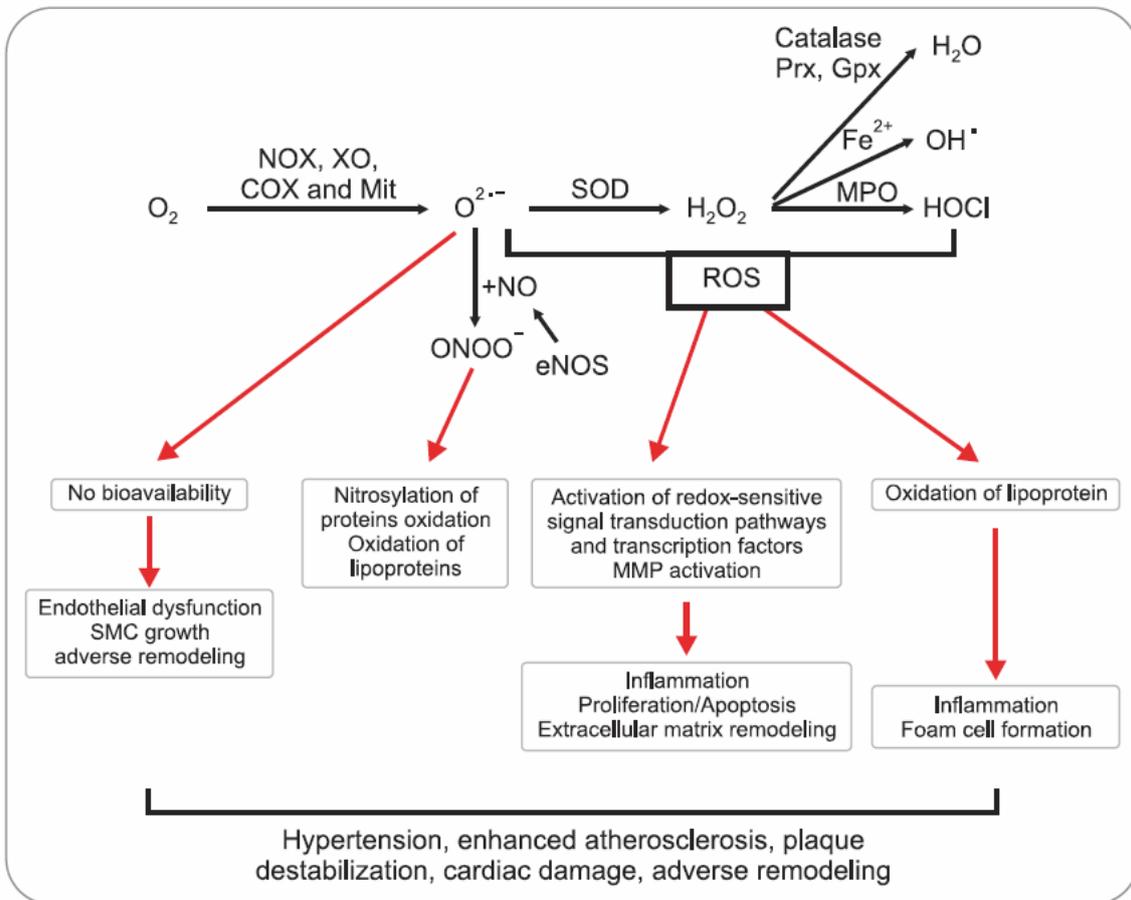
La creciente evidencia sugiere que las especies de oxígeno altamente reactivas (ROS) de origen endógeno o del medio ambiente juegan un papel cognitivo en la génesis y progresión de varias enfermedades cardiovasculares.

La causa primaria de la enfermedad cardiovascular es la aterosclerosis, que se caracteriza por el engrosamiento de las paredes de las arterias. La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica que progresa lentamente durante toda la vida y por lo general comienza antes de la edad adulta. Entre las causas de iniciación de la aterosclerosis, la hipótesis de la modificación oxidativa se ha confirmado en numerosos estudios y, especialmente, la estimulación del ROS de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad del colesterol (LDL colesterol) y las modificaciones de las proteínas, que pueden conducir a la formación de células espumosas a nivel endotelial y finalmente a las placas ateroscleróticas (Sauer *et al.*, 2010) (Figuras 1).

Entre las personas con enfermedad renal crónica, el riesgo de muerte, en particular debido a la enfermedad cardiovascular, es típicamente mayor que el riesgo de que lleguen a requerir terapia de reemplazo renal. Sin embargo, este riesgo varía con la edad y otros factores. En muchos estudios, los pacientes mayores con enfermedad renal crónica menos severa y menores niveles de proteinuria tienen mayor probabilidad de morir (por lo general debido a la enfermedad cardiovascular) antes de necesitar terapia de reemplazo renal, mientras que los pacientes más jóvenes con proteinuria y enfermedades localizadas en el riñón son más propensos a necesitar en última instancia, la terapia de reemplazo renal (De Nicola *et al.*, 2012; Forsblom *et al.*, 2011).

Por lo tanto los pacientes incidentes en hemodiálisis, que ya tienen la mayoría gran número de factores de riesgo cardiovascular tradicionales, su riesgo cardiovascular se va ir progresivamente incrementando a medida que los factores de riesgo cardiovascular no tradicionales se vayan sumando si no son correctamente controlados, incrementando por tanto el riesgo de desarrollar patología cardiovascular, que en muchos casos resulta mortal para estos pacientes.

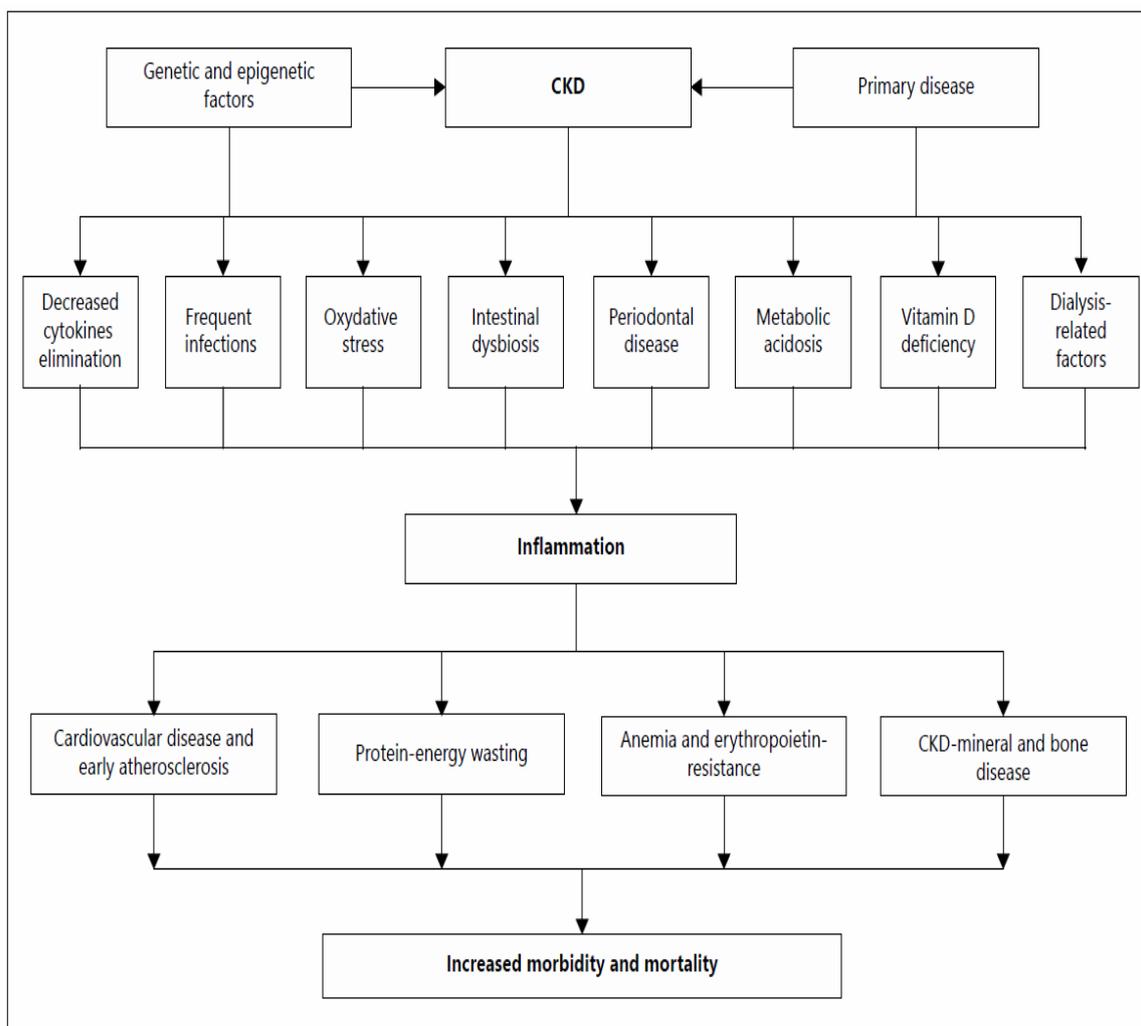
**Figuras 1.** Especies reactivas (ROS) y sistemas antioxidantes celulares, y sus consecuencias biológicas en el sistema cardiovascular (Kang and Kang, 2013).



### 1.3. INFLAMACIÓN Y NUTRICION EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Los procesos inflamatorios recurrentes o crónicos son comunes en las personas con enfermedad renal crónica (ERC) y sobre todo en la ERC estadio 5 y en diálisis. Esto se debe a muchos factores subyacentes, incluido el medio urémico, los niveles circulantes elevados de citoquinas proinflamatorias, el estrés oxidativo, el estrés carbonilo, la pérdida de proteínas y energía, la mayor incidencia de infecciones (especialmente en diálisis relacionadas con el acceso vascular) y a otros (Kaysen and Eiserich, 2004) (Figura 2).

**Figura 2.** Causas y consecuencias en la ERC (Akchurin and Kaskel, 2015).



Las proteínas de fase aguda se definen como aquellas proteínas cuya concentración plasmática está aumentada (proteínas de fase aguda positivas), tales como la proteína C reactiva (PCR), o disminuida (proteínas de fase aguda negativas), tales como la albúmina, durante los estados inflamatorios. La medición de los niveles de estas proteínas se utiliza con frecuencia para definir la presencia y / o el grado de inflamación en un paciente dado. Un importante número de marcadores inflamatorios se han estudiado en pacientes con enfermedad renal crónica (tabla 2).

Se ha demostrado una correlación inversa entre la tasa de filtración glomerular (FG) y la inflamación, Gupta *et al.*, 2012, vieron una asociación inversa de los biomarcadores de inflamación (IL-1 $\beta$ , antagonista del receptor IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , PCR y fibrinógeno) con el descenso del FG y positiva con la albuminuria.

Los diferentes biomarcadores de inflamación parecen tener un valor predictivo diferente en la ERC. Bazeley *et al.*, 2011, en un estudio multicéntrico con pacientes en hemodiálisis, encontraron que la PCR predice la mortalidad con bastante buena precisión, comparable con la de la albúmina. Parece, sin embargo, que la IL-6 predice mejor la mortalidad cardiovascular que la PCR y que otras citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-18) (Honda *et al.*, 2006; Tripepi *et al.*, 2005).

La especificación del papel que desempeñan las citoquinas individuales en la ERC está en curso.

Fallahzadeh *et al.*, 2011, encontraron la IL-2 elevada en pacientes en HD con prurito urémico, en comparación con controles en HD emparejados por edad y género sin prurito. Azak *et al.*, 2014, encontraron que los niveles solubles de TWEAK se asocian de forma independiente con la gravedad de la enfermedad arterial coronaria en pacientes con ERC estadio 2-3.

**Tabla 2.** Marcadores de inflamación en la Enfermedad Renal Crónica (Inflammation in renal insufficiency ©2015 UpToDate®).

**Inflammatory markers that have been studied in CKD patients**

Category	Marker (and commonly used abbreviation)	Evidence for outcome predictability in CKD*
<b>Short pentraxins</b>	C-reactive protein (CRP)	++++
	Serum amyloid P (SAP)	++
<b>Long pentraxins</b>	Pentraxin-3 (PTX3)	++
	Neuronal pentraxins	?
<b>Pro-inflammatory cytokines</b>	Interleukin-6 (IL-6)	++++
	Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ )	+
	Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )	+/-
	Interleukin-8 (IL-8)	+
	Interleukin-18 (IL-18)	?
	Interleukin-12 (IL-12)	?
	Interferon gamma (IFN- $\gamma$ )	+
<b>Anti-inflammatory cytokines</b>	Interleukin-10 (IL-10)	?
	IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)	+
	Interleukin-4 (IL-4)	?
	Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ )	?
<b>Adipokines and related compounds</b>	Adiponectin	++
	Visfatin	+
	Resistin	+
	Leptin	+
	CD163	+
<b>Adhesion molecules and endothelial markers</b>	Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)	++
	Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)	++
	E-selectin	+
<b>Coagulation markers</b>	Fibrinogen	+
	Tissue plasminogen activator (t-PA)	+
	Plasminogen activator inhibitor-1 [PAI-1]	+
	von Willebrand factor (vWF) & factor VII	?
	Fibrin D-dimer	?
<b>Inflammatory molecules with negative acute phase reaction</b>	Albumin (negative)	++++
	Transferrin or TIBC	++
	Iron	++
	Fetuin	+
<b>Inflammatory lipoproteins</b>	HDL inflammatory index (HII)	++
	Oxidized LDL (oxLDL)	+
<b>Inflammatory enzymes</b>	Myeloperoxidase (MPO)	+
	Matrix metalloproteinase (MMP-9)	+
<b>Pro-inflammatory transcription factors</b>	Activator protein-1 (AP-1)	+
	Nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B)	+
<b>Other inflammatory markers</b>	Serum ferritin	+++
	Serum amyloid A (SAA)	+
	Neopterin (monocyte/macrophage activator)	+
	Platelet count	+++
	WBC count	++
	Neutrophil count	+
	Erythrocyte sedimentation rate (ESR)	+

\* Evidence for CKD outcome predictability pertains to CKD progression or patient survival. Reproduced with permission from: Kalantar-Zadeh, K. Inflammatory marker mania in chronic kidney disease: pentraxins at the crossroad of universal soldiers of inflammation. Clin J Am Soc Nephrol 2007; 2:872. Copyright ©2007 American Society of Nephrology.

A pesar de su nombre, la "respuesta de fase aguda" puede persistir durante meses o años y convertirse en crónica. En tales estados de inflamación crónica, las proteínas de fase aguda positivas incluyendo la PCR (rango normal <1 mg/L) pueden estar ligeramente aumentadas pero de manera persistente, lo que puede predisponer a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica (PCR>1-3 mg/l) (Kalantar-Zadeh, 2007). Sin embargo, en muchos pacientes con nefropatía crónica, especialmente en pacientes sometidos a diálisis, los niveles de PCR son persistentemente entre 5 y 50 mg/L, aunque pueden fluctuar ampliamente (Kalantar-Zadeh, 2007). Durante las infecciones agudas y fulminantes, tales como osteomielitis aguda, la PCR en suero está normalmente por encima de 50 mg/dL.

Entre los pacientes con enfermedad renal crónica, la presencia de un estado inflamatorio también puede estar estrechamente relacionada con la aterogénesis acelerada, malnutrición proteico-energética (MPE), y anemia (Qureshi *et al.*, 2002; Kaysen *et al.*, 2002; Kalantar-Zadeh and Kopple, 2001).

El aumento generalizado de la respuesta inflamatoria en pacientes con disminución de la función renal puede ocurrir a través de los siguientes mecanismos:

- Disminución del aclaramiento de citoquinas proinflamatorias
- Sobrecarga de volumen, con endotoxemia
- Acidosis metabólica
- Estrés oxidativo y carbonílico
- Disminución de los niveles de antioxidantes
- Aumento de la presencia de condiciones comórbidas

En cuanto a la disminución del aclaramiento de citoquinas proinflamatorias, se ha de tener en cuenta que el deterioro de la función renal puede, en general, aumentar las respuestas inflamatorias debido a la disminución del aclaramiento renal de los factores que están directa o indirectamente involucrados en la inflamación. Como ejemplo, las vidas medias en suero de las citoquinas proinflamatorias, del factor de necrosis tumoral alfa y de la interleuquina-1, son

mayores en los animales con pérdida de función renal que en aquellos con función renal conservada (Bemelmans *et al.*, 1993; Poole *et al.*, 1990).

En los seres humanos, la disminución de la función renal también puede afectar a los niveles de otras moléculas inflamatorias, como al de la proteína C reactiva (PCR), interleuquina-6 y niveles de ácido hialurónico, que se correlacionan inversamente con el aclaramiento de creatinina (Panichi *et al.*, 2001; Stenvinkel *et al.*, 1999). Además, entre los pacientes con ERC estadio 5 en diálisis con función renal residual, el aumento de las concentraciones séricas de PCR que se observó entre aquellos con la función renal residual o diuresis residual fue menor (Pecoits-Filho *et al.*, 2003; Chung *et al.*, 2001).

En cuanto a la sobrecarga de volumen, con endotoxemia, la congestión vascular debido a la sobrecarga de líquidos en pacientes con insuficiencia renal puede resultar en la alteración de la permeabilidad del tracto gastrointestinal, lo que conduce a la acumulación de endotoxinas tales como lipopolisacáridos y bacterias. Estos procesos a su vez pueden a su vez estimular a los monocitos y el aumento de la liberación de citoquinas proinflamatorias (Shi *et al.*, 2014; Natarajan *et al.*, 2014; Anders *et al.*, 2013; Sato *et al.*, 1999; Hasper *et al.*, 1998).

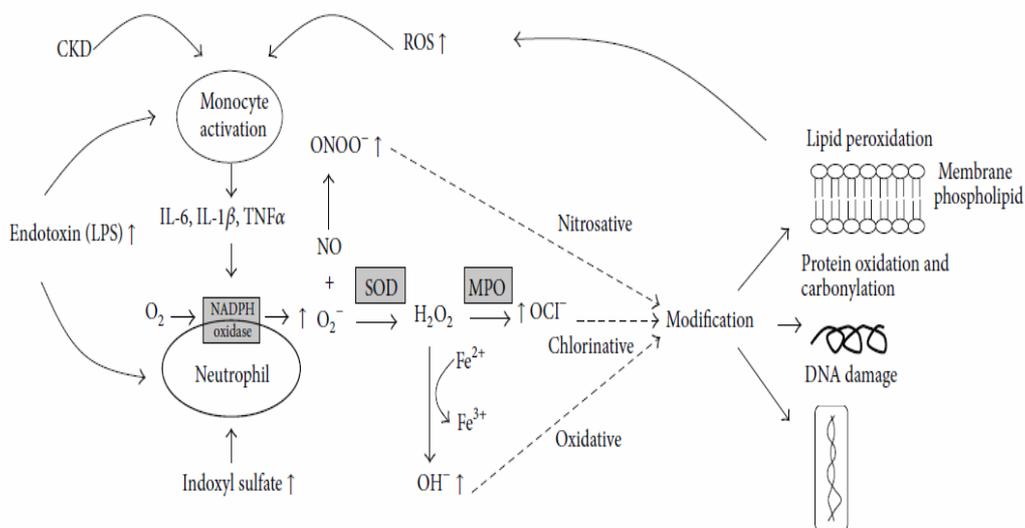
Ori *et al.*, 2013, estudiaron la relación entre inflamación y acidosis metabólica en los pacientes en hemodiálisis, encontraron una asociación directa entre los niveles de IL-10 y la acidosis metabólica.

En cuanto al estrés oxidativo y carbonílico, el aumento de la producción de citoquinas por el estrés oxidativo también se observa en los pacientes con insuficiencia renal (Aveles *et al.*, 2010; Locatelli *et al.*, 2003; Himmelfarb *et al.*, 2002). El estrés oxidativo que se produce cuando hay exceso de producción de radicales libres o bajos niveles de antioxidantes, podría ser una condición importante para el desarrollo de la disfunción endotelial, la inflamación y la aterogénesis (Himmelfarb *et al.*, 2002).

El aumento del estrés oxidativo en los pacientes con ERC está bien documentado (Palleschi *et al.*, 2007; Galle *et al.*, 2001). En los pacientes en HD se ha demostrado un aumento de la concentración de malondialdehído

generada por la peroxidasa lipídica (Errakonda *et al.*, 2011) y la alteración de la función de los sistemas antioxidantes debido a bajos niveles de superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa (Dursun *et al.*, 2008). Estos productos pueden también inducir cambios químicos en muchas sustancias tales como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (Figura 3).

**Figura 3.** Síntesis de las especies reactivas del oxígeno (ROS) en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) (Sung *et al.* 2013).

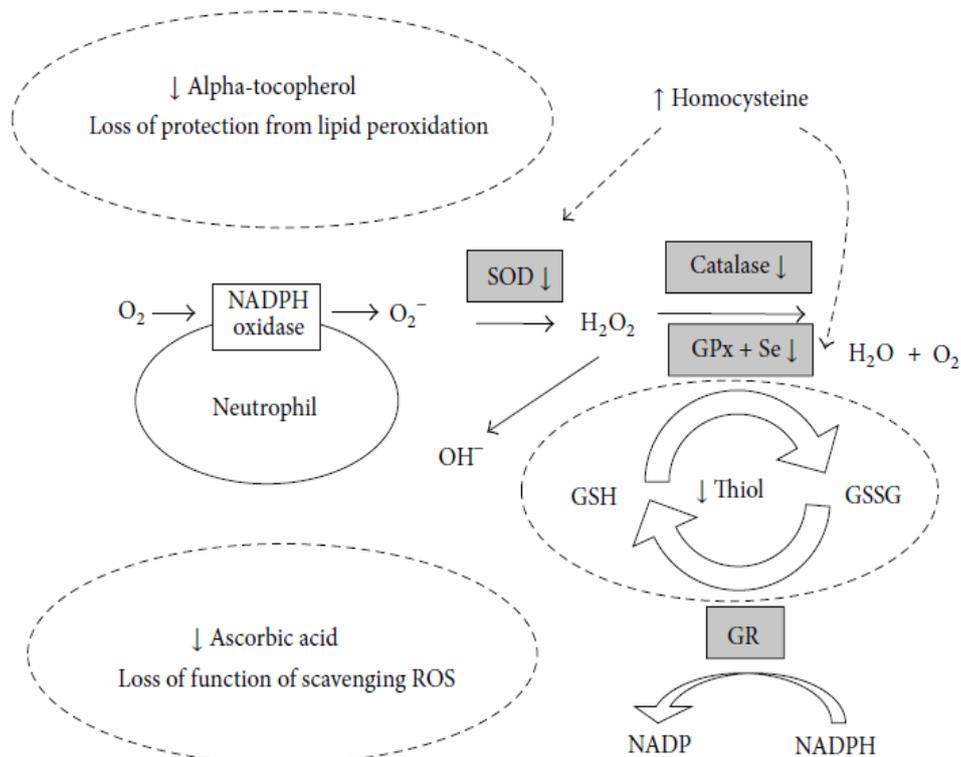


Con la insuficiencia renal, las moléculas que no son citoquinas también se pueden acumular y provocar una respuesta inflamatoria. Como un ejemplo, los productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs), que resultan del estrés carbonilo, claramente pueden iniciar la inflamación en pacientes con insuficiencia renal (Suliman *et al.*, 2003).

En cuanto a la disminución de antioxidantes, la ingestión oral y el nivel de algunos antioxidantes es menor que el normal en pacientes con ERC estadio 5 y en diálisis. Una respuesta de fase aguda se asocia también con una disminución de los niveles plasmáticos de varios antioxidantes, tales como las concentraciones en suero de la vitamina C, que es una vitamina hidrosoluble, por lo que además los pacientes en hemodiálisis ven sus pérdidas aumentadas (Langlois *et al.*, 2001). Los niveles séricos bajos de vitamina C, a su vez se han asociado con una mayor morbilidad y mortalidad cardiovascular (Deicher *et al.*, 2005).

Los sistemas antioxidantes, incluyendo los sistemas no enzimáticos (tiol, alfa-tocoferol, y ácido ascórbico) y los sistemas enzimáticos (superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx)), son deficientes o están alterados en los pacientes con ERC. La hiperhomocisteinemia puede conducir a la inhibición de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx (Figura 4).

**Figura 4.** Deterioro del sistema antioxidante en pacientes con ERC (Sung et al.2013).



La frecuente aparición de enfermedades comórbidas en pacientes renales aumenta el estado hipercatabólico y favorece el desarrollo de la inflamación. Incluso en ausencia de enfermedad clínica manifiesta, un proceso inflamatorio puede ser continuo y estar asociado a una respuesta de fase aguda. Además, se ha descrito un aumento de la susceptibilidad a las infecciones que en pacientes en diálisis que pueden ser en parte debido a la uremia, la vejez y las enfermedades concurrentes (Sarnak and Jaber, 2000).

Además si existe una patología de base autoinmune sistémica (que puede haber dado lugar a la enfermedad renal), los factores genéticos, una infección

persistente no reconocida, enfermedades periodontales, y la aterosclerosis también puede ser la base de la inflamación en los pacientes con disminución de la función renal en la etapa avanzada (Craig *et al.*, 2007).

Además de las causas anteriormente mencionadas que pueden subyacer y/o favorecer la inflamación en curso en pacientes con insuficiencia renal crónica, las siguientes condiciones mantenidas de manera crónica, pueden agravar los procesos inflamatorios en los pacientes sometidos a hemodiálisis:

1. La exposición a las líneas de diálisis y membranas de diálisis, membranas biocompatibles en su mayoría actualmente (Friedrich *et al.*, 2006).

2. La mala calidad del agua del líquido de diálisis, por posible contaminación bacteriana, y el fenómeno de retrofiltración, por el que una pequeña parte de este líquido pasa a la sangre del paciente durante la sesión de diálisis, lo que resulta en una posible exposición a endotoxinas (Santoro *et al.*, 2014).

3. La presencia de cuerpos extraños (como por ejemplo politetrafluoroetileno [PTFE] injertos de acceso crónicas) o un catéter intravenoso, que puede albergar una infección latente crónica o recurrente a través de la formación de un biofilm (Nassar *et al.*, 2013; Cappelli *et al.*, 2005).

En los pacientes que regresan a diálisis después de un trasplante de riñón fallido también se ha observado un estado inflamatorio crónico, pero en los que la nefrectomía del trasplante no se ha realizado (Auchhaus *et al.*, 2000). Los síntomas y signos de la inflamación pueden disminuir con la trasplantectomía.

### **1.3.1. La inflamación como causa de malnutrición.**

La malnutrición proteinoenergética (MPE), que está presente en una gran proporción de los pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 y en diálisis, es un factor de riesgo de hospitalización y mortalidad, que aumenta en los pacientes sometidos a hemodiálisis o diálisis peritoneal (Kalantar *et al.*, 2005; Kopple, 1997). Entre los pacientes de diálisis, por ejemplo, un índice de

masa corporal bajo y la concentración sérica de colesterol baja se asocia con una mayor mortalidad (Liu *et al.*, 2004).

La inflamación se asocia con un aumento en el plasma y probablemente de los niveles tisulares de citoquinas catabólicas; elevaciones plasmáticas de proteínas inflamatorias y de citoquinas catabólicas son comúnmente observadas en pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 y en pacientes en diálisis, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que promueve los procesos catabólicos (degradación de las proteínas y supresión de la síntesis de proteínas) e induce anorexia (Kalantar-Zadeh and Kopple, 2001). Se ha estudiado también el papel proinflamatorio de las adipocinas en la ERC, como la leptina (Miyamoto *et al.*, 2013; Iglesias *et al.*, 2010), hormona producida por los adipocitos para la regulación de la ingesta y cuya función fundamental es la inhibición del apetito, el análisis de los datos de la Nacional de Salud y Nutrición de Encuesta (NHANES) demostró que la ERC se asocia con niveles mayores de leptina (Shankar *et al.*, 2012).

Algunos pacientes en diálisis con inflamación crónica desarrollan una pérdida de peso y un balance proteico negativo, a pesar de un apetito intacto. La síntesis de albúmina sérica se suprime cuando la PCR está elevada (Kaysen *et al.*, 2002). Esto puede ser debido a un cambio en la síntesis de proteínas de músculo a proteínas de fase aguda como la disminución de la función renal. Estos pacientes también parecen perder más peso corporal durante la diálisis en comparación con aquellos sin discernibles procesos inflamatorios. En los pacientes en hemodiálisis, la activación de la respuesta de fase aguda también se correlaciona con menores niveles séricos de albúmina debido a la disminución de la síntesis de albúmina.

Por otro lado la inflamación puede conducir a la hipocolesterolemia, un factor de riesgo de mortalidad en pacientes en diálisis y un marcador del estado nutricional deficiente. Además, la hipocolesterolemia puede ser un reflejo de una hipolipoproteinemia general en los pacientes en diálisis desnutridos, este hecho puede mitigar la capacidad de eliminar endotoxinas circulantes. Basándose en la hipótesis de las lipoproteínas de endotoxina, esta sugiere que existe una concentración óptima de lipoproteínas en suero, por debajo de la

cual la reducción de lípidos es perjudicial y puede producir la disminución de la capacidad de las lipoproteínas de unirse a lipopolisacáridos, lo que a su vez, puede evitar que las lipoproteínas disminuyan los efectos perjudiciales de las endotoxinas (Rauchhaus *et al.*, 2000).

Las citoquinas pro-inflamatorias pueden causar anorexia directamente a través de su influencia sobre el cerebro. Particularmente la IL-6 parece estar asociada con la depresión en la ERC, que por sí mismo es un predictor de la morbilidad y la mortalidad (Taraz *et al.*, 2015) y puede causar disminución de la ingesta de nutrientes. Sin embargo, la inflamación no sólo puede causar desnutrición en este sentido, sino que también puede aumentar gasto energético en reposo. El sistema inmune es el tercer consumidor de energía en el cuerpo después el cerebro y los músculos. Además, la inflamación suprime las hormonas anabólicas, tales como la hormona del crecimiento, IGF-1 y testosterona (Meuwese *et al.*, 2011). Curiosamente, se conoce la inflamación suprime el crecimiento lineal en los niños con diversos trastornos inflamatorios, y la falta de crecimiento es un rasgo característico de la ERC pediátrica (Mahesh *et al.*, 2008). Sin embargo, la posible influencia de la inflamación en el crecimiento en niños con ERC no ha sido suficientemente investigada.

Por lo tanto, la inflamación crónica puede ser un factor principal que vincula causalmente la MPE a una mayor morbilidad y mortalidad entre los pacientes en diálisis. El término "síndrome malnutrición-inflamación " sugiere la supuesta asociación estrecha entre MPE y la inflamación en los pacientes en diálisis (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2003; Kalantar-Zadeh and Kopple, 2001). Por otra parte, la "malnutrición-inflamación-aterosclerosis" (MIA) se ha utilizado para enfatizar la importancia de las enfermedades ateroscleróticas como una de las principales consecuencias de este síndrome (Stenvinkel *et al.*, 2000). Existen varios sistemas de puntuación o indicadores propuestos para evaluar el grado de MIA en los pacientes en diálisis, como el "score malnutrición-inflamación " (MIS) (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2003) que se correlaciona con el estado nutricional, la inflamación y la anemia.

El MIS también se asoció significativamente con las tasas de hospitalización y mortalidad en los pacientes en hemodiálisis (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2003), ya

que es esencialmente una versión modificada de la Evaluación Subjetiva Global de Nutrición (SGA) (Kalantar-Zadeh *et al.*, 1998), el SGA se recomienda en las guías K/DOQI para ser utilizado de forma rutinaria para evaluar el estado nutricional de los pacientes en diálisis. El SGA también ayuda a medir el grado de gravedad de la inflamación y la enfermedad (Kalantar-Zadeh *et al.*, 1998).

Existen algunos datos que sugieren que la desnutrición puede conducir a la inflamación: a) Los pacientes desnutridos en diálisis pueden tener concentraciones plasmáticas deficientes en antioxidantes como la vitamina C o carotenoides, lo que puede conducir a un aumento del estrés oxidativo y la inflamación. B) La MPE puede disminuir la resistencia del paciente y predisponer a la infección, lo cual es claramente un trastorno inflamatorio. Ciertos nutrientes, tales como arginina y glutamina, pueden mejorar la respuesta inmune (Hulsewé *et al.*, 1999). Además, los datos preliminares sugieren que la levocarnitina puede proteger contra endotoxinas y también suprimir la elaboración de TNF-alfa de los monocitos.

Los niveles elevados de los marcadores de inflamación y malnutrición predicen un peor pronóstico en pacientes con enfermedad renal crónica terminal. A pesar de esto, ni la infección, que por lo general conduce a una respuesta inflamatoria manifiesta, o la malnutrición son las causas más comunes de muerte. Más bien, la mayoría de los individuos con insuficiencia renal crónica mueren de enfermedades cardiovasculares (ECV). Por lo tanto, sugiere un vínculo entre la inflamación subyacente y la reducción la supervivencia entre los pacientes renales, este se observa de manera más pronunciada para la inflamación y la aterosclerosis.

La mejor evidencia que apoya la importancia de la inflamación en la patogénesis de la aterosclerosis proviene de la observación de los pacientes sin enfermedad renal en los que los marcadores de inflamación sistémica aumentada o disminuida están directamente asociados con un mayor riesgo de aterosclerosis (Kaptoge *et al.*, 2010).

Aunque la evidencia es menos clara, los pacientes con ERC estadio 5, con enfermedad coronaria y mayor riesgo cardiovascular, así como mayor mortalidad, tienen niveles elevados similares de reactantes de fase aguda (Zimmermann *et al.*, 1999).

- El aumento de los niveles de PCR en pacientes con ERC estadio 5 es un fuerte predictor de mortalidad cardiovascular así como la concentración de albúmina sérica (Yeun *et al.*, 2000).
- Aumento de los niveles séricos de IL-6 se asocia a una mayor mortalidad en pacientes en hemodiálisis, y la progresión de la aterosclerosis carotídea durante la diálisis puede estar relacionada con el aumento de los niveles de IL-6 (Stenvinkel *et al.*, 2002).

Además de la aterosclerosis, la inflamación puede causar otros efectos adversos en la enfermedad renal crónica, como la anemia refractaria, los signos de laboratorio de sobrecarga de hierro o bloqueo del hierro (Concentración de ferritina plasmática mayor de 800 mg/dL e IST menor de 50%), o una mala calidad de vida. Los pacientes en hemodiálisis inflamados, frecuentemente muestran aumento de ferritina sérica, que es un reactante de fase aguda positivo, y un indicador de aumento de la carga de hierro. Los niveles séricos de ferritina se correlacionan con las tasas de hospitalización, y un aumento en la concentración de ferritina en suero en pacientes de hemodiálisis puede estar asociado con un mayor riesgo de muerte (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2001).

### **1.3.2. Aspectos nutricionales del paciente en hemodiálisis.**

Dependiendo en parte del método utilizado y de la población estudiada, deL 40 aL 70% de los pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 están desnutridos (Thunberg *et al.*, 2005), una complicación que parece estar asociada con una mayor mortalidad (Lowrie and Lew, 1990).

Como resultado de la frecuencia de la malnutrición, la evaluación periódica del estado nutricional debe ser parte de la rutina de cuidados de pacientes de

diálisis para permitir su reconocimiento temprano y la instauración de la terapia apropiada. La mayoría de los métodos estándar de evaluación del estado nutricional se pueden aplicar a pacientes con insuficiencia renal, sin embargo, algunos de estos parámetros se alteran por la uremia.

### 1.3.2.1. Métodos de evaluación del estado nutricional

No hay ninguna medida única que se puede utilizar para determinar la presencia de la desnutrición. Se recomiendan, el índice de masa corporal (IMC), una medida de proteínas de la dieta y la ingesta de energía, y por lo menos una medida del estado de proteínas en sangre (Tabla 3).

**Tabla 3.** Índices malnutrición en pacientes con hemodiálisis (Libro Tratado de hemodiálisis, segunda edición actualizada, 2006).

Índices bioquímicos y antropométricos orientativos de malnutrición en pacientes en hemodiálisis		
Albúmina	< 4 g/l	Tardío. Atención a valores 3,5-4
Colesterol	< 150 mg/dl	Mayor relación con desnutrición energética
Transferrina	< 200 mg/dl	Modulada por reservas hierro y EPO
Peso corporal	< 80 %	Respecto a valores normales para edad, sexo y talla
Parámetros antropométricos	< 60%	Respecto a valores normales para edad, sexo y talla
IGF-1	< 300 µg/l	
↓ BUN		a pesar de mantener la misma pauta de diálisis
PCR (g/kg/día)	< 0,8	
↓ del K y PO4		
Prealbúmina	< 30 mg/dl	Reactante fase aguda negativo
Inmunocompetencia	Linfopenia	↓ Linfocitos T, ↑→ linfocitos B
↓ Creatinina		↓ Progresivo respecto a valores previos
Proteína C reactiva		Marcador de estado inflamatorio

El examen físico y la historia a menudo pueden proporcionar pistas importantes para el paciente que puede estar desnutrido.

- Síntomas tales como náuseas, vómitos, anorexia, la pérdida o ganancia de peso. Grandes ganancias de peso interdialíticas reflejan excesiva ingesta de líquidos y sodio. En algunos casos, sin embargo, con el

tiempo, el aumento de ganancia de peso corporal puede representar la mejora del estado nutricional.

- La presencia de problemas concomitantes que pueden afectar a la nutrición, tales como el alcoholismo, la diabetes mellitus y la enfermedad gastrointestinal.
- Los problemas psicosociales, como el acceso y la asequibilidad de los alimentos, la capacidad de preparar las comidas, y el papel de los miembros de la familia en la preparación de alimentos. Los signos y síntomas de la depresión también deben ser identificados, ya que la depresión clínica a menudo resulta en una falta de interés y la disminución de la ingesta calórica.

El examen físico debe incluir una evaluación del estado de volumen del paciente, ya que el "peso seco" debe ser comparado con el peso corporal recomendado.

La ingesta de proteínas, grasas e hidratos de carbono se puede calcular a partir de las tablas de alimentos estándar. La ingesta diaria proteica también puede estimarse mediante el cálculo de la tasa de catabolismo proteico (PCR). Cabe señalar, sin embargo, que la PCR es un reflejo de la ingesta de proteínas sólo si el paciente está en balance de nitrógeno neutro.

Las medidas antropométricas proporcionan un método rápido, no invasivo y reproducible para evaluar la grasa corporal y la masa muscular. Mientras la antropometría tiene la ventaja de ser simple y rápida de llevar a cabo, no es tan precisa como otras técnicas más sofisticadas. Las medidas más sofisticadas de la composición corporal incluyen el análisis de impedancia bioeléctrica (BIA) y de doble energía absorciometría de rayos X (DEXA) (Tattersall *et al.*, 2007). Un inconveniente principal de estas técnicas es la dificultad de distinguir entre la masa grasa y el agua corporal. Además, el DEXA es bastante caro y no siempre están disponibles.

Se ha utilizado la medición de varias proteínas plasmáticas para evaluar el estado nutricional en pacientes con función renal normal. Estas mismas proteínas pueden ser monitorizadas en pacientes en hemodiálisis.

### 1.3.2.2. Índices bioquímicos para la evaluación del estado nutricional

#### Albúmina

La concentración de albúmina en plasma se correlaciona razonablemente bien con las reservas de proteínas del cuerpo; la hipoalbuminemia es una manifestación relativamente tardía de la desnutrición, ya que la albúmina tiene una vida media larga y su reserva hepática es muy grande. Sin embargo, los cambios en el volumen extracelular representan una fuente potencial de error en la evaluación de la concentración plasmática de albúmina. Como ejemplo, la expansión de volumen, que normalmente está presente antes de la diálisis, puede reducir la concentración plasmática de albúmina por dilución.

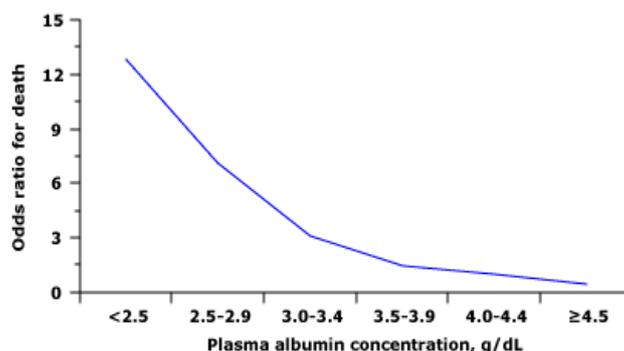
Varios estudios han demostrado una correlación negativa entre la concentración de albúmina plasmática y la mortalidad en pacientes sometidos a hemodiálisis o diálisis peritoneal (Kalantar *et al.*, 2005; Lowrie and Lew, 1990) (Figura 5).

El aumento en la mortalidad con hipoalbuminemia parece ocurrir incluso a niveles casi normales de albúmina (3,5 g/dL o 35 g/L), sin embargo, el riesgo es mayor con hipoalbuminemia más grave, siendo mayor en los pacientes con una concentración de albúmina en plasma por debajo de 3 g/dL (30 g/L).

Algunos pacientes en hemodiálisis tienen una concentración de albúmina plasmática baja debido a la disminución de la síntesis de albúmina a pesar de una adecuada ingesta de proteínas (Kaysen *et al.*, 1995). Estos pacientes tienen evidencia de una respuesta de fase aguda, lo que sugiere que un proceso inflamatorio subyacente es el responsable de la disminución de la producción de albúmina (De Mutsert *et al.*, 2009). La inflamación puede ser debida en parte a la utilización de membranas de diálisis bioincompatibles, subyacente a infecciones del acceso vascular, u otras infecciones ocultas o inflamación (Tayeb *et al.*, 2000).

**Figura 5.** Correlación negativa entre la concentración de albúmina plasmática y la mortalidad en pacientes sometidos a hemodiálisis (Assessment of nutritional status in end-stage renal disease ©2015 UpToDate®)

**El riesgo de mortalidad entre los pacientes de hemodiálisis de acuerdo a la albúmina sérica durante la diálisis de mantenimiento**



La odds ratio para muerte, ajustado por edad, sexo, raza, y la enfermedad subyacente, según la concentración plasmática de albúmina en pacientes en hemodiálisis. La probabilidad de morir estaba inversamente relacionada con la concentración plasmática de albúmina, siendo mayor a una concentración de albúmina en plasma por debajo de 3,0 g / dl (30 g / L). Todos los valores son significativamente diferente ( $p < 0,001$  a 0,03) a partir de la razón de posibilidades de 1,0 a una concentración plasmática normal de albúmina de 4,0 a 4,4 g / dl (40 a 44 g / L).

*Los datos de Owen, Jr WF, Lew, NL, Liu, Y, et al, N Engl J Med 1993; 329:1001.*

### Transferrina

La concentración plasmática de transferrina se utiliza para evaluar el estado nutricional en pacientes con función renal normal. Se han descrito en pacientes en diálisis niveles bajos de transferrina y se le han atribuido a la desnutrición. Sin embargo, los valores plasmáticos de transferrina con frecuencia se reducen en la insuficiencia renal independiente de la desnutrición, quizás debido a las fluctuaciones de las reservas de hierro.

### Prealbúmina

La concentración plasmática de prealbúmina (transtiretina) puede variar también con el estado de nutrición en pacientes con función renal normal. Sin embargo, esta proteína se excreta y metaboliza por el riñón por lo que tiende a acumularse en la insuficiencia renal (Cano *et al.*, 1988). Por lo tanto, un valor único no puede ser un predictor muy exacto del estado nutricional. Sin embargo, mediciones en serie a un mismo paciente se pueden monitorizar a lo largo del tiempo, y estimarse según las variaciones.

La prealbúmina, a diferencia de albúmina, tiene una vida media corta y cambia rápidamente en respuesta a alteraciones en el estado nutricional. Se ha sugerido que un valor por debajo de 30 mg/dL es indicativo de malnutrición en los pacientes en hemodiálisis.

Sin embargo, los niveles más bajos de prealbúmina, como los de la albúmina, también pueden reflejar una enfermedad aguda intercurrente. Un estudio encontró que la disminución de los niveles de prealbúmina se correlacionó de manera independiente con el aumento de la mortalidad y la hospitalización por infección (Chertow *et al.*, 2005).

### Aminoácidos

Hay un patrón variable de aminoácidos en sangre en la enfermedad renal crónica estadio 5. En general, los niveles de aminoácidos esenciales se encuentran disminuidos, mientras que los aminoácidos no esenciales se encuentran dentro de la normalidad o aumentados.

### Concentración plasmática de colesterol

La concentración de colesterol en plasma se reduce en pacientes desnutridos con función renal normal. Los niveles de colesterol son también más bajos en los pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5. En este contexto, existe una relación inversa entre la mortalidad y la concentración de colesterol (Iseki *et al.*, 2002; Degoulet *et al.*, 1982).

### Nitrógeno ureico en sangre (BUN)

Las mediciones seriadas del BUN pueden ser particularmente útiles en el control de la ingesta de proteínas y del estado nutricional. Los pacientes desnutridos a menudo muestran una reducción gradual del BUN.

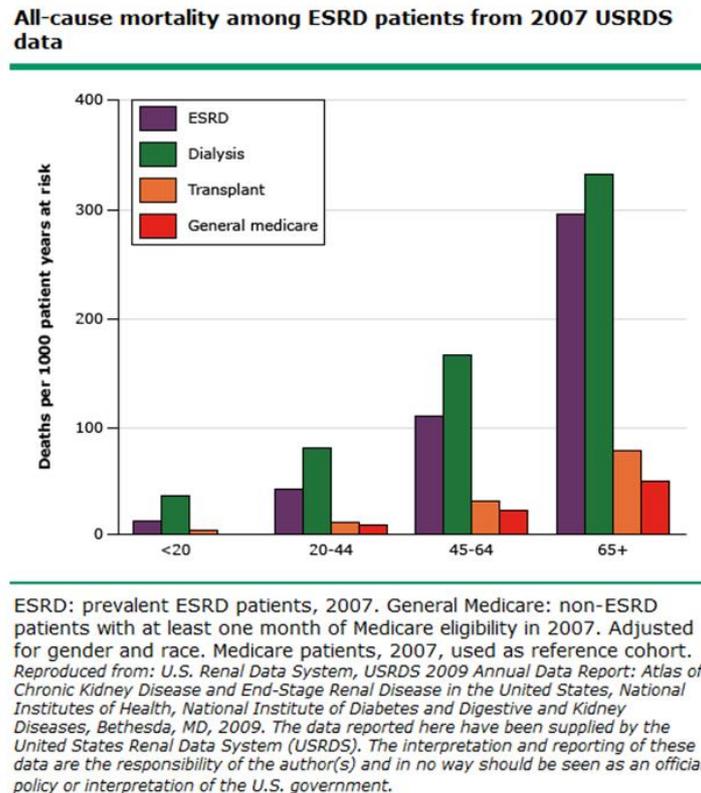
### Producción de creatinina

Ya que la creatinina se produce a partir metabolismo de la creatina no enzimática en el músculo esquelético, la estimación de la tasa de producción de creatinina se ha utilizado para evaluar la masa corporal magra en pacientes estables en diálisis. Se ha estimado que la masa corporal magra fue por debajo de lo normal en el 47 y 66 % de los pacientes en hemodiálisis y diálisis peritoneal, respectivamente, lo que sugiere una nutrición inadecuada. La supervivencia se reduce en pacientes con menores concentraciones plasmáticas de creatinina, otra sugerencia sobre el impacto del estado nutricional sobre la evolución del paciente.

## **1.4. HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE**

A pesar de las mejoras en tecnología y atención a los pacientes, la tasa de mortalidad de los pacientes en diálisis sigue siendo alta, de aproximadamente 15 al 20 % por año (Figura 6). En un intento de mejorar los resultados, se postuló que una dosis de diálisis más alta a la que se proporcionan comúnmente durante la diálisis convencional puede aumentar la supervivencia de los pacientes sometidos a terapias de reemplazo renal (USRDS, 2010).

**Figura 6.** Mortalidad de pacientes con ERC estadio 5 según el registro americano (USRDS, 2007) comparado con la población general (©2015 UpToDate®).



Sin embargo, esta hipótesis fue refutada en dos grandes estudios bien diseñados, tanto en pacientes en hemodiálisis como en diálisis peritoneal:

- El estudio HEMO (Eknoyan *et al.*, 2002) no logró demostrar un efecto positivo sobre la supervivencia del paciente cuando la dosis de diálisis por cada sesión se elevó por encima de las habituales recomendaciones de las guías K / DOQI.
- En el estudio ADEMEX (Paniagua *et al.*, 2002) no se observó aumento de la mortalidad con las dosis de diálisis peritoneal mayores que un Kt /V semanal de 1,7.

A raíz de estos estudios negativos, mucha de la atención se ha vuelto hacia las técnicas alternativas de diálisis, tales como la hemodiálisis larga y

hemodiálisis corta diaria, las técnicas convectivas (Hemofiltración) y mixtas (Hemodiafiltración).

Para comprender mejor el posible papel de las terapias alternativas de reemplazo renal, vale la pena revisar brevemente las propiedades físicas de conocidas toxinas urémicas y la eficacia con la hemodiálisis convencional elimina estas sustancias.

Los resultados síndrome urémico dependen en gran medida de la acumulación de toxinas en los pacientes con ERC avanzada, que incluyen moléculas que normalmente son filtradas, eliminadas o catabolizadas por el riñón normal. De la gran cantidad de solutos retenidos en la insuficiencia renal, por lo menos 90% de los compuestos identificados pueden ser tóxicos.

Los solutos se pueden dividir en las siguientes categorías generales (Vanholder *et al.*, 2003):

- Toxinas de bajo peso molecular (PM), (PM <500 D).
- Toxinas de peso molecular medio (500 a 15.000 D), medias o medianas moléculas (MM).
- Grandes solutos (> 15.000 D), frecuentemente clasificados como proteínas de peso molecular grande.

Las moléculas de bajo peso molecular, ejemplificadas por la urea, contribuyen al síndrome urémico, ya que los síntomas urémicos mejoran con la hemodiálisis convencional, incluso usando membranas de baja permeabilidad, que principalmente eliminan tales toxinas.

La cuestión relativa a la contribución de la retención de medias moléculas, a los síntomas urémicos, ya que su aclaramiento es bajo en la hemodiálisis convencional por tener mayor tamaño, se ha debatido ampliamente. Sin embargo, no hay duda de que algunos de estos compuestos son tóxicos ( $\beta$ 2 microglobulina, hormona paratiroidea [PTH], y otros).

Los niveles de  $\beta_2$  microglobulina, por ejemplo, se asocian con el desarrollo de amiloidosis relacionada con la diálisis y una supervivencia reducida. Parece probable que la  $\beta_2$  microglobulina pueda servir de marcador del aclaramiento de medias o medianas moléculas, incluyendo otros más tóxicos y a solutos que aún no han sido identificados.

Por último, se están acumulando pruebas de que las toxinas más grandes o unidas a proteínas contribuyen a la alta prevalencia de la enfermedad cardiovascular en la enfermedad renal crónica estadio 5 (Yavuz *et al.*, 2005; Vanholder *et al.*, 2003).

La extracción de solutos durante la hemodiálisis convencional se produce por tres mecanismos diferentes (Figuras 7 y 8):

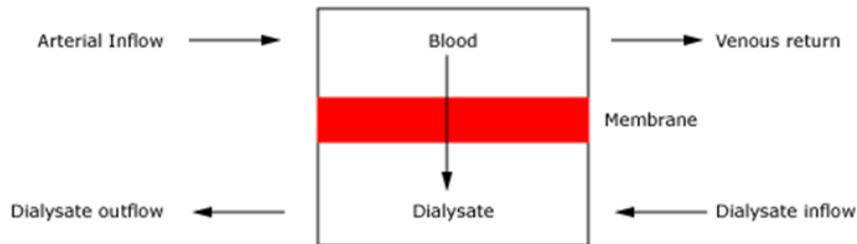
- La difusión pasiva se establece un gradiente de concentración entre la sangre del paciente y el líquido de diálisis.
- La convección, donde las fuerzas de fricción entre el agua y los solutos resultan en el transporte de solutos de peso molecular tanto grande como pequeño en la dirección de la ultrafiltración (es decir, arrastrar disolvente).
- La adsorción de los solutos a la membrana de diálisis.

El aclaramiento de solutos pequeños durante la hemodiálisis convencional depende de su tamaño, así como del gradiente de concentración a través de la membrana de diálisis. Cuando el peso molecular de un soluto (incluyendo aquellos que son proteínas) aumenta, la eliminación por difusión se vuelve menos eficiente.

La eliminación de solutos de medio y gran tamaño depende de su concentración en plasma, del peso molecular, de la proteína de unión, de la duración de la diálisis, de la permeabilidad de la membrana y de la presencia de transporte convectivo. Las técnicas convectivas de diálisis, se han desarrollado para aprovechar la capacidad de convección para eliminar solutos mayor peso molecular.

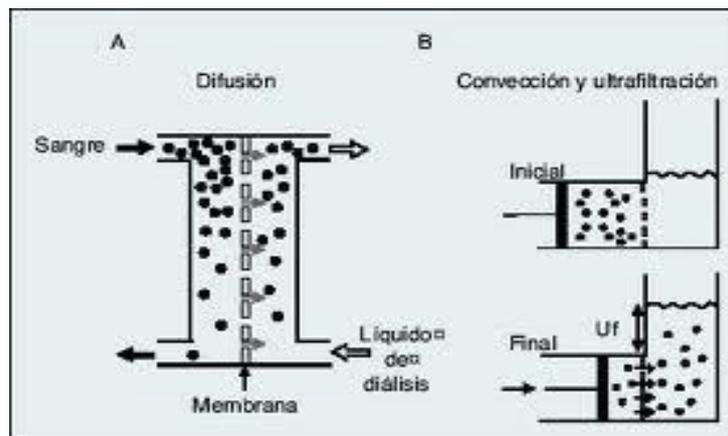
**Figura 7.** Representación esquemática del movimiento de solutos durante la diálisis (Overview of the hemodialysis apparatus ©2015 UpToDate®).

#### Schematic depiction of solute movement in dialysis



Schematic representation of the movement of solute from blood to dialysate across the dialysis membrane. Blood and dialysate move in opposite directions (ie, flow in a countercurrent fashion) to maximize the clearance of solute.

**Figura 8.** Transporte difusivo (A) y convectivo (B) en hemodiálisis (Libro Nefrología Clínica, Hernando Avendaño L., 3ª Edición, 2009).



#### 1.4.1. Técnicas convectivas

La tasa de transporte convectivo de solutos durante la diálisis depende del coeficiente de cribado del soluto para una membrana dada y la tasa de ultrafiltración, que a su vez depende de la presión transmembrana (PTM). El coeficiente de cribado es la relación de la concentración del soluto en el ultrafiltrado sobre la del mismo en plasma. Va desde 0 (no eliminación) a 1 (eliminación completa). Como ejemplo, el coeficiente de cribado para pequeñas

moléculas es 1, mientras que el coeficiente de la  $\beta_2$  microglobulina es 0,6 a través de membranas de alto flujo y se aproxima a 1 con algunas de las nuevas membranas.

El transporte convectivo también está influenciado por la formación de la membrana secundaria y la polarización de la concentración (Huang *et al.*, 2006):

- La formación de la membrana secundaria está relacionada con la adsorción de proteínas en la superficie de la membrana que ofrece resistencia a la transferencia tanto de agua como de solutos.
- La polarización de la concentración, constituye una capa de un soluto de alto peso molecular cercana a la membrana, que se crea debido al aumento de la concentración del soluto específico que deja tras de sí durante la ultrafiltración debido a su tasa de transferencia más lenta. Esto crea un gradiente de concentración, el flujo lejos de la membrana y hacia el centro de la fibra hueca, impide la convección de otros solutos. Al mismo tiempo, sin embargo, aumenta el gradiente de concentración de soluto en particular a través de la membrana, facilitando así su eliminación. La polarización de la concentración es más prominente con altas tasas de ultra-filtración, bajas tasas de flujo de sangre (menos lavado de la capa de la concentración), y el uso de técnicas postdilución (en lugar de predilución).

La presión transmembrana (PTM) es necesaria para que tenga lugar la convección. La relación entre la PTM y la ultrafiltración es lineal para niveles moderados de TMP. Sin embargo, la ultrafiltración alcanza meseta o se invierte con valores más altos de PTM, disminuyendo de ese modo la eficacia, al tiempo que aumenta el riesgo para el paciente.

Como tratamiento renal sustitutivo, las dos técnicas principales utilizadas para proporcionar una eliminación sustancial de grandes toxinas urémicas a través de la convección son la hemofiltración (HF) y la hemodiafiltración (HDF).

#### **1.4.1.1. Hemofiltración**

En la hemofiltración (HF), se extrae líquido de la máquina de diálisis a través de aumento de la presión transmembrana y la solución de sustitución se infunde por vía intravenosa en un volumen igual menos la retirada de fluido de volumen deseado. El aclaramiento del método para un soluto en particular viene dictado por el volumen de ultrafiltración y el coeficiente de cribado. Como el coeficiente de cribado para solutos de bajo PM no unidos a proteínas es igual a 1, el espacio libre para las pequeñas moléculas es igual al volumen de ultrafiltrado. Aunque la hemofiltración es eficaz en la eliminación de los solutos con PM más grandes, es menos eficaz en la eliminación de las moléculas pequeñas, ya que está restringido por el volumen de ultrafiltración.

#### **1.4.1.2. Hemodiafiltración**

La hemodiafiltración (HDF) es una combinación de hemodiálisis y hemofiltración ideada para superar la baja tasa de aclaramiento de solutos pequeños por hemofiltración mediante la adición de un componente difusivo.

El tratamiento estándar para la HDF intermitente, como tratamiento renal sustitutivo, incluye tres sesiones por semana durante tres a cinco horas, igual que con la hemodiálisis convencional intermitente. Un tratamiento convencional de HDF incluye, una configuración de la dilución posterior, con un flujo de sangre de 300 ml/min (500 ml/min para la dosis alta), un flujo de dializado de 500 ml/min, un flujo de un volumen de sustitución de 60 ml/min (120 ml/min para la dosis alta) y un dializador de alto flujo de 1,4 m<sup>2</sup> (2,2 m<sup>2</sup> para la dosis alta).

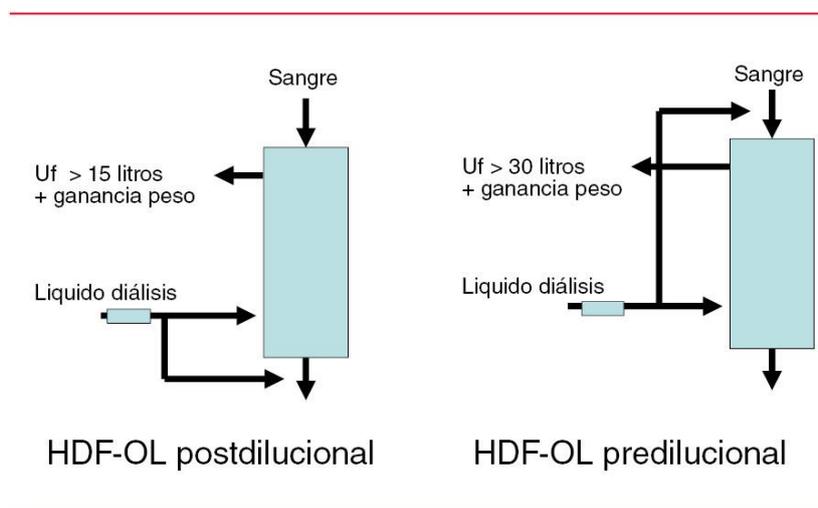
Terapias continuas de reemplazo renal utilizando convección también se utilizan en la unidad de cuidados intensivos para el tratamiento de la insuficiencia renal aguda.

#### **1.4.1.3. Los métodos de infusión del fluido de reemplazo**

El líquido de sustitución puede ser infundido antes (modo predilucional) o después del dializador (modo postdilucional) tanto en HF como en la HDF. Se

genera un gran volumen de ultrafiltrado a través de una membrana con alta permeabilidad hidráulica (Figura 9).

**Figura 9.** HDF-OL postdilucional y predilucional (Nefrología al día, nefrologíadigital.revistanefrología.com).



#### 1.4.1.4. Modo postdilucional

En el modo postdilucional, el volumen de ultrafiltración está limitado por la hemoconcentración resultante que se produce. Como resultado, es deseable una alta tasa de flujo sanguíneo. Para evitar la hemoconcentración extrema, lo que puede conducir a la insuficiencia de la ultrafiltración, la fracción de filtración se debe limitar a un 50%. La fracción de filtración se calcula como el volumen de ultrafiltración / agua plasmática, que es igual a (flujo de sangre) X (1 - hematocrito).

Otra limitación de la técnica postdilucional es el riesgo de pérdida de albúmina, así como el riesgo de aumento de la presión de transmembrana necesaria para alcanzar el volumen de ultrafiltración deseado. La PTM alta puede disminuir la ultrafiltración y puede conducir a la ruptura de la fibra. La PTM debe mantenerse por debajo de 400 mmHg. Por lo tanto, el límite de ultrafiltración depende del flujo de la sangre, el hematocrito y albúmina de suero. Por lo general, se realiza una ultrafiltración de 20 a 25 litros durante un tratamiento de cuatro horas.

#### **1.4.1.5. Modo predilucional**

El modo de predilucional, la principal desventaja es una disminución relativa en el aclaramiento de moléculas pequeñas. Esto es debido a una reducción del gradiente de concentración entre la sangre y el dializado, que es causada por la infusión de la solución de sustitución.

Por lo tanto, con los mismos volúmenes de ultrafiltración, el modo postdilucional es superior al modo predilucional para la eliminación de todos los solutos, en particular las moléculas medias y grandes (Ahrenholz *et al.*, 1997). En el modo de predilución HDF, el volumen de UF y la tasa de sustitución del fluido de infusión puede ser tan alta como 400 ml/ min o de 60 a 100 litros por sesión.

Los defensores de HDF predilución sostienen que es posible usar mayores tasas de ultrafiltración, lo que aumenta la eliminación convectiva. Se ha calculado que, a menos que el volumen de líquido de sustitución superior a 200 ml/min, el modo de postdilución ofrece un mayor aclaramiento convectivo (Colussi and Frattini, 2007).

Se podría concluir que es más útil utilizar predilución en HF y HDF en postdilucional. Este enfoque tiene como objetivo el volumen máximo de intercambio de fluido en ambos casos. Cuando se generan grandes volúmenes de ultrafiltrado, la elección de la membrana y el control de la presión de transmembra son importantes para evitar la pérdida en exceso de proteínas.

#### **1.4.1.6. Fluido de sustitución**

Inicialmente, se utilizó una solución de Ringer Lactato estéril. Más recientemente, se han adoptado soluciones basadas en bicarbonato. Con estas soluciones, el acetato, que se utiliza a veces en los concentrados de ácido, se convierte in vivo en bicarbonato.

Como la HF/HDF fue evolucionando, se utilizaron mayores volúmenes de líquido de sustitución. Esto dio lugar a mayores costos, y la creciente preocupación acerca de la contaminación microbiológica.

Por lo tanto, surgió la necesidad de generar grandes cantidades de fluido de sustitución de mayor pureza. Posteriormente, ha habido un creciente interés en la generación del "líquido ultra-puro" incluso para la hemodiálisis convencional. Esto es debido al creciente reconocimiento de que la exposición a los componentes bacterianos no sólo puede causar reacciones pirogénicas sino también un bajo grado de inflamación que puede contribuir a la aterosclerosis, la malnutrición y los malos resultados para los pacientes de diálisis (Stenvinkel, 2005).

El significado del término "ultra-puro" ha evolucionado en las últimas dos décadas. Los estándares microbiológicos adoptados por la Asociación Americana para el Avance de la Instrumentación Médica (AAMI) de agua para diálisis son <200 unidades formadoras de colonias (UFC) y <0,5 unidades de endotoxina (UE)/ml. Las normas más estrictas de la Farmacopea Europea incluyen <100 UFC y <0,25 UE/ml, respectivamente.

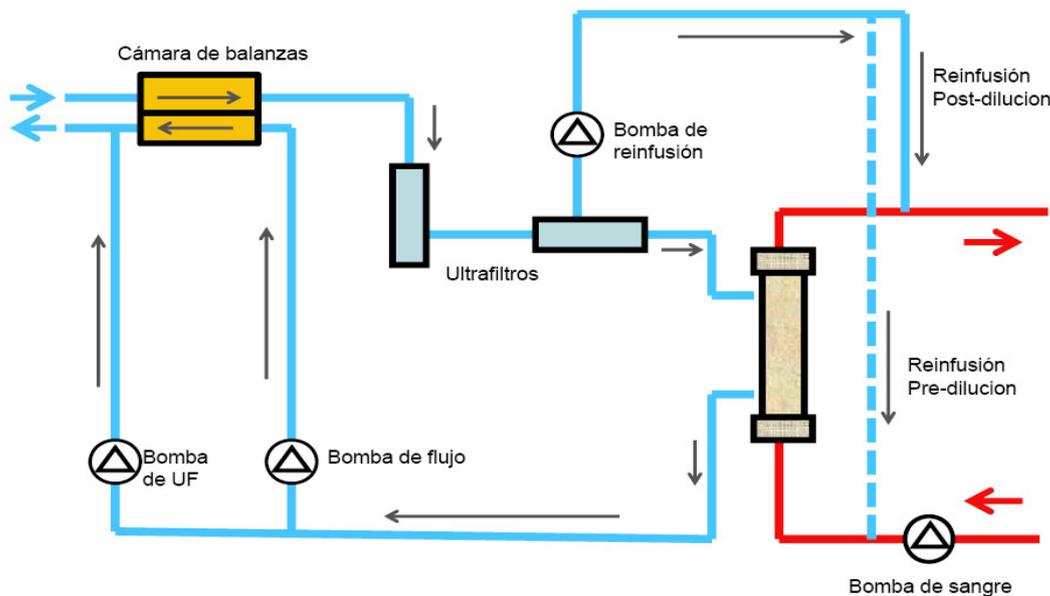
Adoptadas las siguientes definiciones, se requiere por tanto <0,1 UFC y <0,03 UE/ml de una solución para considerarla "ultra-pura".

### **1.4.1.7. Técnica de producción del líquido online**

La técnica de producción de líquido "online" (inicialmente denominada esterilización en frío) ha permitido la producción de un volumen ilimitado de fluido "puro" de sustitución con un costo cercano al de la hemodiálisis convencional (Ledebó, 2002; Ledebó, 1999). El primer paso del proceso incluye la filtración del agua después de que se produce utilizando la técnica de ósmosis inversa. El agua se utiliza a continuación para la producción del líquido de diálisis. Este paso también se ha adoptado en varias máquinas de hemodiálisis para producir líquido de diálisis de pureza mejorada para la hemodiálisis. El segundo paso incluye una filtración adicional del líquido de diálisis. Finalmente, se realiza una tercera filtración por un microfiltro desechable, tras 190 sesiones de diálisis, que completa la creación de la solución de sustitución. El líquido de diálisis antes de la última filtración se utiliza para el elemento de difusión de la HDF. La pureza que consigue

utilizando este enfoque ha sido confirmada en repetidas ocasiones (Ledebó, 2002; Vaslaki et al 2000) (Figura 10).

**Figura 10.** Esquema de funcionamiento de la HDF online, en pre y en post dilución (Nefrología al día, nefrologiadigital.revistanefrologia.com).



En la mayoría de los sistemas de diálisis, el volumen de solución de sustitución se resta del volumen total de dializado producido. El aumento de la ultrafiltración y la necesidad de un volumen de solución de sustitución mejoran la eficacia de la convección.

En 2007, las Directrices sobre las mejores prácticas europeas para hemodiálisis, recomiendan que los volúmenes de intercambio deben ser lo más altos posibles, teniendo especial consideración con los temas de seguridad.

#### **1.4.2. Efectos bioquímicos de las técnicas convectivas**

Hay tres componentes principales de las terapias dialíticas convectivas que pueden dar lugar a mejores resultados clínicos en comparación con los observados con las técnicas convencionales de hemodiálisis:

- El proceso convectivo se asocia con aumento de la eliminación de las moléculas más grandes.
- El uso de membranas biocompatibles de alto flujo disminuye la liberación de citoquinas.
- El uso del líquido de diálisis de alta calidad (“ultrapuro”) se asocia con disminución de la liberación de citoquinas y la introducción de menos impurezas.

Sin embargo, algunos de estos elementos también han sido adoptados por la hemodiálisis de alto flujo. Como ejemplos, las membranas de flujo alto son ampliamente utilizadas en la hemodiálisis convencional y el líquido de diálisis ultrapuro está disponible a un coste mínimo. Además, con la hemodiálisis convencional, hay un elemento de convección a través de la “retrofiltración” cuando se utilizan las membranas de flujo alto, aunque el grado de aclaramiento convectivo es típicamente menor con la hemodiálisis convencional.

Por lo tanto, las diferencias entre la tecnología difusiva y convectiva se han convertido en algo borrosas. Esto se convierte en un problema cuando se diseñan estudios para comparar estas modalidades.

### 1.4.2.1. Eliminación de solutos con las técnicas convectivas

**Urea y creatinina**, la eliminación de pequeñas moléculas se incrementa con el uso de la HDF online de alto flujo y puede ser similar o incluso superior a hemodiálisis dependiendo del volumen de la solución de sustitución. En el estudio DOPPS Europeo, por ejemplo, los pacientes con HDF de alta eficiencia (15 a 24,9 L de líquido de sustitución por sesión) tres veces por semana tenían mayores niveles de  $Kt / V$  que aquellos en hemodiálisis (Canaud *et al.*, 2006).

**$\beta 2$  microglobulina**, en comparación con la diálisis convencional, está bien documentado que hay una eliminación relativamente mejor de  $\beta 2$

microglobulina mediante técnicas convectivas, así como de otras medias moléculas (Maduell *et al.*, 2006; Maduell *et al.*, 2002).

La relación de reducción de  $\beta 2$  microglobulina es entre 70 y 80 % con HDF online postdilución, en comparación, es entre 50 y 60 % en HD de alto flujo.

**Fosfato**, la HDF-OL mejora la eliminación de fósforo por lo que se podría considerar como una opción para mejorar el tratamiento de la hiperfosforemia. En este sentido, si bien algunos autores han demostrado que el tratamiento con HDF-OL consigue mejor depuración del fósforo que la HD convencional (Penne *et al.*, 2010; Davenport *et al.*, 2010), otros no han demostrado diferencias en los niveles séricos entre HD-HF y HDF-OL (Maduell *et al.*, 2013).

**Otras moléculas**, existen evidencias de que las terapias convectivas están asociadas a menor estrés oxidativo, pero no se encontró ninguna diferencia en los marcadores inflamatorios entre la HDF y hemodiálisis de bajo flujo (Calò *et al.*, 2007; Vaslaki *et al.*, 2005). Algunos estudios prospectivos, en series cortas de pacientes, han logrado demostrar que el transporte convectivo puede disminuir la actividad de células proinflamatorias, la expresión de citoquinas proinflamatorias y atenuar la disfunción endotelial con respecto a la HD de alto flujo (Ramirez *et al.*, 2007; Carracedo *et al.*, 2006). Recientemente, un estudio randomizado con reducido número de pacientes compara HDF-OL frente a HD de alto flujo, demostrando que la HDF previene el desarrollo de disfunción endotelial y de rigidez arterial (Ramirez *et al.*, 2007).

### **1.4.3. Efectos clínicos de las técnicas convectivas**

La HDF-OL se ha considerado eficaz en determinadas indicaciones específicas como hiperfosforemia, desnutrición, inflamación, insomnio, síndrome de piernas inquietas, polineuropatía, anemia, prurito y dolor articular; además puede prevenir la amiloidosis asociada a diálisis y las complicaciones infecciosas, así como mejorar la tolerancia hemodinámica.

### 1.4.3.1. Efectos cardiovasculares

**Estabilidad hemodinámica**, los defensores de las terapias convectivas sostienen que una de las principales ventajas de estas modalidades es una mejor tolerancia hemodinámica. Muchos (Altieri *et al.*, 2001; Altieri *et al.*, 1997), pero no todos, los estudios han apoyado esta idea.

Los posibles mecanismos para mejorar la estabilidad hemodinámica incluyen:

- Carga de sal a través de la administración del líquido de sustitución (con una pérdida de fluido relativamente hipotónico).
- Disminución de la temperatura corporal central (como resultado de la infusión de grandes cantidades de líquido a menor temperatura) que conduce a la vasoconstricción.
- Se ha sugerido que en sí, el líquido de diálisis ultrapuro se asocia con una mayor estabilidad hemodinámica. Esto puede ser debido a que la vasodilatación se reduce debido a la falta de inflamación o de la exposición a los pirógenos.

En resumen, las técnicas convectivas pueden estar asociadas con una mejor estabilidad intradialítica, aunque el beneficio no puede ser debido a la convección en sí.

**Hipertensión**, aunque se ha documentado en la literatura un mejor control de la presión arterial con terapias convectivas, no hay datos convincentes de estudios controlados aleatorios en los que las terapias convectivas demuestren ofrecer un mejor control de la presión arterial.

**La hipertrofia cardiaca**, hay pruebas contradictorias sobre el efecto de las terapias convectivas sobre la regresión de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI). Sin embargo, la HDF diaria puede estar asociada con la regresión de HVI.

#### **1.4.3.2. Anemia**

El efecto de los regímenes basados en la convección sobre la anemia ha sido variable. Varios estudios no aleatorizados, encuentran mejoría de la hemoglobina o una disminución de las necesidades de dosis de eritropoyetina en HDF (Vaslaki *et al.*, 2006). En comparación, con Maduell *et al.*, 2013 y dos ensayos controlados aleatorios, que no demostraron ninguna mejora en estos parámetros con HDF (Beerenhout *et al.*, 2005; Wizemann *et al.*, 2000).

Es concebible que el uso del líquido de diálisis ultrapuro puede reducir la resistencia a eritropoyetina por mejorar el perfil de citoquinas. La reducción de los niveles séricos de moléculas inflamatorias se han observado con el líquido de diálisis ultrapuro. Varios estudios han demostrado la necesidad de dosis más bajas de agentes estimuladores de la eritropoyesis para el mantenimiento de los niveles de hemoglobina diana (Panichi *et al.*, 2015; Sitter *et al.*, 2000).

Por lo tanto, el efecto beneficioso de terapias convectivas sobre el control de la anemia, más allá de los beneficios de la utilización del líquido de diálisis ultrapuro, no se han demostrado. Se necesita de estudios más amplios para evaluar mejor esta cuestión resultado en particular.

#### **1.4.3.3. Calidad de vida**

En comparación con la hemodiálisis, la calidad de vida, en general, parece ser superior en las terapias convectivas (Mucsi *et al.*, 2005).

#### **1.4.3.4. Nutrición**

La anorexia en pacientes urémicos se ha relacionado con la acumulación de sustancias urémicas. En ratas urémicas, Anderstam *et al.*, 1996 aislaron e identificaron toxinas en el rango de 1000-5000 Da en el plasma urémico, que suprimían el apetito de forma nivel-dependiente. La leptina (PM 16000 Da), habitualmente elevada en pacientes en diálisis, tiene un efecto anorexígeno

(Merabet *et al.*, 1997), por lo que su mayor eliminación con HDF puede contribuir a un aumento del apetito.

Existe controversia respecto a la nutrición y las técnicas convectivas. En un estudio controlado aleatorizado, hubo un aumento en la masa corporal magra y el peso corporal durante un año en los que se sometieron a HDF en comparación con ningún cambio en el grupo sometido a hemodiálisis de bajo flujo, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (Beerenhout *et al.*, 2005). Por lo tanto, se necesitan más estudios para demostrar la mejoría en el estado nutricional de las terapias convectivas.

### **1.4.3.5. Amiloidosis relacionada con la diálisis**

En los pacientes tratados con HD durante más de cinco años aparece progresivamente una amiloidosis, fundamentalmente osteoarticular, por depósito de fibrillas de  $\beta$ -2 microglobulina.

Usando datos del registro japonés de pacientes en diálisis, Nakai *et al.*, 2001 investigaron en 1196 pacientes qué modalidad de tratamiento sustitutivo renal era más eficaz para el tratamiento de la amiloidosis relacionada con la diálisis. Tomando como valor de referencia la hemodiálisis de bajo flujo el riesgo de padecer síndrome del túnel carpiano se reducía un 51% para los pacientes que utilizaban hemodiálisis de alto flujo, mientras que en el caso de HDF en línea fue de un 99%.

Hasta el momento, el aclaramiento mejorado de la  $\beta$ 2 microglobulina a través de la HDF no se ha traducido en mejoras en la amiloidosis relacionada con la diálisis. Todavía no hay recomendaciones basadas en la evidencia que nos indiquen cual es el nivel de  $\beta$ 2 microglobulina se considera como umbral para iniciar el tratamiento convectivo.

#### **1.4.3.6. Tasas de hospitalización**

Los datos que describen las tasas de hospitalización y la duración de la estancia con la HDF son limitados. Un estudio que siguió a 45 pacientes durante dos años en HDF no demostró ninguna diferencia en las tasas de hospitalización en comparación con más de 300 pacientes tratados con hemodiálisis, mientras que otro estudio cruzado, mostró un menor número de hospitalizaciones (8 frente a 17) en las terapias de convección, en comparación con la hemodiálisis. Recientemente Maduell *et al.*, 2013, han encontrado una menor tasa de hospitalización en los pacientes en HDF-OL. Son necesarios estudios a mayor escala para hacer frente al impacto de las terapias convectivas sobre las tasas de hospitalización.

#### **1.4.3.7. Supervivencia del paciente**

Existen resultados contradictorios en cuanto a la mortalidad en relación con la hemodiálisis (HD) versus la HDF. Recientemente, se han publicado tres estudios multicéntricos, prospectivos, randomizados y con gran número de pacientes, con el objetivo principal de valorar la mortalidad en HDF-OL frente a HD de alto o bajo flujo.

El estudio CONTRAST, que comparó la mortalidad por todas las causas, 358 pacientes fueron asignados a HDF online y 356 pacientes fueron asignados a HD de bajo flujo (Grooteman *et al.*, 2012). En un seguimiento medio de tres años, en el análisis por intención de tratar se detectaron diferencias en cualquier resultado. Sin embargo, la falta de beneficio a favor de la HDF pueden estar relacionada con el hecho de que el volumen de sustitución fuera inadecuado, ya que el objetivo del volumen de convección de 24 L / tratamiento no se logró en la mayoría de los pacientes, la media de volumen suministrada fue de 21 L y entre una tercera parte de los pacientes, sólo 18 L o menos. En apoyo de esta hipótesis, el análisis post hoc de tratamiento mostró una disminución de la mortalidad entre los pacientes tratados con HDF que recibieron el mayor volumen de convección (> 22 L) en comparación con el grupo de HD, incluso después de ajustar por posibles factores de confusión.

Para los eventos cardiovasculares se observó una tendencia similar, aunque esto no alcanzó significación estadística.

El estudio turco de HDF incluyó 782 pacientes, que se randomizaron para tratamiento durante 2 años con HDF en línea frente a HD de alto flujo. En el análisis primario, la mortalidad global y cardiovascular, la tasa de hospitalización y la aparición de eventos cardiovasculares no fue diferente entre los dos tipos de tratamiento. Los autores realizaron también un análisis secundario, dividiendo a los pacientes en HDF en dos subgrupos, en función de si el volumen de reinfusión era mayor o menor de la mediana, estimada en 17,4 litros. Como en el estudio anterior, los pacientes que recibían el mayor volumen de reinfusión mostraron una mejor supervivencia global y cardiovascular. En el análisis de Cox, ajustado para distintas variables, la mortalidad global de este subgrupo de pacientes se redujo en un 46% y la mortalidad cardiovascular lo hizo en un 71% (Ok *et al.*, 2013).

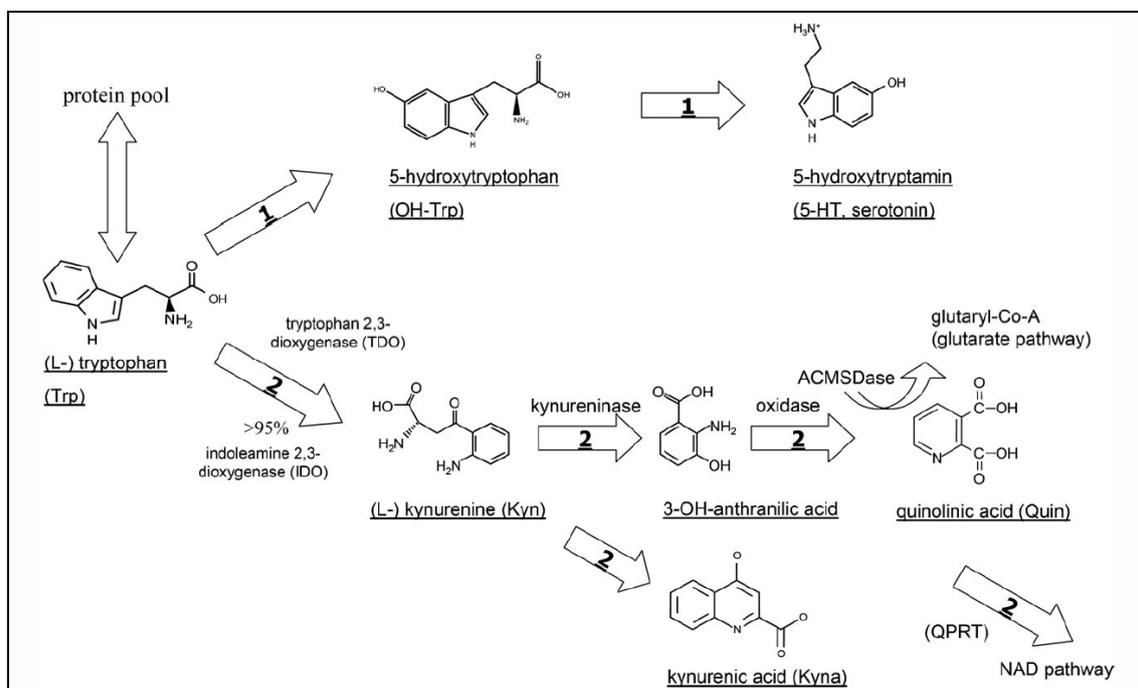
El estudio ESHOL (Maduell *et al.*, 2013) incluyó un total de 906 pacientes, randomizados para recibir HDF-OL o HD. El seguimiento fue de 3 años; en el grupo de HD, el 92% de los pacientes estaban con membranas de alta permeabilidad; y en el grupo en HDF, la mediana del volumen de reinfusión a lo largo del estudio oscila entre 21 y 22 litros, con un transporte convectivo total entre 23 y 24 litros. En el análisis primario mostró, por primera vez en la literatura, que los pacientes asignados al grupo de HDF-OL presentaron una reducción del 30% en la mortalidad global, un 33% en la mortalidad cardiovascular y un 55% en la mortalidad de causa infecciosa. En el análisis secundario, al igual que los estudios anteriores, la mortalidad global se redujo hasta un 40% y 45% en los dos terciles de pacientes que recibieron mayor transporte convectivo (23-25 L y >25 L respectivamente). Este estudio observó una mejor estabilidad hemodinámica intradiálisis y una menor tasa de hospitalización en este mismo grupo.

### 1.5. INDOLAMINA 2,3-DIOXIGENASA (IDO)

El catabolismo del aminoácido esencial triptófano (Trp) está estrechamente regulado en los individuos sanos, el triptófano es catabolizado por dos vías: la vía de la serotonina y la vía de la quinurenina (Figura 11).

La primera vía implica la oxidación del triptófano a 5-hidroxitriptófano por la enzima triptófano-hidroxilasa, seguida por una descarboxilación a 5-hidroxitriptamina (serotonina). La segunda vía metabólica es la de la quinurenina, la cual comienza con una oxidación del triptófano a N-formilquinurenina y rápidamente es hidrolizada a quinurenina, siendo ésta el producto inicial que conduce a varias vías de degradación y cuyos productos finales son el ácido quinureico, el ácido picolínico y los metabolitos de niacina, estos a su vez, contribuyen a la restauración del suministro de energía mediante la formación de la acetil-CoA (vía glutarato) y de la dinucleótido adenina nicotinamida (vía NAD), esta segunda vía se controla en un 99% por la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) (Stone *et al.*, 2002).

**Figura 11.** Catabolismo del triptófano y el papel de la IDO (Scheffold *et al.*, 2009).



La indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), cataboliza el triptófano por la vía de la quinurenina. La IDO se encuentra fundamentalmente en el tejido hepático, pero también ha sido encontrada en los tejidos extrahepáticos tales como el intestino, el pulmón, la placenta y el cerebro y en las células del sistema inmune como los macrófagos y las células dendríticas. Esta enzima presenta una actividad enzimática muy baja, pero sus niveles pueden aumentar hasta 1000 veces cuando es inducida por factores que activan el sistema inmune como: las interleuquinas 1 y 2, los interferones  $\gamma$  y  $\beta$ , el lipopolisacárido bacteriano (LPS) y algunos virus como el virus de la inmunodeficiencia humana.

Los productos de la degradación del triptófano participan en la activación y en la supresión del sistema inmune. El ácido picolínico, por ejemplo, actúa como un coestimulador del interferón gama en la activación de los macrófagos, mientras que la serotonina inhibe la expresión de las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II. El interferón gama es un potente inmunomodulador con efectos antiproliferativos y antineoplásicos, capaz de inducir la expresión de la IDO en diferentes células como macrófagos, células dendríticas, líneas de células tumorales, fibroblastos de piel y de tejido conectivo sinovial (Moffett *et al.*, 2003).

La actividad de la IDO, y en general el metabolismo del triptófano, juegan un papel importante en la regulación en la respuesta inmune, además los metabolitos del triptófano han demostrado estar involucrados en el desarrollo de las principales síndromes urémicos. Esto incluye, entre otros, la neurotoxicidad (Moroni, 1999; Widner *et al.*, 1999; Stone, 1993), trastornos en el metabolismo lipídico, aterosclerosis (Rudzite and Jurika, 1991) y aumento de la susceptibilidad a la infección (Bertazzo *et al.*, 1999; Sakai *et al.*, 1993). La IDO ha demostrado que puede ser un factor clave en los procesos inmunológicos incluyendo infección, autoinmunidad, reacción alérgica, inflamación crónica y el daño renal. La actividad de la IDO aumentada se observa en los estados de la infección crónica (Fuchs *et al.*, 1990), enfermedad maligna (Huang *et al.*, 2002) y de enfermedades neuropsiquiátricas (Topczewska-Bruns *et al.*, 2003).

Modelos animales sugieren que el triptófano y sus metabolitos de la vía quinurenina se excretan a través de los riñones. Sin embargo el metabolismo de triptófano y la activación IDO en enfermedad renal crónica (ERC) y su impacto sobre los pacientes en hemodiálisis continua siendo incierto. Teniendo en cuenta que muchos de los pacientes en hemodiálisis presentan un estado de inflamación crónica, es posible que la activación de la IDO tenga relevancia en la elevada mortalidad cardiovascular que presentan estos pacientes, en relación a la inflamación.

En un estudio (Scheffold *et al.*, 2009) se encontró que los metabolitos del triptófano y la actividad de la IDO se encuentran aumentados en la ERC, y este aumento es mayor a medida que empeora la función, es decir en estadios finales de la ERC, además se encontró que la hemodiálisis de bajo flujo no influía en la actividad de la IDO, con reducción, aunque parcial de los metabolitos del triptófano al final de la sesión de hemodiálisis. Esta eliminación parcial se justificó por las características de estos metabolitos, que circulan unidos a proteínas, lo que supone aclaramientos más bajos de los mismos con la hemodiálisis convencional.

En otro estudio (Eleftheriadis *et al.*, 2012) donde incluyeron un total de 66 pacientes en hemodiálisis (HD), 22 de ellos con enfermedad coronaria, que fue confirmada mediante angiografía coronaria y 24 voluntarios sanos, se midió la concentración plasmática de la IDO, la interleuquina-6 (IL-6) y la proteína C reactiva (PCR). En los resultados se evidenció que, comparado con los voluntarios sanos, la concentración plasmática IDO fue marcadamente mayor en pacientes con HD (8,04 ng/ml vs 48,9 ng/ml). Los niveles de IL-6 y PCR también fueron significativamente mayores en los pacientes en HD. En comparación con los pacientes sin enfermedad coronaria en HD, la concentración plasmática de la IDO fue significativamente mayor en los pacientes con enfermedad coronaria en HD (38,6 ng/mL vs 74,5 ng/mL). Sin embargo, no hubo diferencias para la IL-6 ni la PCR, entre los dos últimos grupos. Este trabajo pone de manifiesto el papel de la IDO en la patogénesis de la aterosclerosis.

## 1.6. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo (EO) es el desequilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes a favor de los primeros (Sies, 2015; Lushchak, 2014; Sies, 1993). Los radicales libres se forman como productos normales del metabolismo aeróbico, pero bajo determinadas condiciones fisiopatológicas, puede aumentar su producción y concentración (Halliwell, 1996). Está implicado en varios procesos patológicos tales como alteraciones cardiovasculares, desórdenes neurológicos, diabetes, isquemias, cáncer e incluso el propio envejecimiento.

Estas alteraciones se pueden clasificar en dos grupos, por una parte estarían las caracterizadas por variaciones en el estado redox y cambios en la tolerancia de la glucosa, también denominado estrés oxidativo mitocondrial, relacionado con enfermedades como el cáncer y la diabetes mellitus y por otra parte, estarían implicados los desórdenes caracterizados por condiciones inflamatorias oxidativas y un aumento de la actividad de la NADPH oxidasa y/o xantina oxidasa inducido por especies oxigénicas reactivas (ROS) relacionadas con procesos inflamatorios crónicos, arterioesclerosis e isquemias y reperfusiones.

Un radical libre, es un átomo, una molécula o un compuesto que contiene un electrón desapareado en la última capa lo que le dota de alta reactividad. Los radicales libres, son muy electrofílicos y atacan vigorosamente lugares con una alta densidad electrónica, como pueden ser uniones  $O=O$  (por ejemplo enlaces de ácidos grasos insaturados), y compuestos que contengan grupos nitrógeno y  $-SH$  (glutacion y cisterna, los más frecuentes).

Actualmente los radicales libres también son conocidos como especies reactivas oxigénicas o del oxígeno, EROs o ROS y especies reactivas del nitrógeno ERN o RNS (Halliwell *et al.*, 1999) donde se incluyen además de los radicales libres aquellas especies reactivas aunque no tengan un electrón desapareado. Entre las especies reactivas cabe destacar los radicales como el ión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), alcoxilo ( $RO^{\cdot}$ ), peroxilo ( $ROO^{\cdot}$ ) y óxido de nitrógeno ( $NO^{\cdot}$ ). Entre los no radicales se encuentran el peróxido de

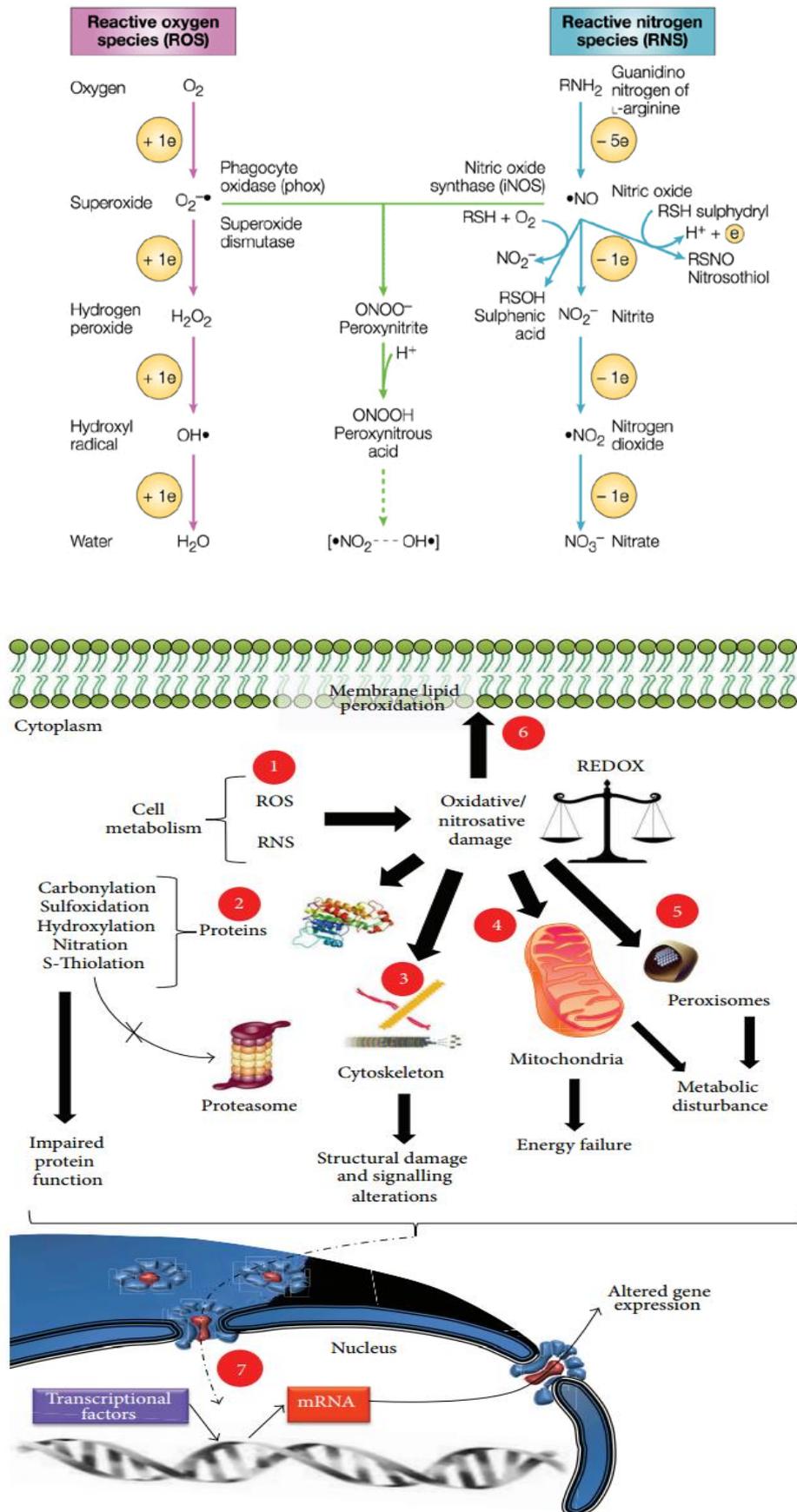
hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ) y peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) que son de baja reactividad, pero en presencia de metales de transición (hierro y cobre) pasan a radical hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) que es la especie oxigénica más reactiva y tóxica dada su capacidad de reaccionar con las distintas biomoléculas (lípidos, proteínas, ácidos nucleicos) (Figuras 12).

El anión superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) es el principal radical libre generado in vivo por la reducción del oxígeno molecular a través de la acción del complejo enzimático NADPH oxidasa. Tan pronto como  $\text{O}_2^{\cdot-}$  se forma, se convierte en peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Comúnmente se piensa que la responsable de la lesión tisular asociada con una gama de enfermedades inflamatorias crónicas es la producción excesiva de ROS por la NADPH oxidasa, y ha sido considerado como una propiedad única de fagocitosis de las células. Tanto  $\text{O}_2^{\cdot-}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  son precursores para la producción de oxidantes más potentes. El  $\text{O}_2^{\cdot-}$  tiene una alta afinidad para reaccionar con el óxido nítrico de los radicales libres ( $\text{NO}^\cdot$ ), produciéndose rápidamente el peroxinitrito RNS ( $\text{ONOO}^-$ ), mientras que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  reacciona con el hierro intracelular para formar el radical hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) a través del ciclo de Haber-Weiss. Los resultantes  $\text{ONOO}^-$  y  $\text{OH}^\cdot$  pueden conducir a modificaciones oxidativas de proteínas, lípidos, y ácidos nucleicos (Bedard and Krause, 2007).

La capacidad de cada radical o especies reactiva viene determinada desde el punto de vista químico por cuatro características básicas, como son: reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. El  $\text{O}_2^{\cdot-}$  es el mayor reductor, la simple adición de un protón da lugar a la formación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  convirtiéndose en un agente oxidante muy activo, selectivo y específico. El  $\text{O}_2^{\cdot-}$  no es particularmente reactivo lípidos, glúcidos o ácidos nucleicos y exhibe reactividad limitada con determinadas proteínas. El  $\text{OH}^\cdot$ , sin embargo reacciona con cualquier molécula en su proximidad, sin especificidad alguna.

Los tres componentes con mayor capacidad de difusión son el radical superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo capaces de reaccionar con moléculas que se encuentran alejadas del lugar de origen incluso con capacidad de atravesar membranas celulares.

Figuras 12. A) Especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (Fang, 2004).  
 B) Daño oxidativo (Ortuño-Sahagún *et al.*, 2014).



Estas especies reactivas se pueden generar a través de diferentes procesos, entre los que se encuentran las fuentes endógenas (resultado del metabolismo aeróbico) o exógenas (Inoue *et al.*, 2003).

- Fuentes endógenas:
  - La cadena de transporte de electrones situada en la membrana mitocondrial, donde la reducción monovalente de la molécula de oxígeno da lugar a la formación de la mayoría de estos compuestos y constituye la principal fuente de ROS (Cadenas and Davies, 2000).
  - La cadena de transporte electrónico no fosforilante en el retículo endoplásmico, es decir, la fracción microsomal de la célula.
  - Las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos) utilizan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente radical superóxido (Conner and Grishman, 1996) y también generan óxido nítrico (NO $\cdot$ ), por acción de la óxido nítrico sintasa sobre la arginina intracelular, como mecanismo de defensa.
  - La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario celular como la xantina, hipoxantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa que utilizan el O $_2$  como sustrato (Li and Jackson, 2002).
  - Autooxidación de pequeñas moléculas. Existen en la célula una gran variedad de componentes solubles, capaces de producir reacciones de oxidación-reducción, tales como los tioles, hidroquinonas, catecolaminas, flavinas y tetrahidropterinas
  - Reacción de Fenton-Haber-Weiss. Consistente en la reducción del H $_2$ O $_2$  por iones de metales de transición, sobre todo el ión ferroso (Fe $^{2+}$ ) y el cuproso (Cu $^+$ ) y otros iones, para generar radicales hidroxilo. También a partir del peróxido de hidrógeno y en presencia del radical superóxido puede formarse el radical hidroxilo, por la reacción de Haber-Weiss.

- Fuentes exógenas:
  - Factores ambientales y nutricionales, como contaminantes aéreos fotoquímicos, radiaciones ultravioleta (Zastrow *et al.*, 2009), hiperoxia, pesticidas, humos del tabaco, solventes, anestésicos e hidrocarburos aromáticos.
  - La irradiación de los organismos debido a las radiaciones electromagnéticas o radiaciones de partículas.
  - Muchos agentes antineoplásicos, tales como la adriamicina, bleomicina, daunorrubicina, el oxaliplatino y algunos antibióticos (Kopetz *et al.*, 2009). Algunos de los efectos de estas drogas se han atribuido a su capacidad para reducir el oxígeno a superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo.

Además, la producción de radicales libres se puede ver aumentada bajo ciertas condiciones fisiopatológicas como la inflamación, la hiperoxia, el metabolismo de algunas drogas, alteraciones renales, la exposición a radiaciones y el cáncer (Il'yasova *et al.*, 2008).

A bajas concentraciones, los radicales libres son necesarios para el buen funcionamiento celular pudiendo actuar como segundos mensajeros, estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células. Sin embargo, a altas concentraciones se produce el EO resultado de la interacción de los radicales libres con distintas macromoléculas biológicas, como lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos, produciendo reacciones en cadena de radicales libres e induciendo daño oxidativo (Valko *et al.*, 2007).

Se ha estimado que una célula humana está expuesta aproximadamente a  $1,5 \times 10^5$  oxidaciones/día como consecuencia de la acción de los distintos tipos de radicales libres (Beckman and Ames, 1997). La capacidad de cada radical o especie oxigénica reactiva viene determinada, desde el punto de vista químico,

por cuatro características básicas como son: reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad.

Acción de los radicales libres sobre los lípidos: Los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados o fosfolípidos polinsaturados son muy susceptibles a la acción de los radicales libres, en un proceso autocatalítico que tiende a perpetuarse con el resultado de fragmentación de los ácidos grasos y formación de hidroperóxidos y aldehidos citotóxicos.

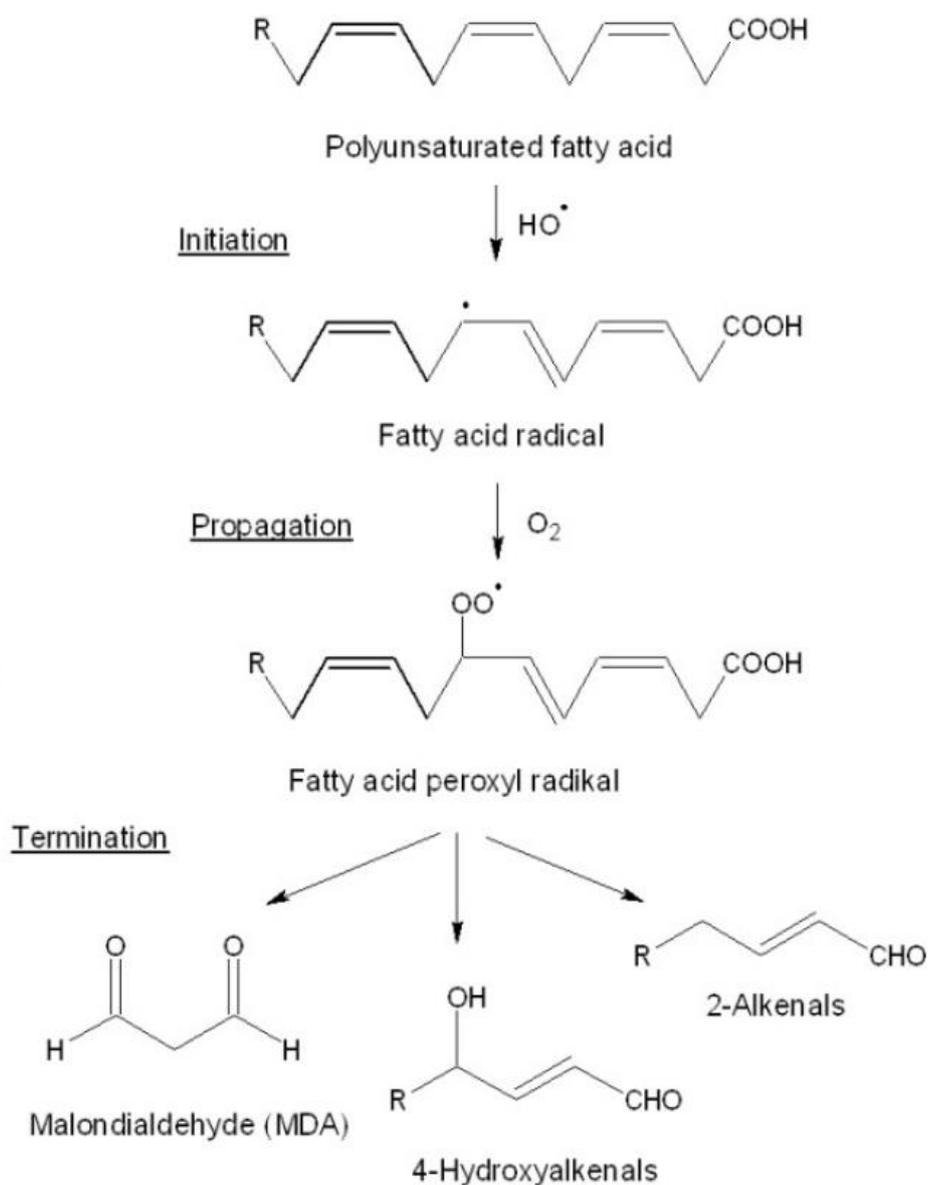
Las estructuras lipídicas bicapa de las membranas celulares, son muy susceptibles a la peroxidación lipídica, lo que puede producir la lesión de dichas membranas celulares y de otros componentes intracelulares, llevando el proceso a la muerte celular. Este proceso de la peroxidación lipídica da lugar a la formación de compuestos tales como hidrocarbonos (eteno, pentano, etc.), alkenales y aldehidos siendo el malonildialdehido un buen marcador biológico de éste proceso.

La lipoperoxidación es una reacción en cadena, teniendo lugar en tres fases, iniciación, propagación y terminación (Mimica-Dukić *et al.*, 2012) (Figuras 13). Así, esta peroxidación lipídica puede iniciarla el radical hidroxilo, el radical hidroperoxilo y quizá el oxígeno singlete, pero no el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno, que son menos reactivos.

Esta reacción en cadena que puede iniciarla el radical hidroxilo, que tiene la capacidad de abstraer un átomo de hidrógeno de un grupo metileno de los ácidos grasos dejando un electrón no apareado en el carbono. Los ácidos grasos poliinsaturados son particularmente susceptibles al ataque por radicales libres debido a que la presencia de dobles enlaces debilita el enlace carbono-hidrógeno en el átomo de carbono adyacente. El radical generado sobre el carbono sufre un reajuste molecular para formar un dieno conjugado que es capaz de combinarse con el oxígeno para formar un radical peroxilo que puede abstraer un nuevo átomo de hidrógeno y empezar una reacción en cadena que continua hasta el agotamiento del sustrato.

Los peróxidos lipídicos pueden reaccionar con metales de transición y complejos de metales dando lugar a nuevos radicales capaces de estimular más la peroxidación lipídica. La peroxidación lipídica puede tener efectos profundos sobre las funciones celulares pues afecta a las membranas produciendo cambios en la fluidez, aumento de permeabilidad, disminución del potencial de membrana y finalmente su rotura.

**Figuras 13.** Esquemas de la peroxidación lipídica (Mimica-Dukić *et al.*, 2012; Leopold and Loscalzo, 2009).



ROS puede reaccionar con los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), para dar los hidroperóxidos de lípidos. El malondialdehído (MDA), es el producto de oxidación secundaria del peroxidado PUFAs, se ha demostrado que tiene efectos mutagénicos y citotóxicos, además de estar involucrado en la patogénesis de varias enfermedades humanas, incluyendo la aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas y el cáncer (Chen *et al.*, 2011). Los productos de la peroxidación lipídica como el malondialdehído, 4-hydroxynonenal (HNE), los productos avanzados de la lipoxidación (ALE), ácido hydroxyoctadecadienoic (HODE), F2-isoprostanos y las isolevuglandinas, se ha demostrado que están elevados en los pacientes en HD (Morena *et al.*, 2005). Las sustancias tiobarbitúrico-ácido-reactiva (TBARS) y los lipoperóxidos se han documentado aumentados en los pacientes en HD después de un año (Caimi *et al.*, 2009; Ramos and Martínez-Castelao, 2008).

Los lipoperóxidos juegan un papel muy importante en el proceso de la aterosclerosis.

Acción de los radicales libres sobre las proteínas: puede ser reversible o irreversible, dependiendo del objetivo y de la forma del daño oxidativo, ejerciéndose fundamentalmente sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol (-SH). De esta forma, proteínas ricas en determinados aminoácidos (triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína) pueden sufrir modificaciones estructurales y funcionales. El triptófano, tirosina, histidina y cisteína son particularmente sensibles a los ROS (Stadtman, 2004). Los grupos sulfhidrilo pueden ser transformados en puentes disulfuro (S=S), produciéndose la inactivación enzimática (si la proteína es un enzima). En otros casos, en los que las proteínas son estructurales, como el colágeno, las fibrillas se pueden romper por el radical superóxido e hidroperóxido, proceso que puede constituir el punto de partida para la acción de proteasas y facilitar la pérdida de estructura de la triple hélice del colágeno.

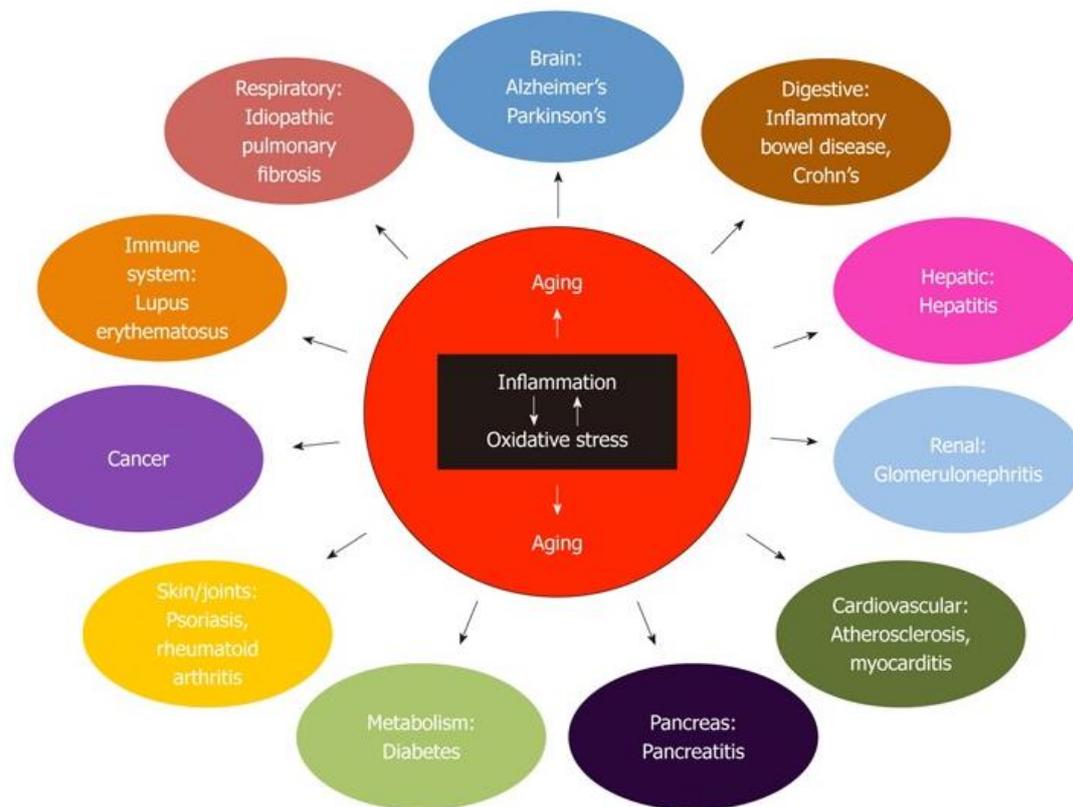
Como resultado de estas interacciones se produce un incremento de grupos carbonilo de las cadenas laterales de los aminoácidos y un descenso de grupos tiol en el entrecruzamiento entre cadenas peptídicas o en la fragmentación de enlaces peptídicos. Esta oxidación puede dar lugar a una pérdida o modificación de la actividad biológica de las proteínas y alterar su recambio, estando asociado con un número de enfermedades relacionadas con el envejecimiento (Belonogov *et al.*, 2009).

Acción de los radicales libres sobre los glúcidos: La glucosa constituye un captador del radical superóxido, la manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo. Sin embargo, los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres, como el ácido hialurónico y los proteinglicanos. Este daño oxidativo a los polisacáridos de función estructural da lugar a procesos degenerativos como la artritis reumatoidea. También se postula, en el caso de la Diabetes Mellitus, que existe una anormal regulación en el metabolismo de los peróxidos y los metales de transición colabora con el establecimiento de la enfermedad, así como en las complicaciones que aparecen a largo plazo.

Acción de los radicales libres sobre el DNA: En presencia de oxígeno, se forman radicales peroxilo por adición de oxígeno a las bases o al azúcar del DNA. Las reacciones posteriores de los radicales formados en el DNA dan lugar a un gran número de efectos, que incluyen rotura de cadenas, sitios abásicos y modificación de bases. También se forman puentes cruzados DNA-proteína. Muchos de estos productos encontrados *in vitro*, también aparecen en el DNA de tejidos animales tras el tratamiento con sustancias que estimulan la generación de radicales libres. Según estudios realizados existe una fuerte correlación entre daño al DNA producido por oxidación y cáncer, así como la evolución de los diferentes estadios del proceso de carcinogénesis (Tsuzuki *et al.*, 2007).

Por todo lo señalado, al estrés oxidativo se le considera un factor etiológico importante en muchos procesos patológicos del ser humano (Figura 14).

**Figura 14.** Esquema del estrés oxidativo (Terlecky *et al.*, 2012).



Así, se le ha relacionado con la insuficiencia renal crónica y algunas enfermedades renales agudas, carcinogénesis, la arterioesclerosis, la hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, el desarrollo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, las complicaciones a largo plazo de la diabetes, etc...(Valko *et al.*, 2007).

### **1.6.1. Estrategias celulares contra los radicales libres. Sistemas antioxidantes.**

Los organismos aeróbicos frente a la oxidación de las células y los tejidos han desarrollado evolutivamente una serie de complejos antioxidantes que limitan la actividad y la producción de ROS, manteniendo el sistema bajo control.

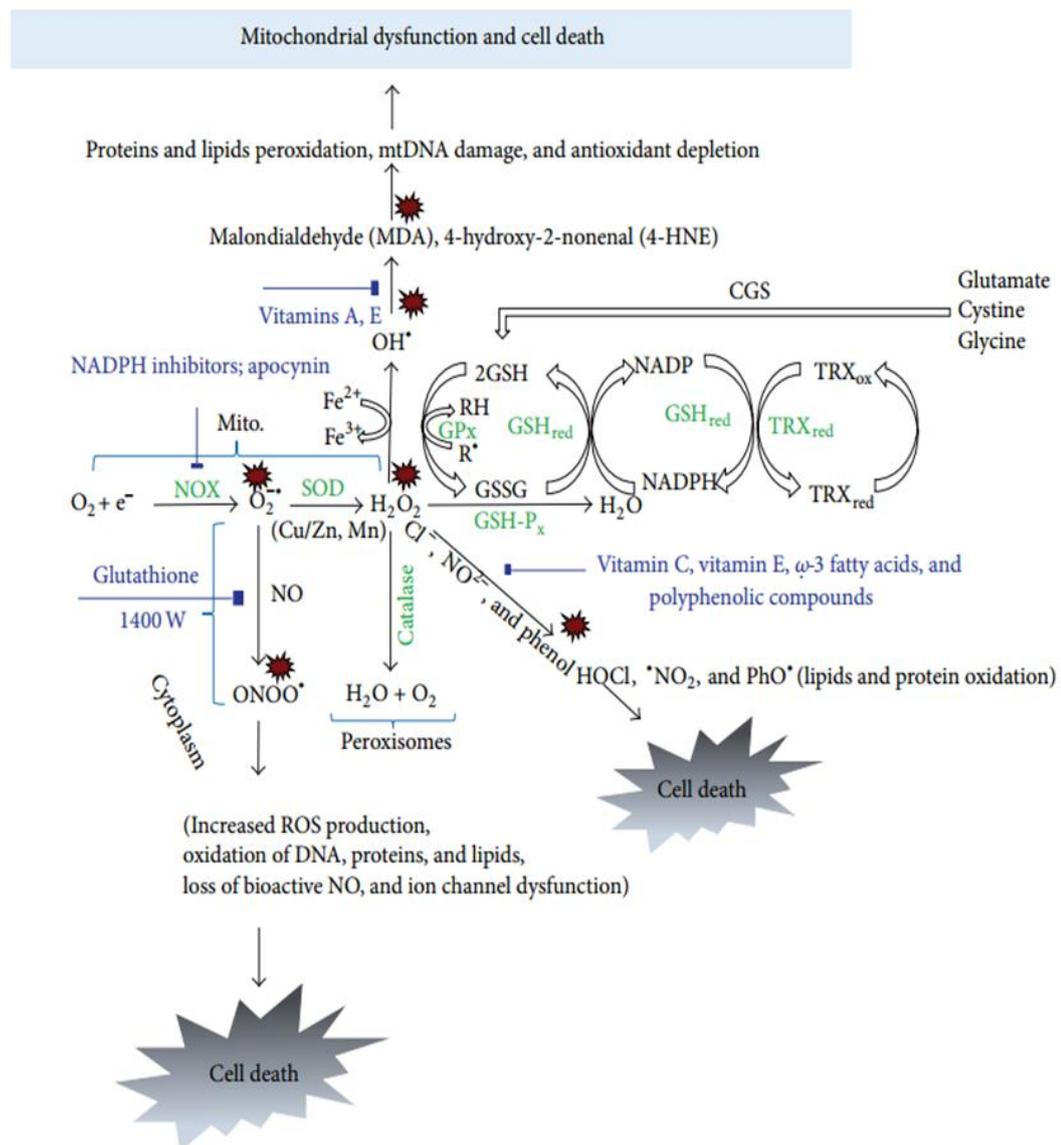
Los mecanismos de defensa que han desarrollado los organismos vivos implican mecanismos preventivos que previenen la formación de los radicales libres, mecanismos reparadores que son aquellos que reconocen el daño oxidativo y lo reparan, defensas fisiológicas y defensas antioxidantes.

Las defensas antioxidantes se pueden clasificar en función de su naturaleza como antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos y en función de su procedencia como antioxidantes endógenos y exógenos (Figura 15).

Las estrategias de los antioxidantes incluyen tres niveles de actuación: prevención, intercepción (secuestradores) y eliminación (Sies, 1993). Los mecanismos que previenen la formación de radicales libres como el radical OH<sup>·</sup>, son de naturaleza enzimática y constituyen la primera defensa del organismo frente a los ROS. Los secuestradores estabilizan los radicales libres, pueden ser endógenos (glutathione) o exógenos (vitaminas y polifenoles). La eliminación y/o reparación actúa cuando las biomoléculas ya han sufrido el daño eliminándolas o reparándolas (glicosilasas de ADN, las fosfolipasas y las proteasas).

Cuando se produce estrés oxidativo las células son capaces de inducir una respuesta adaptativa por parte del organismo. Por una parte habrá una activación de la defensa antioxidante mediante la activación de factores de transcripción o bien por la inducción inmediata de genes, dando lugar a la producción de las enzimas antioxidantes. Por otra parte habrá una represión del sistema productor de ROS, mediante la inhibición de la actividad mitocondrial fundamentalmente.

**Figura 15.** Esquema de producción de ROS y de los mecanismos de defensa antioxidante (Puttachary *et al.*, 2015).

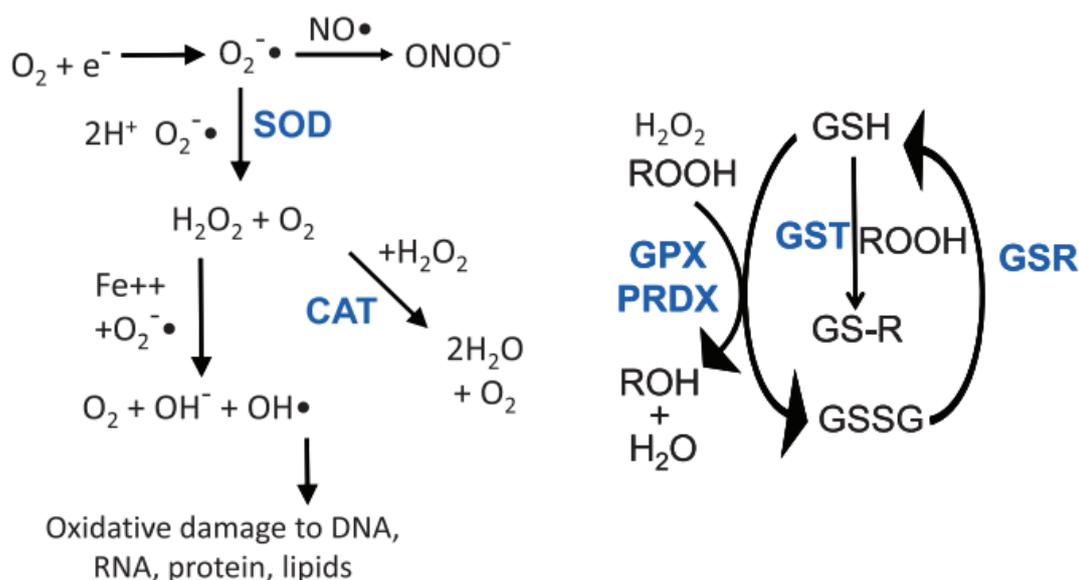


Pero si finalmente se produce el desequilibrio entre ROS y sistemas antioxidantes se puede condicionar la aparición de alteraciones funcionales y estructurales a cualquier nivel del organismo. Hay que tener en cuenta que las membranas biológicas son permeables a los oxidantes y sus metabolitos, lo que hace que el lugar del "ataque" oxidante pueda estar lejos del lugar donde se originan los ROS, y el lugar de la acción antioxidante pueda estar lejos de ambos.

### 1.6.1.1. Antioxidantes enzimáticos

Las células disponen de enzimas específicas para la neutralización de diversas especies reactivas, como son la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) (Figura 16). No obstante, las oxidorreductasas de grupos tioles y disulfuros, como el sistema tiorredoxina y la glutarredoxina, también han adquirido importancia en la prevención del estrés oxidativo celular.

**Figura 16.** Cómo se defiende la célula de los radicales libres (Devine *et al.*, 2012).

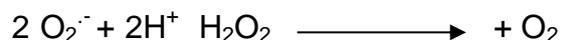


#### Superóxido dismutasa (SOD)

Fue la primera enzima en descubrirse por McCord y Fridovich en 1969. Está presente en todas las células que utilizan en su metabolismo el oxígeno y está ausente en las células anaerobias obligadas.

Constituye la primera defensa contra el radical superóxido, la cual lo transforma en peróxido de hidrógeno. Esto es así porque la función fisiológica

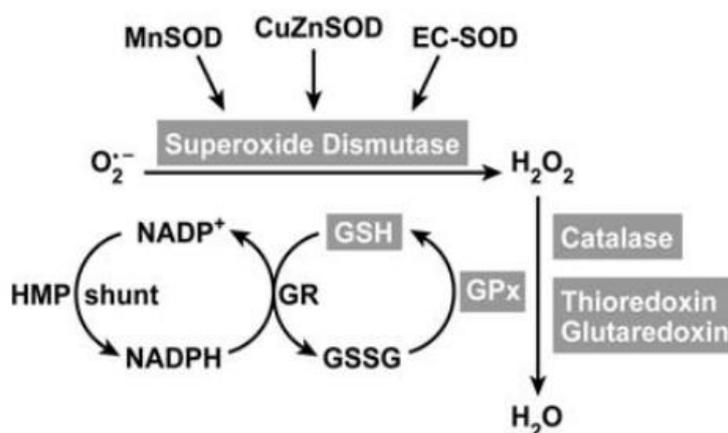
de la SOD es la eliminación de los radicales superóxido producidos en las reacciones del metabolismo aerobio.



La enzima superóxido dismutasa existe como una familia de metaloproteínas, existen otras tres isoenzimas, pertenecientes a la familia de las metaloproteínas, la CuZn-SOD, la Mn-SOD y la EC-SOD. La primera se localiza en el citosol, mientras que la segunda se ubica en la matriz mitocondrial, y la tercera, que también es una CuZn-SOD, es extracelular (Figuras 17).

**Figuras 17.** Isoenzimas de superóxido dismutasa (Kang and Kang, 2013; Comhair *et al.*, 2010).

Type	Structure	Distribution	Function
SOD1 (Cu, Zn SOD)	Homodimer; non-disulfide linked	Cytosol	Familial amyotrophic lateral sclerosis (ALS) by mutated SOD1 (Zhang <i>et al.</i> , 2007)
SOD2 (MnSOD)	Tetramer, contains a Mn ion bound to one aspartate and three histidine residues	Mitochondria	Protect mitochondria from ROS damage (Kokoszka <i>et al.</i> , 2001)
SOD3 (extracellular SOD;EC-SOD)	Tetramer composed of two disulfide-linked dimers	Extracellular space, ~10 fold higher in the vessel wall than in other tissues	Regulating the vascular redox state in extracellular space (van Deel <i>et al.</i> , 2008)



La concentración intracelular de la SOD citosólica es de 4-10 µM, mientras que la intramitocondrial es de 20 µM, aunque varía según los tejidos.

Glutation peroxidada (GPx)

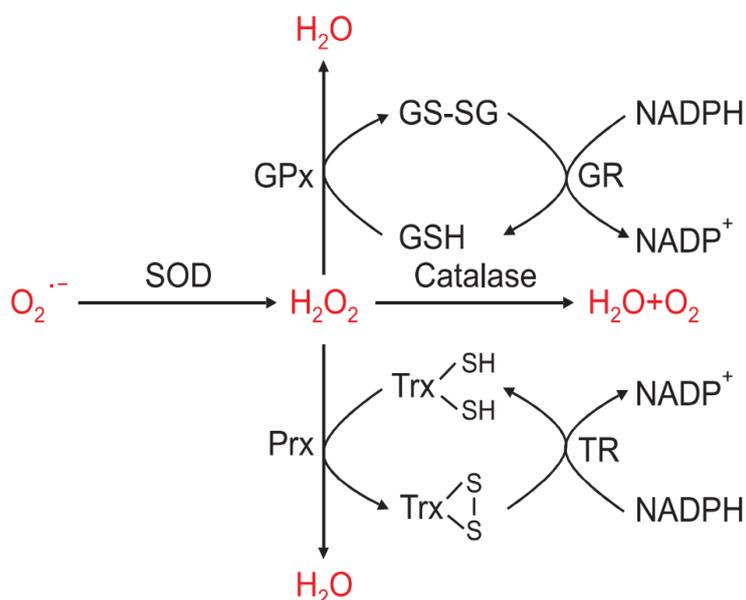
Existen dos tipos de glutathion peroxidasa, una independiente de selenio (glutathion-S-transferasa; GST EC 2.5.1.18) y otra que es selenio dependiente (GPx, EC 1.11.1.19). En humanos existen cinco glutathion peroxidasas dependientes de selenio (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 y GPx6) (Figura 18).

**Figura 18.** Isoenzimas de GPx (Kang and Kang, 2013).

Type	Structure	Distribution	Function
GPx1 (cytosolic GPx;cGPx)	Homotetramer; contains a single selenocysteine residue in each of four identical subunits	Abundant in cytosol of erythrocytes, kidney, liver or lung	Selenium-dependent, Ubiquitously distributed (Chu <i>et al.</i> , 2004)
GPx2 (gastrointestinal GPx; GI-GPx)	Homotetramer; selenocysteine at active site 40 of the protein sequence	Abundant in the epithelium of the whole gastrointestinal tract	Selenium-dependent (Yan and Chen, 2006)
GPx3 (plasma/extracellular GPx;pGPx)	A glycosylated homotetramer of 23 kDa subunits	The only extracellular isoform of GPxs; a secreted protein into blood plasma; also expressed in the kidney, lung, heart, placenta	Selenium-dependent, Extracellular peroxidase (Olson <i>et al.</i> , 2010)
GPx4 (phospholipid hydroperoxide GPx;PHGPx)	Monomer; selenocysteine at active site 73)	In most tissue both in cytosol and associated with membranes	Selenium-dependent, protect phospholipid, inactive structural capsule of epididymal spermatozoa (Imai and Nakagawa, 2003)
GPx5 (epididymal androgerelated protein or secretory GPx)	221 amino acids	In epididymis; secreted protein.	Selenium-independent (Vernet <i>et al.</i> , 1999)

Todas las enzimas añaden dos electrones a los peróxidos reducidos para formar selenoles (Se-OH). Las propiedades antioxidantes de las seleno enzimas permiten la eliminación de peróxidos como potenciales sustratos para la reacción de Fenton. Por tanto, esta enzima reduce el agua oxigenada o el hidroperóxido orgánico a agua y alcohol respectivamente, y para ello utiliza en ambos casos el glutathion reducido (GSH) como donante de electrones, el cual está presente en las células en altas concentraciones (Figura 19).

**Figura 19.** Sistemas enzimáticos celulares antioxidantes y actividad de la GPx (Kang and Kang, 2013).



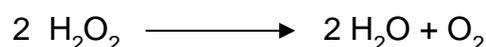
El selenio es fundamental para su actividad, de forma que el déficit de este elemento en la dieta produce una drástica disminución de la glutatión peroxidasa en todos los tejidos. Es responsable de la eliminación del peróxido de hidrógeno en lugares con baja concentración de catalasa o sin ella, encontrándose por tanto en el citosol, en la matriz mitocondrial así como en la membrana celular, mientras que la catalasa es más abundante en microsomas, peroxisomas y núcleo celular. En este sentido, la GPx1, ampliamente expresada y distribuida, es el mayor “secuestrador” de  $H_2O_2$  y de hidroperóxidos lipídicos. Por otra parte, la GPx2 está altamente expresada en el tracto gastrointestinal, mientras que la GPx6, recién descubierta, está localizada fundamentalmente en la mucosa olfatoria y en tejidos embrionarios. La GPx3 está localizada a nivel extracelular, y la GPx4, presente a nivel citosólico, nuclear y mitocondrial es la mayor responsable de prevenir la oxidación de los fosfolípidos de la membrana celular.

Esto hace ser a las GPx un importante mecanismo de protección celular contra el daño oxidativo producido a lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos.

### Catalasa (CAT)

La enzima catalasa (EC. 1.11.1.6) se encuentra en las células aeróbicas localizada en los peroxisomas. Es un tetrámero de un peso molecular de 240 KDa con un cofactor férrico que debe estar unido al sitio activo de la enzima.

Presenta dos tipos de actividad, actividad catalasa, facilitando la descomposición del peróxido de hidrógeno para dar agua y oxígeno, y actividad peroxidasa, que supone oxidación de dadores de hidrogeniones como el metanol, etanol, ácido fórmico o fenoles, con el consiguiente consumo de peróxido.

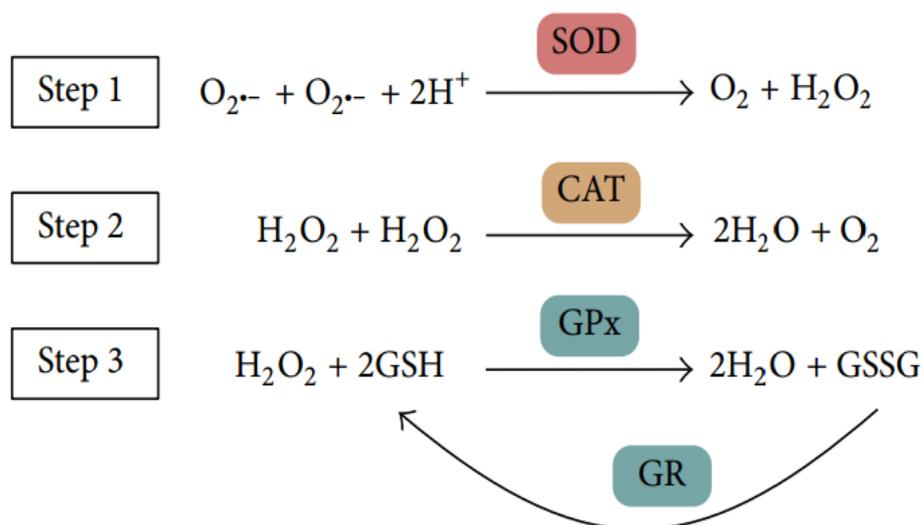


Aunque realiza la misma función que la glutatión peroxidasa (GPx), ésta última tiene mayor afinidad por el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , es decir, a bajas concentraciones, la GPx juega un papel más importante que la catalasa.

### Eficacia de la triada enzimática: SOD, Catalasa y GPx

La eficacia de esta triada enzimática reside en una triple acción defensiva que disminuye la producción de estas especies oxigénicas, impide la interacción de éstas entre sí, evitando dar lugar a especies de mayor reactividad, e impide la peroxidación de las macromoléculas (Figura 20).

La acción de las 3 enzimas es vital para el funcionamiento normal de la célula y para el estatus antioxidante de las células de los mamíferos. Aquello que interfiere con el balance de estas tres enzimas trabajando cooperativamente, resulta en un desequilibrio prooxidante/antioxidante que favorece la producción de ROS y de daño celular. El mantenimiento de estas actividades enzimáticas será por lo tanto requisito imprescindible para el desarrollo de los organismos y la lucha contra el estrés oxidativo.

**Figura 20.** Mecanismo de acción de la triada enzimática (Peng *et al.*, 2014).

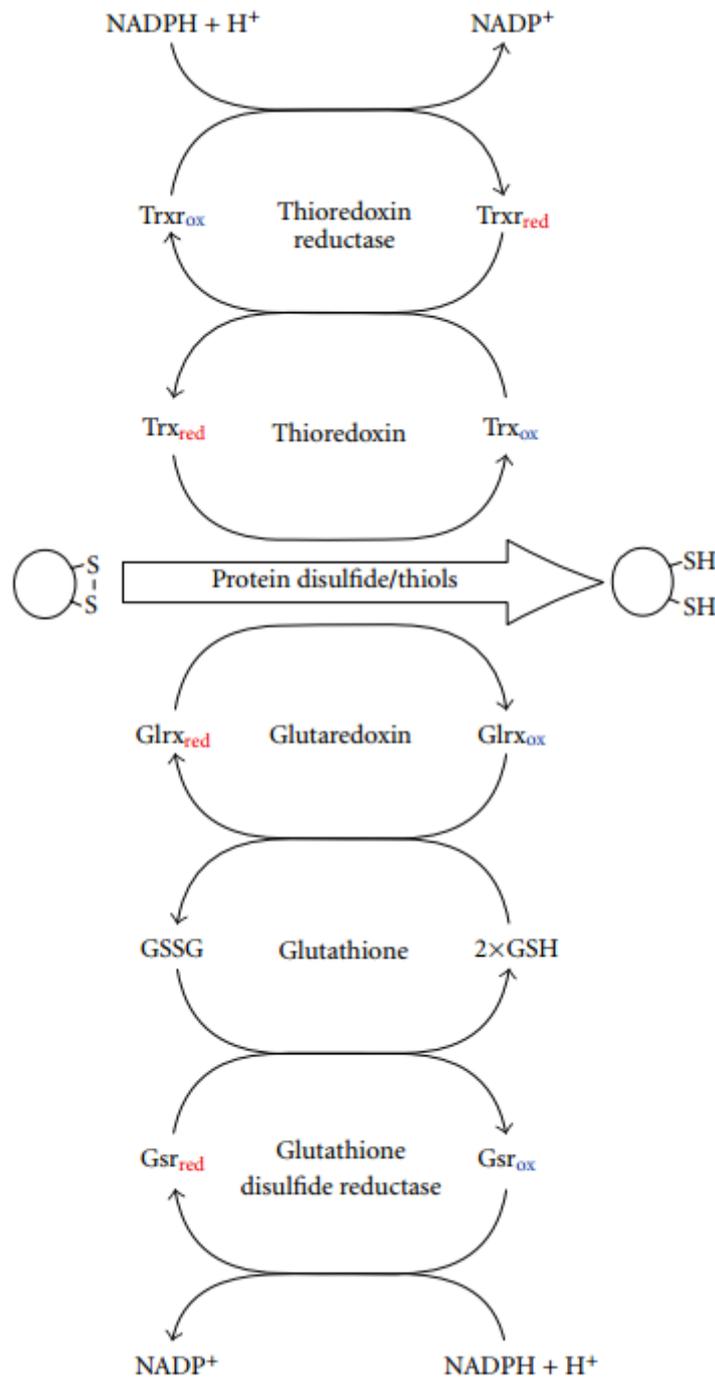
La SOD es la responsable de la reacción de dismutación del  $O_2^{\bullet-}$  a  $H_2O_2$ , que en una reacción posterior catalizada por la catalasa o la glutatión peroxidasa (GPx) detoxificará formando  $H_2O$  y  $O_2$ . La catalasa se encuentra principalmente en los peroxisomas, y su principal función es eliminar el  $H_2O_2$  generado en la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos, mientras que la glutatión peroxidasa degradará el  $H_2O_2$  citoplasmático (Trachootham *et al.*, 2008).

### Tiorredoxina (Trx)

El sistema antioxidante tiorredoxina es uno de los mayores sistemas de control redox que existe tanto a nivel de citoplasma celular como a nivel mitocondrial, siendo su estructura y funcionalidad en ambas localizaciones muy similar.

El sistema antioxidante de tiorredoxina está compuesto por la tiorredoxina y la tiorredoxina reductasa. La tiorredoxina es una óxidoreductasa que cataliza la reducción de puentes disulfuro, con lo que juega un papel importante en la regulación del estado redox de los tioles de las proteínas (Nakamura *et al.*, 1997) (Figura 21).

**Figura 21.** Sistemas de regulación redox de tiorredoxina y glutatión (Johnston and Ebert, 2012).



La tiorredoxina posee una secuencia de aminoácidos en el sitio catalítico que incluye dos residuos de cisteína. Éstos pueden ser oxidados reversiblemente formando un puente disulfuro, el cual puede ser a su vez reducido por la tiorredoxina reductasa en presencia de NADPH.

De esta forma, la tioredoxina interviene en la reparación de proteínas con grupos sulfhidrilo. En concreto, el sistema de la tioredoxina está implicado en la prevención de la oxidación y/o reparación de algunas enzimas metabólicas como la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa, la fosfofructoquinasa, la fosfoglicerato quinasa y la piruvato quinasa. La tioredoxina reductasa es capaz además de regenerar el ascorbato, el cual es un antioxidante no enzimático de gran importancia.

Por su parte, la tioredoxina peroxidasa es una enzima citosólica capaz de transformar el  $H_2O_2$  y los alquilhidroperóxidos en agua y alcohol, así como de limpiar los radicales tiilo de las células.

De esta forma, la tioredoxina, a través de mecanismos de regulación redox posee control sobre factores de transcripción que intervienen en la proliferación y muerte celular, interviniendo en la regulación de factores como el gen p53 (el cual controla la expresión de genes apoptóticos) y el NF- $\kappa$ B.

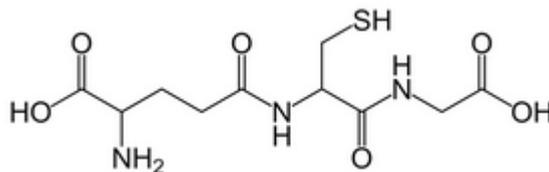
### **1.6.1.2. Antioxidantes no enzimáticos**

#### **1.6.1.2.1. Antioxidantes endógenos**

Se agrupan en diversos tipos de moléculas, cuya acción defensiva dependerá, en algunos casos, de una interacción directa sobre la especie reactiva para rendir complejos estables o de menor reactividad, siendo por tanto, componentes que reaccionan directamente con agentes oxidantes y los inutilizan. A tales antioxidantes se les conoce como “scavengers”, y su papel es suicida. En otras ocasiones, los antioxidantes actúan como moléculas coenzimáticas en la acción catalítica de algunas enzimas.

## Glutation (GSH)

El glutatión reducido (GSH) es la fuente más abundante de tioles no proteicos en las células (más del 90%), siendo el antioxidante celular no enzimático más importante. El GSH es el tripéptido gamma-glutamil-cisteinilglicina.



Además de ser un antioxidante endógeno también es exógeno ya que el GSH en la dieta puede ser absorbido parcialmente desde el intestino delgado.

La síntesis y degradación del GSH forma el ciclo del gamma-glutamilo. El GSH es sintetizado en el hígado por la acción de dos enzimas, gamma-glutamil cisteína sintetasa y la glutatión sintetasa y una vez formado es transportado a los tejidos a través de la sangre.

Una de las funciones antioxidantes más importantes del GSH es la eliminación del peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos en la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa (GPx), en la que dos moléculas de GSH donan dos átomos de hidrógeno para dar lugar a glutatión oxidado (GSSG), el cual posteriormente es reducido por la glutatión reductasa (GR) para restaurar el GSH. De esta forma, la concentración de GSSG en la célula se mantiene a niveles muy bajos (Figura 15 y 17).

El GSH también está implicado en la reducción de varios antioxidantes celulares, como por ejemplo el radical vitamina E y el radical semidehidroascorbato (radical de la vitamina C).

Además, el GSH está implicado en la síntesis del DNA, entre otras funciones para contribuir al mantenimiento del estado redox celular.

La concentración de GSH en plasma refleja los niveles en los tejidos, así una disminución en plasma de los niveles de GSH pueden ser un indicador de un

estado patológico (Wlodek *et al.*, 2006). El fallo renal es un estado patológico caracterizado por la aceleración de procesos peroxidativos que llevan a alteraciones en los tioles plasmáticos.

### **1.6.1.2.2. Antioxidantes presentes en el plasma**

Los antioxidantes fundamentales presentes en el plasma son: ácido úrico, bilirrubina, ascorbato, ceruloplasmina y ferritina.

#### Ácido Úrico

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas en el ser humano y otros primates, ya que carecen de la enzima uricasa, la cual hace que continúe la degradación hasta alantoína y urea. Como consecuencia de lo anterior, el ser humano presenta una concentración plasmática de ácido úrico más de diez veces superior a la encontrada en la mayoría de los mamíferos. El anión monovalente urato es la forma en que se encuentra más del 99% del ácido úrico a pH fisiológico.

La dieta puede ser una importante fuente de ácido úrico, ya que la ingestión de purinas hace que éstas sean transformadas en ácido úrico por la xantina oxidorreductasa presente en la mucosa intestinal, de forma que las purinas ingeridas no aparecen en sangre, sino su derivado el ácido úrico.

Es por todo lo anterior por lo que el ácido úrico no parece que sea simplemente un producto de desecho de una vía metabólica, si no todo lo contrario, ya que puede funcionar como un antioxidante suicida clásico y como quelante de metales de transición. Por su unión al hierro y/o cobre, el ácido úrico puede inhibir las reacciones de oxidación catalizadas por metales sin que llegue a ser oxidado. El urato es un eficaz eliminador de derivados del oxígeno muy reactivos y perjudiciales como el radical hidroxilo y el superóxido e intermediarios oxigenados del hemo. El urato es tan eficaz como el ascorbato

como antioxidante. Es de interés que más del 30% de la capacidad antioxidante del plasma del hombre se debe al ácido úrico.

### Bilirrubina

La bilirrubina es un tetrapirrol lineal (unido a la albúmina) y producto final de la degradación del grupo hemo. Es un antioxidante liposoluble y por tanto capaz de inhibir la lipoperoxidación. Se le considera de gran importancia fisiológica como antioxidante, sobre todo en el recién nacido en los que se ha visto que la hiperbilirrubinemia neonatal reduce el daño oxidativo producido por la hiperoxia. Como antioxidante, la bilirrubina rivaliza en las membranas con la vitamina E. Se oxida a biliverdina al captar radicales hidroperóxido y éste finalmente se reduce para dar la bilirrubina.

Algunos productos finales de las vías metabólicas degradativas, como el urato y la bilirrubina, han evolucionado para ejercer una acción beneficiosa en el organismo.

### Proteínas secuestradoras de metales: Ferritina, ceruloplasmina y albúmina

Recordar que metales de transición como el hierro y el cobre implican autooxidaciones y reacciones que conllevan la producción del radical hidroxilo desde el superóxido, por eso es importante el papel de proteínas quelantes de metales como antioxidantes preventivas, contribuyendo significativamente en la capacidad antioxidante de los fluidos corporales.

### Ceruloplasmina

Es una proteína que une el cobre en el plasma jugando un papel importante como barrera en la generación de ROS en el flujo sanguíneo y actuando por tanto como antioxidante. Su actividad bloquea el daño de oxidación a lípidos, a proteínas y DNA, eliminando intermediarios reactivos como el peróxido de hidrógeno.

Ferritina

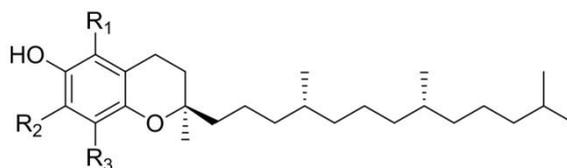
Es la proteína de almacenamiento del hierro en los mamíferos, actuando como antioxidante al prevenir la reacción de Fenton. Juega un papel muy importante como antioxidante citoprotector del endotelio y protege del daño oxidativo mediado por fagocitos.

Albúmina

Desempeñaría un papel en este contexto por su alta capacidad para transportar cobre.

**1.6.1.2.3. Antioxidantes exógenos**Vitamina E

La vitamina E es el antioxidante más abundante en la naturaleza. El término vitamina E aglutina al menos ocho isómeros estructurales de tocoferoles y tocotrienoles. Entre ellos, el  $\alpha$ -tocoferol es el más estudiado y el que tiene mayor actividad antioxidante.



$\alpha$ -tocoferol:  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$   
 $\beta$ -tocoferol:  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$   
 $\gamma$ -tocoferol:  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$   
 $\delta$ -tocoferol:  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$

Debido a su alta liposolubilidad, la vitamina E se asocia a membranas ricas en lípidos, como la membrana mitocondrial, la del retículo plasmático o la membrana plasmática, protegiéndolas frente a la oxidación. Aunque habitualmente la cantidad de vitamina E en las membranas es baja, la suplementación dietética puede aumentar su contenido.

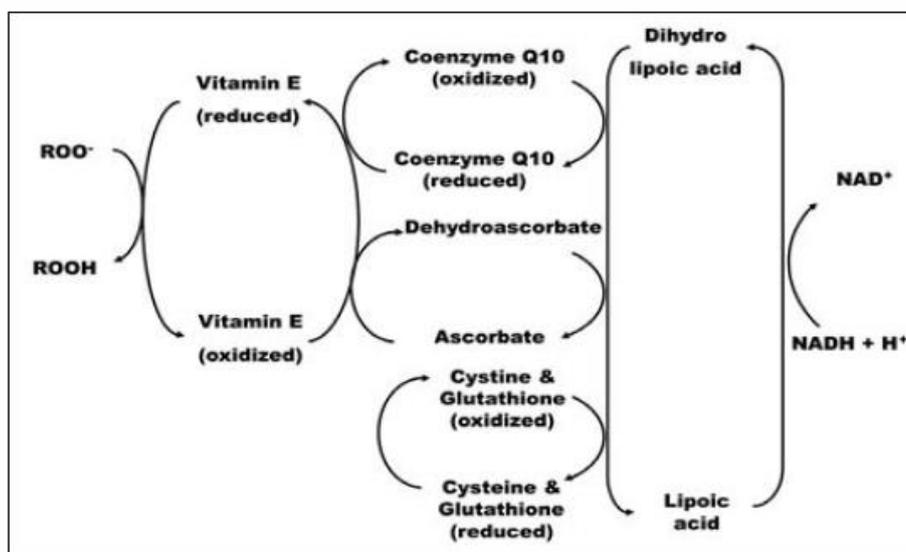
Es considerado el principal antioxidante secuestrador de radicales lipofílicos *in vivo* (Pryor *et al.*, 2000). La acción antioxidante de la vitamina E reside en su capacidad para neutralizar los radicales superóxido, hidroxilo y lipoperoxilo a formas menos reactivas, además de ser capaz de romper la reacción en cadena de lipoperoxidación que ocurre en el daño oxidativo a las membranas.

Su acción antioxidante viene dada por el grupo fenólico en posición 6, de forma que el hidrógeno del grupo oxidrilo reacciona con los radicales. El grupo -OH del anillo aromático de la vitamina puede experimentar reacciones de oxidación perdiendo bien un electrón o un ión hidruro, en este caso la vitamina se convierte en un radical libre relativamente estable que posteriormente puede sufrir una reacción de oxidación que convierte el anillo central en un núcleo quinónico.

Así, la vitamina E se oxida y se inutiliza, haciéndose incapaz de llevar a cabo posteriores efectos antioxidantes y junto con otros metabolitos se elimina por la orina.

Sin embargo, por su parte el radical vitamina E es reciclado a vitamina E a costa de diversos antioxidantes, como el glutatión o el ascorbato y esto es muy importante, ya que regenera o ahorra vitamina E y también reduce el carácter prooxidante del radical de vitamina E (Figura 22) (Abudu *et al.*, 2004).

**Figura 22.** Mecanismo de acción de la vitamina E (Vasdev *et al.*, 2006).



Una dieta deficiente de vitamina E está relacionado con una reducción de la actividad de catalasa hepática, GSH peroxidasa, y glutathion reductasa, induce la peroxidación lipídica en hígado y causa desordenes cardiovasculares y neurológico (Carr and Frei, 2000).

### Ascorbato (ácido ascórbico o vitamina C)

La vitamina C o ácido ascórbico se considera uno de los antioxidantes naturales más efectivos y menos tóxicos, y es el antioxidante extracelular más importante.

Es una vitamina hidrosoluble, y al contrario que la vitamina E, funciona mejor en medios acuosos. A pH fisiológico la forma predominante es el anión ascorbato, estando presente en todos los tejidos, pero es especialmente abundante en el tejido adrenal.

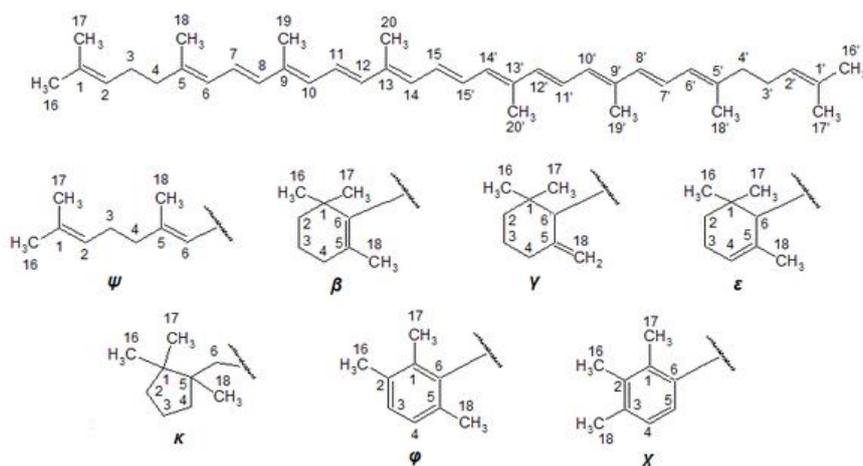
La vitamina C como antioxidante tiene una doble importancia. En primer lugar como agente antioxidante capaz de neutralizar los radicales superóxido, hidroxilo, oxígeno singlete y lipohidroperóxido (Hemila and Wikstrom). Sin embargo, no es buen antioxidante frente al peróxido de hidrógeno, potenciando de hecho su generación mediante la inhibición de la catalasa. En segundo lugar, como agente fundamental en la regeneración de la vitamina E (Machlin and Bendich, 1987) y el urato. Al reciclar la vitamina E, se consume el ascorbato pasando a radical ascorbato, el cual puede ser a su vez reciclado por la NADH semiascorbil reductasa o por tioles celulares como el glutathion o el ácido dihidrolipoico.

El incremento de los niveles celulares de vitamina C aumenta la protección contra los radicales libres, sin embargo, en concentraciones altas, la vitamina C tiene un efecto prooxidante en presencia de metales de transición como el  $\text{Fe}^{3+}$  o el  $\text{Cu}^{2+}$ . La acción prooxidante de la vitamina C reside en su capacidad para reducir el hierro férrico o ferroso, el cual es un potente inductor de radicales, por lo que la utilización de megadosis de vitamina C ha sido cuestionada por algunos autores.

## Carotenoides

Los carotenos son un conjunto de pigmentos aislados de plantas y algunos de ellos como el alfa, beta y gamma carotenos son precursores de la vitamina A.

Son antioxidantes liposolubles situados principalmente en las membranas. Las propiedades antioxidantes de los carotenoides residen en su estructura, formada por largas cadenas de dobles enlaces conjugados. El carotenoide es modificado químicamente en esta interacción y los productos resultantes son antioxidantes menos activos. Esta disposición permite neutralizar diversos ROS, incluido el radical superóxido y radicales peroxilo. De hecho, los carotenoides son capaces de reducir la peroxidación lipídica provocada por los radicales libres (Young and Lowe, 2001).



El más frecuente e importante es el  $\beta$ -caroteno, que posee actividad antioxidante y se ha descrito como el más importante neutralizador del oxígeno singlete aislado de la naturaleza.

## Ácido $\alpha$ -lipoico

Se considera un antioxidante ideal o universal, que es absorbido por la dieta y es antioxidante frente a un elevado número de radicales libres en medios lipídicos y acuosos y puede ejercer su actividad mediante la capacidad de quelar metales de transición.

Tras la ingesta el ácido  $\alpha$ -lipoico se reduce a ácido dihidrolipoico (DHLA), el cual es un potente antioxidante contra los radicales más importantes, además de participar en el reciclaje de la vitamina C, proceso por el que el DHLA es convertido en ácido  $\alpha$ -lipoico (Packer, 1994).

### Polifenoles

Los compuestos polifenólicos constituyen uno de los grupos más importantes de metabolitos de origen vegetal presentes en la dieta. Dentro de los polifenoles, los flavonoides constituyen el grupo más importante, descritos más de 4.000 compuestos y divididos en 13 clases. Todos ellos tienen en común una parte de estructura difenilpropano consistente en dos anillos aromáticos unidos a través de tres átomos de carbono formando un heterociclo oxigenado.

De unos años a esta parte ha aumentado grandemente el interés por este tipo de compuestos, particularmente por los flavonoides, debido a que su capacidad antioxidante proporciona efectos beneficiosos en la salud, destacando su papel en el tratamiento y prevención del cáncer así como en desordenes cardiovasculares y neurodegenerativos (Schroeter *et al.*, 2002; Rice-Evans *et al.*, 1996).

Su actividad antioxidante resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de metales de transición y secuestradoras de radicales libres. Esta capacidad antioxidante está relacionada con la rápida donación de un átomo de hidrógeno al radical libre, formándose un compuesto intermedio fenoxi radical.

No obstante, bajo determinadas condiciones, como por ejemplo una elevada concentración de polifenoles, la presencia de metales redox como cobre y hierro y un elevado pH, puede hacer que se comporten como agentes pro-oxidantes.

Tanto la naturaleza como la posición de los sustituyentes, así como el número de grupos hidroxilos que conforman la estructura del polifenol, condicionan si a nivel fisiológico actuará como un antioxidante o como un modulador de la actividad enzimática o si por el contrario poseerá propiedades antimutagénicas o citotóxicas (Galati and O'Brien, 2004).

Por otra parte, además cabe destacar el papel de los polifenoles inhibiendo enzimas tales como oxidasas, lipooxigenasas, ciclooxigenasas, mieloperoxidasas, NADPH oxidasas y xantina oxidasas, evitando así la generación de especies reactivas del oxígeno *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos (Rivero et al., 2005).

Se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2, al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa y la superóxido dismutasa. De esta forma los polifenoles interfieren en las reacciones de propagación de radicales libres y en la formación del radical en sí.

### **1.7. EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO**

La determinación del estrés oxidativo medido como los niveles del estado antioxidante y del daño oxidativo es esencial para poder valorar la implicación de éste en la enfermedad renal crónica en hemodiálisis. Asimismo, sería importante encontrar nuevos y fiables marcadores que pudieran proporcionar información precoz sobre el diagnóstico y evolución de la enfermedad.

Existen múltiples sustratos de oxidación y son también múltiples los efectos de las defensas antioxidantes, poniendo esto en evidencia que la evaluación del estrés oxidativo debe ser abordada desde diversos puntos de vista que permitan ofrecer una imagen más global y completa de todos los aspectos implicados en ese mecanismo defensivo. Por lo tanto, con un sólo método de medida no se puede obtener toda la información deseada y se requiere un ensayo múltiple para generar un perfil que comprenda el estado de la defensa antioxidante como la del daño oxidativo (Hermans *et al.*, 2007).

#### **1.7.1. Capacidad Antioxidante Total**

La finalidad es medir el potencial antioxidante total de una muestra biológica como el plasma. Se medirá la contribución de todos los compuestos presentes en el plasma. La captación de radicales es el principal mecanismo de acción de

los antioxidantes, lo que ha permitido desarrollar métodos en los que se mide la capacidad antioxidante a través de la estabilización de radicales libres sintéticos generados en medios acuosos o solventes orgánicos polares, como el metanol.

Aunque existen distintos métodos, los más utilizados son el ABTS y el FRAP. El ensayo del ABTS se basa en la capacidad antioxidante del plasma para estabilizar el radical  $ABTS^{\cdot+}$  (Miller and Rice-Evans, 1997). Se inicia la reacción por adición de radicales peroxilo u otros oxidantes que generan el radical catión  $ABTS^+$ , producto intensamente coloreado.

El método del FRAP se fundamenta en la capacidad del plasma de reducir un compuesto de hierro (III) mediante compuestos antioxidantes formándose un complejo fuertemente coloreado (Benzie and Strain, 1996).

Los polifenoles son compuestos con una elevada actividad antioxidante, tanto por sus propiedades quelantes como su capacidad secuestradora de radicales libres, se determinan mediante el procedimiento de Folin-Ciocalteau (Singleton and Esau, 1969), de forma que los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteau formándose un compuesto para su posterior determinación espectrofotométrica.

### **1.7.2. Evaluación de los biomarcadores de estrés oxidativo**

Los biomarcadores han sido usados para evaluar la eficacia antioxidante *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, y aportan información del daño a proteínas, aminoácidos, lípidos o bases de DNA, el cual está relacionado con enfermedades específicas.

Conocer la implicación de los radicales libres en la patogénesis de distintas enfermedades es extremadamente difícil, debido a la corta vida media de estas especies y a la dificultad de técnicas suficientemente sensibles como para detectar los radicales directamente en sistemas biológicos, por ello se hace necesario el estudio de biomarcadores que suponen un reflejo de los cambios que se producen en sistemas biológicos debidos al estrés oxidativo. Un

biomarcador tiene que ser el principal producto de modificación oxidativa que pueda estar implicado directamente en el desarrollo de una enfermedad, un producto estable y no susceptible a modificaciones durante el ensayo. Además tiene que ser medido por un ensayo que sea específico, sensible, reproducible y robusto.

Además de la medida de diversos biomarcadores, se ha puesto a punto un protocolo para determinar nitrato y nitrito como indicadores de niveles de óxido nítrico, especie altamente inestable y por tanto difícilmente cuantificable, pero con un importante papel en la señalización molecular de determinados procesos biológicos. En el medio extracelular, el óxido nítrico reacciona con oxígeno y agua formando los aniones nitrato y nitrito. El procedimiento para su cuantificación se basa en la determinación colorimétrica de los nitritos con el reactivo de Griess, antes y después de la conversión del nitrato a nitrito por la nitrato reductasa de *Aspergillus* (Moshage *et al.*, 1995).

### **1.7.2.1. Biomarcadores de la oxidación a lípidos**

La medida directa de los productos de la oxidación endógena de los lípidos resulta difícil, por lo que se han desarrollado diferentes métodos que evalúan este daño a través de la determinación de las moléculas que lo causan o bien miden los niveles de productos secundarios de oxidación como aldehídos o cetonas. El más ampliamente usado es el que mide el malondialdehído (MDA) en presencia de ácido tiobarbitúrico. La medida puede realizarse espectrofotométricamente o por fluorescencia (Grotto *et al.*, 2007).

En cuanto a una de las especies reactivas que causan daño a lípidos cabe destacar los hidroperóxidos, como indicador de las especies reactivas generadoras de daño a estas biomoléculas. El procedimiento para su determinación se basa en la oxidación del ión ferroso por los hidroperóxidos lipídicos presentes en plasma y su cuantificación espectrofotométrica posterior mediante un ensayo colorimétrico acoplado (Nourooz-Zadeh *et al.*, 1994).

### **1.7.2.2. Biomarcadores de la oxidación a proteínas**

La oxidación proteica se define como una modificación covalente de una proteína inducida por especies reactivas. Los cambios oxidativos en proteínas pueden comportar diversas consecuencias en su función, como la inhibición de la actividad enzimática, un incremento de la susceptibilidad a la agregación y proteólisis, un aumento o disminución de la captación celular y una alteración de la inmunogénesis.

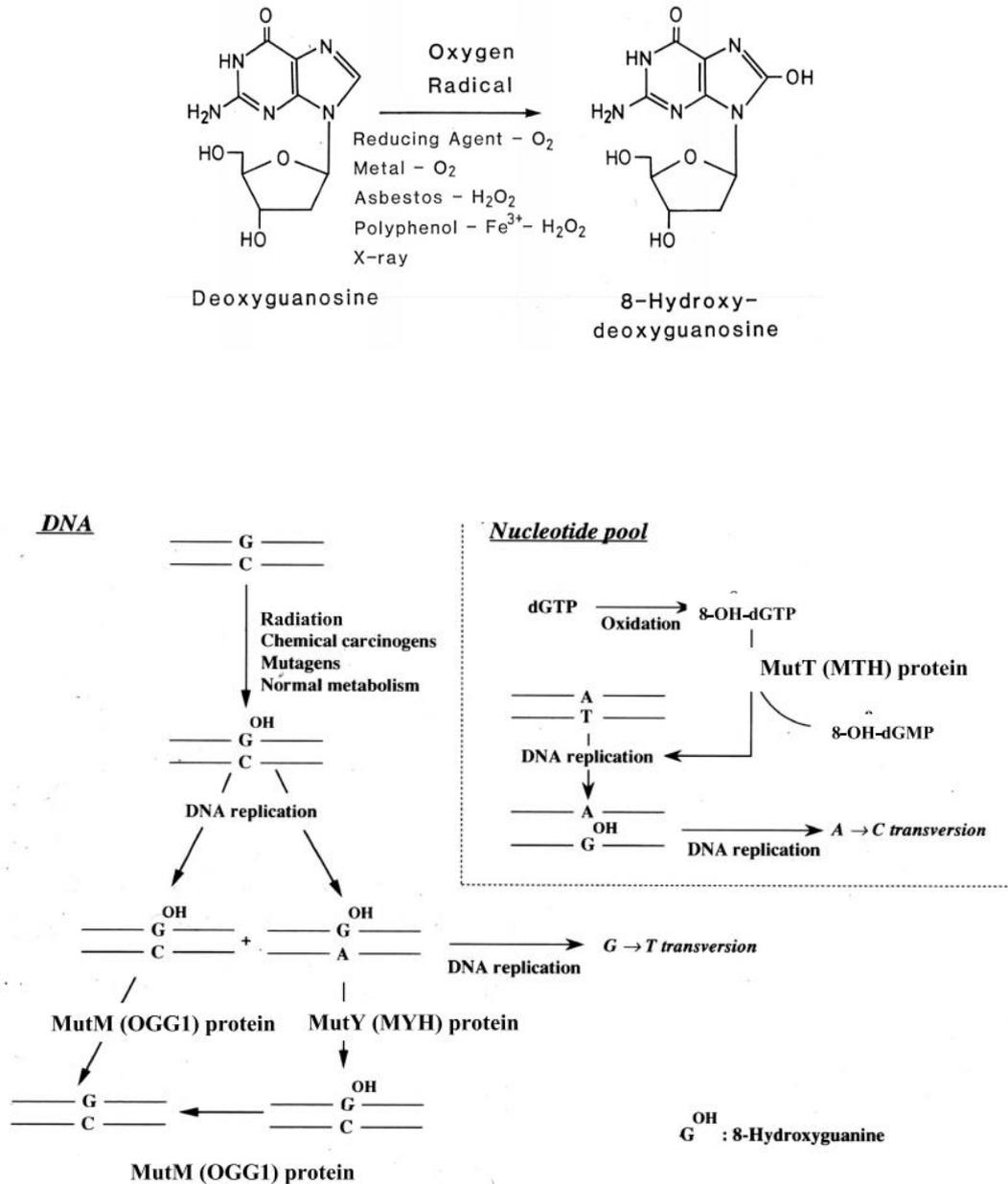
Esta oxidación origina la oxidación de los grupos sulfidrilo, de aminoácidos como la metionina y cisteína que ven totalmente anulada su actividad biológica. La oxidación de proteínas ha sido asociada con el envejecimiento y la severidad de algunas patologías.

El más utilizado como biomarcador del daño oxidativo a proteínas es la cuantificación de grupos carbonilo, donde además sus niveles están asociados con distintas patologías (Berlett and Stadtman, 1997). Estos grupos son producidos sobre las cadenas laterales de las proteínas cuando están oxidadas, dando lugar a grupos químicos estables que son fácilmente detectables. Para ello se derivatizan con el NDPH (2,4-dinitrofenilhidrazina) que lleva a la formación de un derivado que puede ser detectado por distintos métodos como ELISA, Western-Blot o por técnicas de HPLC o espectrofotometría a 373 nm de longitud de onda (Levine *et al.*, 1990).

### **1.7.2.3. Biomarcadores del daño al DNA**

El DNA en el núcleo celular es un componente particularmente susceptible al daño oxidativo por los ROS. El radical hidroxilo es responsable de la oxidación de bases púricas y pirimidínicas, entre ellas la desoxiguanina (dG), generando la base modificada 8-hidroxi-desoxiguanina (8-OHdG) (Figuras 23).

**Figuras 23.** Formación de la 8-hidroxi-desoxiguanina (8-OHdG) (Nishimura, 2006).



La relación de concentraciones entre 8-OHdG/dG, se considera un marcador por excelencia del estado de daño oxidativo causado por los radicales libres sobre el DNA. Las técnicas aplicadas para la cuantificación de esta base modificada pueden ser por HPLC utilizando detector electroquímico o por cromatografía de gases-masas (GC-MS).

### 1.7.3. Evaluación del estado redox

En los sistemas biológicos se establece un dinámico equilibrio entre la producción de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y una amplia variedad de especies que se encargan de su neutralización, denominado estado redox.

Como indicadores del estado redox celular cabe destacar el sistema antioxidante tiorredoxina, siendo uno de los mayores sistemas de control redox que existe tanto a nivel de citoplasma celular como a nivel mitocondrial. Para su determinación se valora por una parte, la actividad tiorredoxina reductasa, mediante un ensayo acoplado y cuantificación espectrofotométrica de una especie colorimétrica que se correlaciona con la actividad enzimática (Holmgren and Bjornstedt, 1995), y por otra parte, se determina la tiorredoxina, a través de un kit de ELISA (Kogaki *et al.*, 1996).

El glutatión se presenta como el antioxidante celular no enzimático más importante, y por tanto, también es un indicador del estado redox. La determinación de este tripéptido se realiza mediante la cuantificación espectrofotométrica del complejo formado por el glutatión y el clorodinitrobenzenu mediante catálisis de la enzima glutatión-S-transferasa (Brigelius *et al.*, 1983).



## ***HIPÓTESIS DE TRABAJO***



## **2. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

Los datos revisados nos indican, en su conjunto, la influencia de la diálisis en la enfermedad renal crónica (ERC) y los mecanismos que promueven la aparición de las complicaciones asociadas a esta enfermedad. El estrés oxidativo está implicado, de una forma u otra, en la mayoría de estos factores y si, este estrés oxidativo es la causa inicial o un factor secundario que contribuye (durante el proceso de diálisis) al desarrollo de las complicaciones, como la malnutrición y aumento de riesgo cardiovascular, en pacientes con enfermedad renal es todavía materia de discusión.

### **2.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La hemodiafiltración online (HDF-OL) es una técnica dialítica que consigue mayor aclaramiento de pequeñas y especialmente grandes moléculas. Lo que queremos demostrar es que supondrá mayor depuración de mediadores inflamatorios que otras técnicas dialíticas, mejorando así el perfil de inflamación-nutrición del paciente, con las consecuentes ventajas sobre la morbimortalidad de nuestros pacientes.

Si se confirma esta teoría, habría que valorar la posibilidad de un uso más generalizado de este tipo de técnica, dadas las consecuencias que tienen para estos pacientes, la exposición a un alto estrés oxidativo durante el proceso dialítico y que económicamente es similar a las técnicas de hemodiálisis convencional.

### **2.2. OBJETIVOS**

El objetivo general del presente trabajo fué evaluar en una población de pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5D, en tratamiento con hemodiálisis periódica, la influencia que sobre el estrés oxidativo y sobre el estado nutricional de estos pacientes, tiene el empleo de la técnica dialítica con hemodiafiltración online comparado con la hemodiálisis convencional con una membrana de alto flujo.

Este objetivo general se realizó a través de la realización de los siguientes objetivos parciales:

1. Analizar las características poblacionales de los grupos de pacientes con ERC estadio 5D seleccionadas para su inclusión en los tratamientos dialíticos.
2. Analizar la capacidad antioxidante total y la actividad antioxidante no enzimática y de los biomarcadores del daño oxidativo en plasma de enfermos con ERC estadio 5D.
3. Evaluar la generación de estrés oxidativo a lo largo de una sesión de diálisis con hemodiafiltración online y en la hemodiálisis convencional con una membrana de alto flujo.
4. Evaluar la evolución de parámetros nutricionales, capacidad antioxidante y biomarcadores de daño oxidativo en hemodiafiltración online y en la hemodiálisis convencional con una membrana de alto flujo, al inicio de la selección de pacientes y a los 3, 6, 9 y 12 meses del estudio.
5. Evaluar los niveles de quinurenina, marcador de la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), como biomarcador inflamatorio en el síndrome urémico, durante el tratamiento con hemodiafiltración online y hemodiálisis convencional de alto flujo.

## ***MATERIAL Y MÉTODOS***



### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL

Los diferentes reactivos utilizados en las determinaciones analíticas, así como su procedencia, serán reseñados en el apartado correspondiente a cada uno de los métodos.

##### 3.1.1. Aparatos

- **Cromatógrafo líquido de alta resolución Kontron** compuesto por:
  - Sistema de bombeo de solventes modelo 422,
  - Inyector manual modelo U6K
  - Detector electroquímico Coulochem II ESA y detector ultravioleta Waters 486
  
- **Espectrofotómetros:**
  - ULTROSPEC 1100 (Pharmacia Biotech)
  - HITACHI modelo U-2000
  - UNICAM modelo 5625 UV/VIS
  - UVICOM 922 con baño termostatzado (Kontron)
  
- **Centrífugas:**
  - Centrífuga refrigerada Beckman modelo J2-HC (Beckman)
  - Centrífuga refrigerada modelo Kubota 2010 (Kubota Corporation)
  - Centrífuga de mesa Biofuge, modelo 13 (HERAUS)
  
- **Sonicador** de células modelo microson ultrasonic XL
  
- **Otros aparatos:**
  - Baños termostatzados de temperatura regulable Precistern modelo S-387 y Unitronic 100

- pHmetro Crison, modelo 2001 (CRISON)
- Balanzas y microbalanza electrónica Sartorius.
- Sistema Millipore de filtración bajo vacío, equipados con filtros para solventes y soluciones acuosas
- Agitadores magnéticos con calefacción
- Agitadores manuales de tubos Vórtex
- Congelador de  $-80^{\circ}\text{C}$  modelo Revco.
- Material habitual de<sup>®</sup> laboratorio

### 3.2. POBLACIÓN A ESTUDIO

La población de estudio analizada en este trabajo la componen sujetos en situación estable con ERC en programa de hemodiálisis procedentes de la Unidad de Hemodiálisis del Hospital Universitario de Burgos y del Centro de Diálisis de Burgos (*Fresenius Medical Care*<sup>®</sup>). De esta población se han seleccionado muestras de dos grupos de pacientes para dializar con dos técnicas:

- HDF-OL: hemodiafiltración online.
- HD-HF: hemodiálisis convencional con un filtro de alto flujo.

#### 3.2.1. Selección de pacientes

La población de estudio la componen 40 individuos en situación estable con ERC estadio 5D en programa de hemodiálisis y al menos 1 mes de su inclusión en el tratamiento sustitutivo renal, de esta población 20 sujetos se incluyeron en el grupo dializado con membrana de alto flujo y otros 20 en el grupo de hemodiafiltración online postdilucional.

- Criterios de inclusión
  - Edad comprendida entre 18 y 75 años.
- Criterios de exclusión
  - Diabetes Mellitus tipo 1 y 2.

- Enfermedad inflamatoria o infecciosa sistémica en fase activa.
- Neoplasia no curada o recibir tratamiento inmunosupresor.

### **3.2.2. Técnicas dialíticas**

La hemodiafiltración online (HDF-OL) se realizó con las nuevas máquinas de Fresenius Medical Care, 5008. Hasta ahora, realizar HDF-OL suponía un aumento en el costo del tratamiento de nuestros pacientes, lo que hacía que fuera una técnica viable para sólo unos pocos pacientes. Con el Sistema de Terapia de 5008, los costes de explotación se han reducido de manera significativa a través de sencillos interfaces de usuario, que suponen menor esfuerzo de mantenimiento y la reducción de hasta un 30 % en el uso de electricidad y agua. Ahora, más pacientes en diálisis pueden ser provistos de HDF-OL. La HDF-OL combina dos métodos diferentes de eliminación de toxinas: hemodiálisis basada en la difusión y la hemofiltración por el cual la sangre se filtra a través de una membrana. La HDF-OL es particularmente eficiente y suave al filtrar las toxinas, y al realizar la eliminación de agua de la sangre del paciente. El Sistema de Terapia 5008 reemplaza automáticamente el líquido extraído con una cantidad apropiada de solución electrolítica ultrapura, la solución se prepara la máquina de diálisis "en línea", lo que elimina la necesidad de soluciones de infusión adicionales en las bolsas.

Los dializadores utilizados en la técnica HDF-OL son dializadores realizados con polisulfona de alto flujo, en concreto el dializador FX80, de la casa comercial Fresenius Medical Care®, que presenta 1.8 m<sup>2</sup> de superficie, con un coeficiente de ultrafiltración (Kuf) de 59 mL/h x mmHg.

La otra técnica a valorar es la hemodiálisis convencional con una membrana de alto flujo concretamente de polietersulfona (Dializador Elisio 210H, de la casa comercial Nipro®), que presenta 2.1 m<sup>2</sup> de superficie, con un coeficiente de ultrafiltración (Kuf) de 82 mL/h x mmHg, que efectúa de un modo simultaneo los procesos convectivos y difusivos. Es una membrana, también, con un alto grado de biocompatibilidad.

Se administraron 3 sesiones de diálisis semanales, en ambas técnicas, con dosis de diálisis ajustada a las recomendaciones recogidas en las Guías Terapéuticas Internacionales para mantener valores de KT/V aplicando el modelo cinético de la Urea de Dauguidas (2ª Generación) iguales o superiores a 1,2, modificándose en función a ello, el tiempo de la sesión de hemodiálisis de los pacientes (de 180 a 240 minutos). El volumen convectivo requerido para el grupo de pacientes en HDF-OL postdilucional era de al menos 20 litros.

### **3.2.3. Seguimiento**

La duración del trabajo fue de dos años de un año y medio. A lo largo de dos años se incluyeron a los pacientes objeto de estudio y se realizaron las distintas determinaciones de estrés oxidativo y de medición de parámetros nutricionales. En los siguientes seis meses se procedió al análisis de nuestros resultados.

Los pacientes seleccionados para el estudio se incluirán de forma aleatoria en una u otra modalidad de tratamiento dialítico siguiendo los criterios de inclusión ya señalados.

Para evaluar la generación de estrés oxidativo a lo largo de una sesión de diálisis con ambas modalidades de tratamiento se determinaron diversos parámetros de estrés oxidativo al inicio y al final de la diálisis al tiempo inicial y a los 3, 6, 9 y 12 meses de estudio. Así mismo, se evaluaron una serie de parámetros nutricionales en ambas modalidades, al inicio y a los 3, 6, 9 y 12 meses del estudio, con el objetivo de comparar ambos grupos.

### **3.2.4. Obtención de muestras y procesamiento**

Se obtuvieron 20-25 mL de sangre en tubos anticoagulados con EDTA de la rama arterial del paciente, es decir, aquella que conduce la sangre desde el paciente al circuito extracorpóreo. Se extrajeron en la sesión de diálisis de mitad de la semana, entendiéndose como tal la realizada el miércoles en los

pacientes dializados los lunes, miércoles y viernes, y la realizada el jueves en los pacientes dializados martes jueves y sábados.

Uno de los tubos se centrifugó durante 20 minutos a 8000 rpm para la obtención de plasma. Éste se distribuyó en tubos eppendorf que se mantuvieron guardados hasta su utilización para la determinación de malondialdehído, grupos carbonilo y actividad antioxidante total.

Al precipitado de hematíes se le añadieron 0,5 mL de agua destilada y se mantuvo a 4°C durante un mínimo de 2 horas para conseguir la lisis de los hematíes. El volumen restante se mezcló con cloroformo-etanol y se centrifugó a 3000 rpm 10 min. El sobrenadante se transfirió y fue usado para la determinación de glutation al que previamente se trató con ácido perclórico (PCA) al 20%.

### 3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

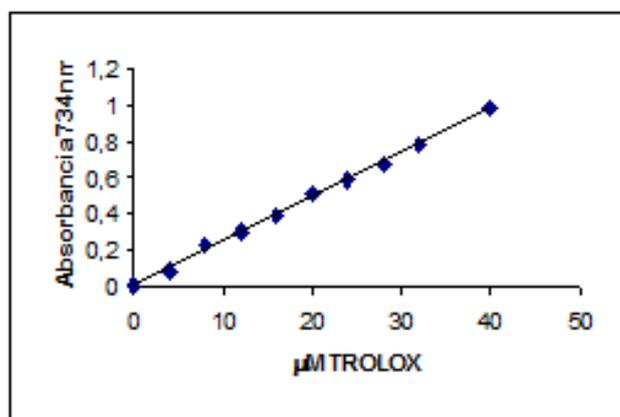
#### 3.3.1 Capacidad antioxidante total del plasma

##### 3.3.1.1. Determinación mediante el método ABTS

**Fundamento teórico:** Para la determinación de la capacidad antioxidante total se siguió el método del ABTS•+ de Miller y Rice-Evans, 1997; modificado por Pellegrini (Pellegrini *et al.*, 1999) basado en la oxidación del ABTS (2,2´azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 shulphonic acid) diamonium salt) por el persulfato potásico para formar el radical ABTS•+, que es reducido en presencia de antioxidantes donadores de hidrógeno.

**Reactivos:** ABTS (2,2´azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 shulphonic acid) diamonium salt), persulfato potásico ( $K_2S_2O_8$ ) y TROLOX (ácido 6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) suministrados por Sigma-Aldrich y Sigma Chemical Co. La solución PBS pH 7,4 se compuso de las siguientes sales: NaCl 137 mM, KC l 2,7 mM,  $Na_2HPO_4$  4,3 mM y  $KH_2PO_4$  1,4 mM.

**Metodología:** La generación del reactivo ABTS<sup>•+</sup>, se realizó mezclando ABTS 7 mM con la solución de persulfato potásico 2,45 mM en la proporción (1:1). Para las determinaciones, se midió la absorbancia de 960  $\mu$ L de ABTS<sup>•+</sup>, añadiendo a continuación 35  $\mu$ L de PBS pH 7,4 y 5  $\mu$ L de muestra de plasma. Los resultados se expresan como TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity). La recta de calibrado con trolox se realizó a partir de una solución estándar de trolox. El ajuste de la recta de calibrado se muestra a continuación en la Figura 1.



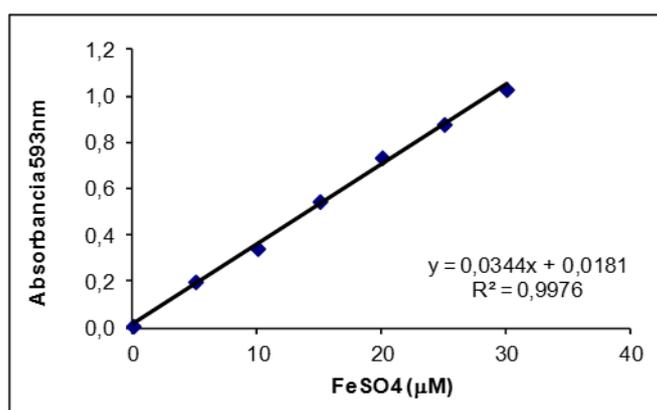
**Figura 1.** Ejemplo ilustrativo de la recta patrón de trolox

### 3.3.1.2. Determinación mediante el método FRAP

**Fundamento teórico:** Para la determinación de la capacidad antioxidante total del plasma se siguió el método del FRAP de Benzie y Strain (Benzie and Strain, 1996) que se fundamenta en la capacidad de reducir el complejo formado por el hierro (III) y TPTZ (2,4,6-tris-2-piridil-s-triazina) hasta hierro (II)-TPTZ, mediante un donante de electrones (antioxidante), formándose un compuesto de color azul que presenta un máximo de absorción a 593 nm. La medida espectrofotométrica a esa longitud de onda es proporcional a la capacidad reductora de la muestra.

**Reactivos:** Acetato de sodio ( $C_2H_3NaO_2$ ), ácido acético ( $CH_3CO_2H$ ), tricloruro férrico ( $FeCl_3 \cdot H_2O$ ), sulfato de hierro ( $FeSO_4 \cdot 2H_2O$ ) y ácido clorhídrico (ClH) fueron de Panreac y el TPTZ (2,4,6-tris-2-piridil-s-triazina) fue suministrado por Sigma-Aldrich. El reactivo TPTZ se preparó mezclando 25 mL de tampón acetato sódico 0,3 M pH 3,6, 2,5 mL de tricloruro férrico 20 mM, 2,5 mL de una solución de TPTZ 10 mM y 3 mL de agua miliQ.

**Metodología:** Para las determinaciones, se incubaron durante 30 minutos a 37 °C, 970  $\mu$ L de reactivo TPTZ junto a 20  $\mu$ L de muestra de plasma y 10  $\mu$ L de tampón acetato sódico 0,3 M. Trascurrido el tiempo se realizó la medida espectrofotométrica a 593 nm, utilizando el tampón acetato para el blanco de lectura. Los resultados se expresaron refiriéndoles a concentración de hierro (II), para lo que se realizó una recta de calibrado (Figura 2).



**Figura 2.** Ejemplo ilustrativo de la curva patrón del FRAP

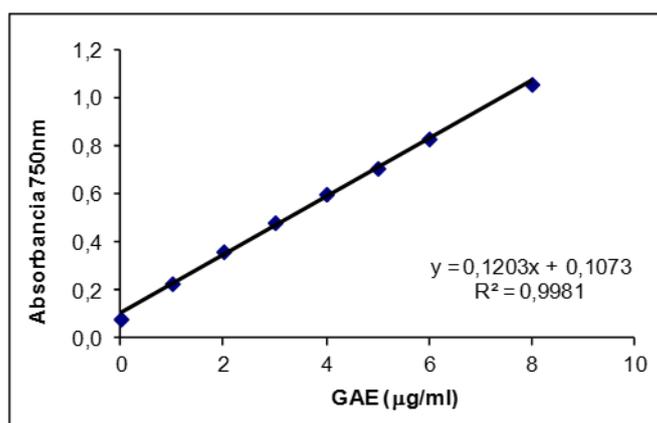
### 3.3.1.3. Determinación de polifenoles totales

**Fundamento teórico:** La cantidad total de polifenoles en plasma se determinó de acuerdo con el procedimiento de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton (Singleton and Esau, 1969) basado en la importante capacidad de oxidación que poseen los polifenoles y su posible cuantificación a pH básicos (en torno a 10). De esta forma, los polifenoles presentes en plasma son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu formándose un compuesto que presenta un

máximo de absorción a 750 nm. La medida espectrofotométrica a esa longitud de onda es proporcional a la concentración de polifenoles presentes en la muestra.

**Reactivos:** Acido metafosfórico ( $\text{HPO}_3$ ) 33,5-36,5% fue de Fluka, el reactivo de Folin-Ciocalteu, el carbonato sódico anhidro ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) y el ácido gálico fueron adquiridos en Panreac.

**Metodología:** Para las determinaciones se centrifugaron 300  $\mu\text{L}$  de plasma a 12.000 g durante 5 minutos. A continuación, a 250  $\mu\text{L}$  de sobrenadante se le añadieron 50  $\mu\text{L}$  de una solución de ácido metafosfórico 1,32 M preparado in situ, y se centrifugó a 2.700 g durante 3 minutos, precipitándose las proteínas que posteriormente pudieran interferir en el análisis. A 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  milliQ, se le añadieron 500  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 y 400  $\mu\text{L}$  de una solución de carbonato de sodio al 7,5%, dejándolo incubar a temperatura ambiente durante 40 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación se midió la absorbancia a 750 nm, empleando como blanco 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  milliQ. Los cálculos se realizaron a partir de la recta patrón de ácido gálico realizada en paralelo exactamente en las mismas condiciones experimentales (Figura 3).



**Figura 3.** Ejemplo ilustrativo de la curva patrón de ácido gálico

### 3.3.2. Determinación del estado redox

#### 3.3.2.1. Determinación del glutatión reducido (GSH)

**Fundamento teórico:** Para la determinación de la concentración de GSH se siguió el método de Brigelius (Brigelius *et al.*, 1983) basado en la determinación espectrofotométrica de la conjugación del GSH con el cloro 2,4-dinitrobenzenceno (CDNB) ( $\epsilon=9.6\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Esta reacción está catalizada por la enzima glutatión-S-transferasa (GS-T).

El GS-DNB formado absorbe a 340 nm de longitud de onda, siendo proporcional el cambio de extinción medido espectrofotométricamente a la cantidad de GSH presente en la muestra.

**Reactivos:** Fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), fueron suministrados por Panreac (España). Ácido etilen-diaminotetracético, cloro 2,4-dinitrobenzenceno (CDNB), Glutatión-S-transferasa (GS-T) por Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA).

**Metodología:** 50  $\mu\text{L}$  de muestra se mezclaron con tampón fosfato potásico 0,1 M, EDTA 1 mM, pH 7,0, CDNB 10 mM y glutatión transferasa. Posteriormente se sigue la reacción espectrofotométricamente a 340 nm.

#### 3.3.2.2. Determinación del GSSG/GSH

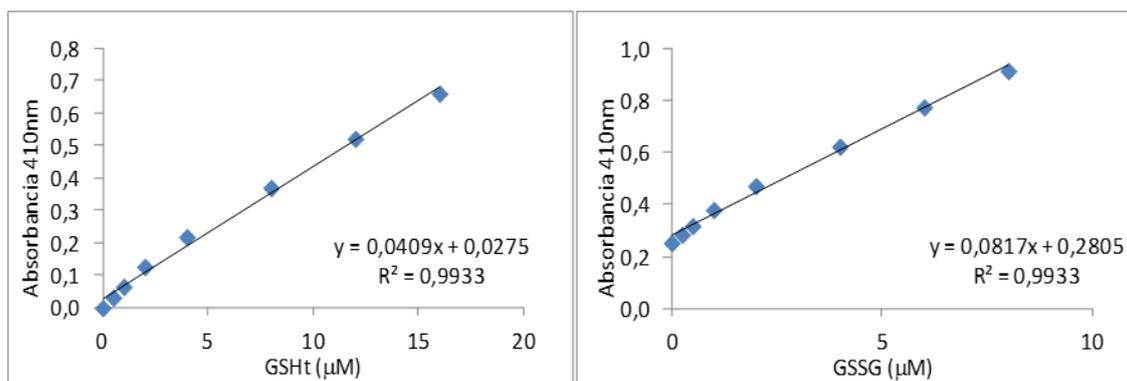
**Fundamento teórico:** Este ensayo se basa en un método enzimático de reutilización, utilizando la glutatión reductasa para la cuantificación del GSH. El grupo sulfidrilo del GSH reacciona con el DTNB (ácido 5,5'-dithio-*bis*-2-nitrobenzoico, reactivo de Ellman) dando lugar al TNB (ácido 5-tio-2-nitrobenzoico) de color amarillo. El GSTNB (mezcla entre GSH y TNB) formado es reducido por la glutatión reductasa para reciclar el GSH y producir más TNB. La tasa de TNB producido es directamente proporcional a la reacción de reciclaje, que a su vez es directamente proporcional a la concentración de GSH en la muestra. La medida de la absorbancia del TNB a 410 nm proporciona una estimación precisa del contenido de la muestra en GSH.

El GSH es fácilmente oxidado a GSSG (dímero de GSH unido por puente disulfuro). Al usar la enzima glutatión reductasa, tanto el GSH como el GSSG son determinados en el ensayo, reflejando por tanto el contenido total de glutatión. Este ensayo puede utilizarse para medir sólo GSSG utilizando 2-vinilpiridina para derivatizar el GSH de la muestra y que no intervenga en el ensayo.

**Reactivos:** Ácido metafosfórico (MPA), trietanolamina (TEAM), 2-vinilpiridina fueron adquiridos en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA). Glutathione Assay Kit adquirido en Cayman Chemicals Ann Arbor, Michigan 48108 USA.

**Metodología:** Antes de determinar la concentración del GSH se realizó una desproteinización de la muestra, añadir 150  $\mu\text{L}$  de MPA (0,1g/mL), a a 150 $\mu\text{L}$  de muestra se mezcló y se centrifugó a 2000g durante 2 minutos. 100 $\mu\text{L}$  del sobrenadante se neutralizaron hasta pH 7 con 10 $\mu\text{L}$  de TEAM 4M. Para la cuantificación del GSSG se derivatizó el GSH a 50 $\mu\text{L}$  de la muestra se le añadieron 0,5  $\mu\text{L}$  de 2- vinilpiridina 1M, y se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de muestra neutralizada para la determinación del GSH total y 50  $\mu\text{L}$  de la muestra derivatizada para la determinación del GSSG. Se preparó el mix de reacción siguiendo las indicaciones del kit de ensayo y se añadieron 150  $\mu\text{L}$ /pocillo. Por último se procedió a la lectura de la placa en un lector de ELISA, realizando una cinética a 410 nm de cada pocillo cada 2,5 minutos durante 20 minutos.

La concentración del GSH total y GSSG se calculó por interpolación de la pendiente de las rectas que se obtienen resultado de la curva patrón obtenido a partir de los estándares de reacción (Figura 4). Para determinar el GSH reducido presente en las muestras calculó la diferencia de los  $\mu\text{moles}$  de GSH en las muestras para GSH total menos el de las muestras para GSSG.



**Figura 4.** Ejemplo ilustrativo de la curva patrón de del GSH y del GSSG

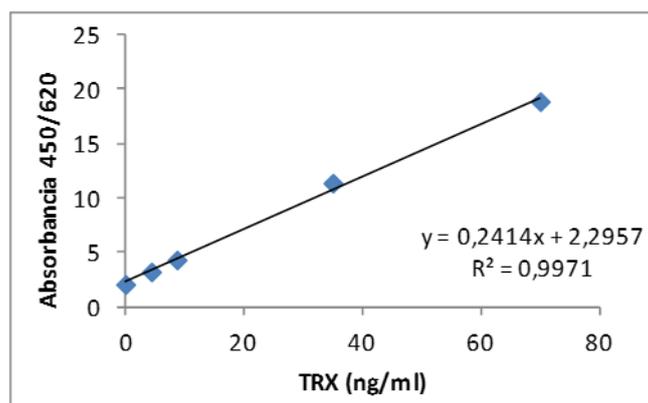
### 3.3.2.3. Determinación de la concentración de la Tiorredoxina (TRx)

**Fundamento teórico:** Para la determinación de la concentración de tiorredoxina se empleó un kit de ELISA, basado en el procedimiento desarrollado por Kogaki (Kogaki *et al.*, 1996) y Nakamura (Nakamura *et al.*, 1996), el cual emplea dos diferentes anticuerpos monoclonales contra dos diferentes epítopos de la tiorredoxina humana. Por otra parte, estos anticuerpos no son capaces de reconocer la tiorredoxina mitocondrial (TRx2) ni la tiorredoxina de origen no humana, lo que por tanto les confiere una muy alta especificidad.

**Reactivos:** Kit de ELISA para la determinación de tiorredoxina humana fue adquirido en Ebisu Build, Shimotsutsumi-cho, Kawabata Marutamachi, Sakyo-ku, Kyoto 606-8396, Japan.

**Metodología:** Para las determinaciones, se añadieron en los pocillos cubiertos con el anti-anticuerpo monoclonal de tiorredoxina humana 220 µL por pocillo de plasma diluido o bien 220 µL de los estándares proporcionados en el kit diluidos 1:10, dejando el micro plato en incubación durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras realizar un primer lavado con 300 µL/pocillo de solución, se añadieron 200 µL/pocillo de una solución compuesta por peroxidasa conjugada con anti-anticuerpos monoclonales de tiorredoxina humana y se dejó incubar durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras llevar a cabo un segundo lavado se añadieron 100 µL/pocillo de una solución de

reacción formada por el sustrato de la peroxidasa unido a un cromóforo que permitirá el posterior desarrollo de color. Trascurridos 30 minutos de incubación a temperatura ambiente se añadieron 100  $\mu$ L/pocillo de solución de parada que además de finalizar la reacción enzimática permitió estabilizar el desarrollo de color. Por último se procedió a la lectura de la placa a una densidad óptica de 450 y 620nm, obteniendo la concentración de tiorredoxina en ng/mL presente en plasma por interpolación con el resultado de la curva patrón obtenido a partir de los estándares de reacción (Figura 5).



**Figura 5.** Ejemplo ilustrativo de la recta patrón para tiorredoxina

### **3.3.3. Determinación de biomarcadores de daño oxidativo a biomoléculas**

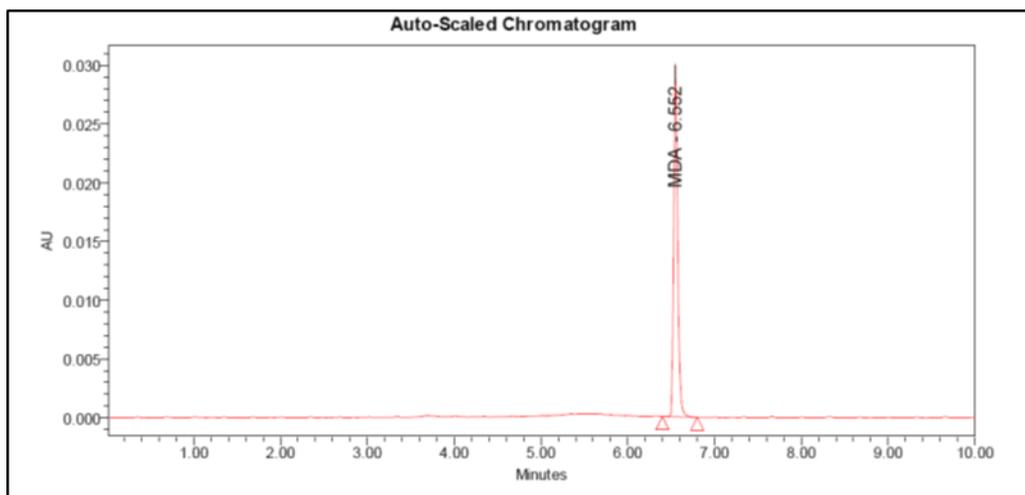
#### **3.3.3.1. Daño oxidativo a lípidos. Determinación de los niveles de malondialdehído (MDA)**

**Fundamento teórico:** Para cuantificar la cantidad de MDA se utilizó el método desarrollado recientemente por Grotto (Grotto *et al.*, 2007) para su determinación por HPLC. El procedimiento se basa en la reacción del malondialdehído con el ácido tiobarbitúrico (TBA) en medio ácido generando un complejo formado por condensación de dos moléculas de TBA y MDA y la posterior determinación del complejo por HPLC empleando un detector ultravioleta-visible. A pesar de que el TBA reacciona con una elevada variedad de compuestos, como azúcares, aminoácidos, bilirrubina y otra serie de

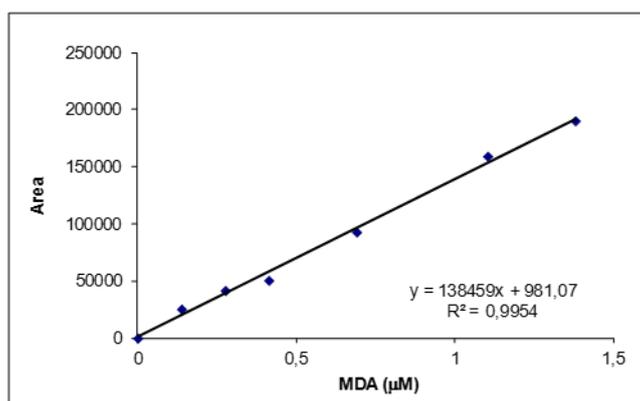
aldehídos, la posterior determinación por HPLC proporciona al procedimiento una elevada especificidad. Por otra parte la etapa inicial de hidrólisis alcalina va a permitir determinar no sólo el MDA libre, sino también el unido a la matriz de otras moléculas.

**Reactivos:** n-Butanol, ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), fosfato monopotásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), fosfato dipotásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) fueron de Panreac; dodecil sulfato sódico (SDS) fue de Fluka; hidróxido sódico (NaOH) y metanol (pureza HPLC) fueron de Merck y ácido tiobarbitúrico (TBA) y 1,1,3,3- tetrametoxipropano (TMP) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA).

**Metodología:** Se transfirieron alícuotas de 75 µL de plasma a tubos eppendorf que contenían 25 µL de agua milliQ y 25 µL de NaOH 3M y se incubaron durante 30 minutos a 60 °C antes de la adición de 125 µL de una solución de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 6% y 125 µL de TBA al 0,8%, preparado in situ. La mezcla se incubó durante 45 minutos a 90 °C, posteriormente se enfrió y se añadieron 50 µL de SDS al 10% y se extrajo con 300 µL de nbutanol. Tras agitar y centrifugar a 3.000 g durante 10 minutos, se procedieron a inyectar 20 µL de la fase superior al equipo HPLC para su posterior determinación. En la determinación cromatográfica (HPLC) del MDA se utilizó una columna ODS 5 µm de dimensiones 0,46\*25 cm. Se aplicó un flujo isocrático de 1 mL/min con una fase móvil formada por tampón fosfato potásico 50 mM pH 6,8 y metanol al 35% y un detector ultravioleta visible a una λ de 532 nm. Los compuestos a estudiar se identificaron por su tiempo de retención y el área del pico obtenido fue directamente proporcional a la concentración de MDA en la muestra que se calculó por interpolación en la recta de regresión de las curvas de calibrado obtenida con los tubos patrón de TMP que contenían cantidades conocidas y se realizadas en igual condiciones (Figura 7).



**Figura 6.** Ejemplo de cromatograma obtenidos por el procedimiento descrito a partir de una muestra



**Figura 7.** Recta patrón de malondialdehido.

### 3.3.3.2. Daño oxidativo a proteínas. Determinación de Grupos Carbonilo (GC)

**Fundamento teórico:** El procedimiento utilizado fue desarrollado por Levine (Levine *et al.*, 1990). Se basa en la reacción equimolar de los grupos carbonilo con la 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFH) en condiciones ácidas. La DNFH unida a proteínas se cuantifica espectrofotométricamente ( $\epsilon_{373} = 21 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) tras la separación de las proteínas derivatizadas por precipitación con ácido, lavado y posterior solubilización con guanidina.

**Reactivos:** Fosfato monosódico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), fosfato disódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), ácido clorhídrico, acetato de etilo, etanol y ácido tricloroacético (TCA) fueron suministrados por Panreac. Ácido trifluoroacético, 2-4-dinitrofenilhidrazina (DNFH) y guanidina (clorhidrato) fueron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA).

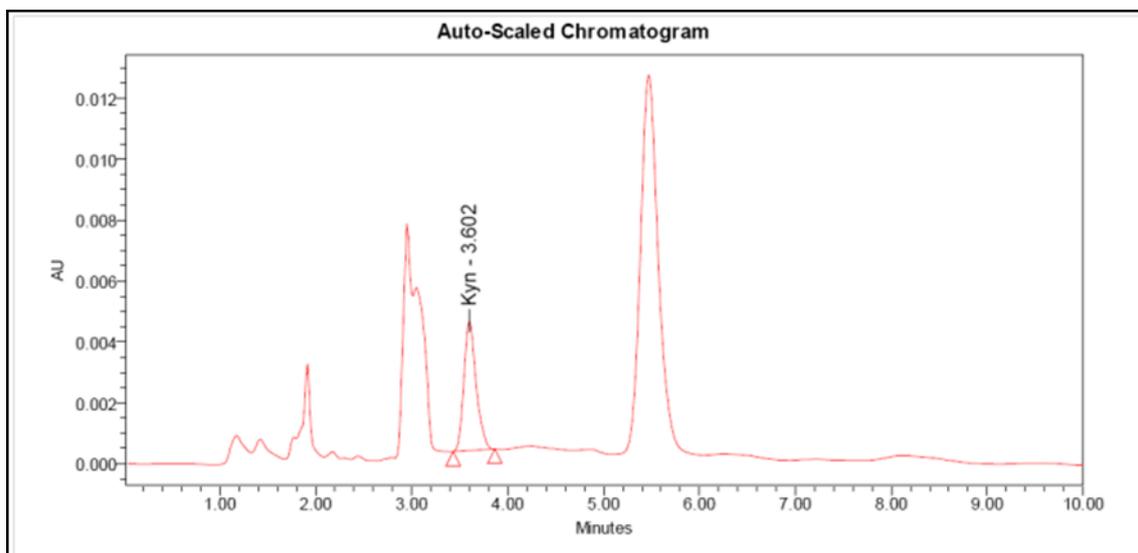
**Metodología:** 10 mL de plasma se mezclaron en tubos eppendorf con 500  $\mu\text{L}$  de DNFH al 0, 2% (p/v) en HCl 2N y la mezcla se incubó 1 h a temperatura ambiente. Se añadieron a continuación 500  $\mu\text{L}$  de DNFH al 0,2 % (p/v) y se dejó durante 15 minutos a 0-4°C para permitir la precipitación de la proteína, que se separó por centrifugación (6000 g, 3 min), descartando el sobrenadante. Para eliminar el exceso de reactivo libre, se lavó el precipitado tres veces con 1 mL de una mezcla de etanol: acetato de etilo (1:1), dejando a temperatura ambiente 10 minutos antes de recuperar el precipitado por centrifugación (6000 g 3 min). La proteína se redisolvió en 1 mL de la solución de guanidina 6 M mediante agitación en vórtex e incubación a 37°C (30 min) y se determinó su absorbancia a 373 nm frente a la solución de guanidina. Los cálculos del contenido de carbonilos para cada muestra se realizaron por la diferencia de absorbancia entre el tubo experimental derivatizado con DNFH y su blanco correspondiente de HCl y se expresan como nmoles de grupo carbonilo /mg de proteína.

### **3.3.4. Determinación de la indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO)**

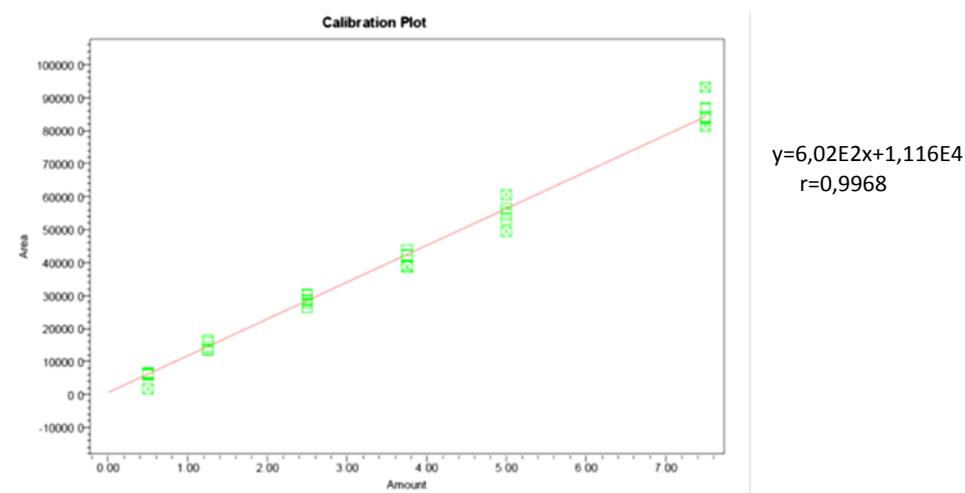
**Fundamento teórico:** La vía de la quinurenina es la principal vía de degradación del triptófano en términos cuantitativos. Por acción de la indolamina 2,3 dioxigenasa, se produce formilquinurenina, que se metaboliza rápidamente a L-quinurenina por la formamidasa. La actividad IDO se evaluó cuantificando los niveles de quinurenina en el plasma, siguiendo el método de Alegre *et al.*, 2005.

**Reactivos:** Ácido tricloroacético, acetato de sodio, acetonitrilo fueron suministrados por Panreac y la L-quinureina por Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA).

**Metodología:** Las determinaciones se realizaron mezclando 100  $\mu$ L de plasma con 100  $\mu$ L de ácido tricloroacético (30% p/v). Posteriormente, se incubaron durante 10 minutos a 100°C, se enfriaron a temperatura ambiente y se centrifugó a 2500 g durante 10 minutos. La concentración de quinurenina en el sobrenadante se cuantificó mediante HPLC-(Visible/UV). La fase móvil utilizada fue acetato de sodio 15 m (pH 4.0) con 27 mL/L de acetonitrilo, con una columna SymmetryShield™ RP18 5 $\mu$ m (3.9  $\times$  150 mm), y se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 360 nm. La quinurenina compuestos a estudiar se identificó por su tiempo de retención y el área del pico obtenido fue directamente proporcional a la concentración de L-quinurenina en la muestra que se calculó por interpolación en la recta de regresión de la recta de calibrado obtenida con los patrones de L-quinurenina (Figura 9).



**Figura 8.** Ejemplo de cromatograma obtenido por el procedimiento descrito a partir de una muestra



**Figura 9.** Ejemplo ilustrativo de la curva patrón de la L-quinurenina

### **3.3.5. Determinaciones del laboratorio clínico de referencia.**

#### Hemoglobina

Se determinó por el método "SLS-hemoglobin meted", un test calorimétrico, para analizador Roche automático de química clínica. Este método tiene las ventajas de los dos tradicionalmente empleados, el de la cianometahemoglobina y el de la oxihemoglobina. Con respecto a este último el método SLS- hemoglobin también es rápido y evita el empleo de sustancias tóxicas, lo que hace factible su automatización. Y puesto que también puede usarse para medir cianometahemoglobina, también puede medir de forma aguda sangre que contenga metahemoglobina.

#### Urea

Test cinético con ureasa y glutamato deshidrogenasa por medio de analizadores Roche/ Hitachi. La urea es hidrolizada por la ureasa a amonio y carbonato. En una segunda reacción, el 2-oxoglutarato reacciona con amonio en presencia de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) y la coenzima NADH para producir L-glutamato. En esta reacción, por cada mol de urea hidrolizada se oxidan dos moles de NADH a NAD<sup>+</sup>. La velocidad con que la concentración

de NADH disminuye es directamente proporcional a la concentración de urea en la muestra y se mide fotométricamente.

### Creatinina

Test cinético colorimétrico con medición de blanco y compensado por medio de analizadores Roche/ Hitachi. El método empleado se basa en la reacción de Jaffé descrita por Popper *et al.*, Seelig y Wuest y modificada por Bartels. En una solución alcalina, la creatinina forma un complejo amarillo-naranja y puede medirse fotométricamente.

### Proteínas totales

Test colorimétrico para Analizadores automáticos Roche/ Hitachi de química clínica. En solución alcalina, el cobre bivalente reacciona con el enlace peptídico de las proteínas formando el característico complejo biuret purpúreo. Con tartrato sódico-potásico se impide la precipitación de hidróxido de cobre y con yoduro potásico se inhibe la autorreducción del cobre. La intensidad cromática es directamente proporcional a la concentración de proteína y puede medirse fotométricamente.

### Albúmina

Prueba inmunoturbidimétrica "Tina-quant" de albúmina, con analizadores Roche/ Hitachi. Mediante este test los anticuerpos anti-albúmina reaccionan con el antígeno de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide turbidimétricamente después de la aglutinación.

### Transferrina

Prueba inmunoturbidimétrica por medio de analizadores Roche/ Hitachi. La transferrina humana forma un precipitado con un antisuero específico que se determina por turbidimetría.

### Colesterol Total

Test enzimático para analizadores automáticos Roche/ Hitachi de química clínica. En 1974 Roeschlau y Allain describieron el primer método totalmente

enzimático para la determinación del colesterol. Esta determinación se basa en la determinación de  $\Delta^4$ -colestenoa tras el desdoblamiento enzimático de los ésteres de colesterol por la colesterol-esterasa, después de la transformación del colesterol por la colesterol-oxidasa, así como la medición subsiguiente del peróxido de hidrógeno formado a través de una reacción de Trinder.

### LDL-c

Test in vitro para la determinación cuantitativa del colesterol LDL en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi. Test colorimétrico enzimático homogéneo. La colesterol esterasa provoca el desdoblamiento de los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos. En presencia de oxígeno, el colesterol es oxidado por la colesterol oxidasa a  $\Delta^4$ -colestenoa y peróxido de hidrógeno. En presencia de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y HSDA para formar un colorante púrpuro azul. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de colesterol que se mide fotométricamente.

### HDL-c

Test diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa del colesterol HDL en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi. Test colorimétrico enzimático homogéneo. En presencia de iones de magnesio, el sulfato de dextrano forma complejos hidrosolubles, selectivamente con LDL, VLDL y quilomicrones resistentes contra las enzimas modificadas por PEG. La concentración del colesterol HDL se determina enzimáticamente por la colesterol esterasa y colesterol oxidasa acopladas con PEG a los grupos amínicos (aprox. 40 %). La colesterol esterasa provoca el desdoblamiento de los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos. En presencia de oxígeno, el colesterol es oxidado por la colesterol oxidasa a  $\Delta^4$ -colestenoa y peróxido de hidrógeno. En presencia de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y HSDA para formar un colorante púrpuro azul. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de colesterol que se mide fotométricamente.

### Triglicéridos

Test enzimático colorimétrico para analizadores automáticos Roche/ Hitachi de química clínica. El presente método se basa en el trabajo de Wahlefeld empleando una lipasa lipoproteica obtenida de microorganismos para hidrolizar completa y rápidamente triglicéridos a glicerol, con la oxidación subsiguiente a dihidroxiacetonafosfato y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la acción catalítica de la peroxidasa con la 4-aminofenazona y 4-clorofenol para formar un colorante rojo en una reacción de punto final según Trinder.

### Proteína C reactiva (PCR)

Prueba inmunoturbidimétrica para la determinación cuantitativa de PCR en analizadores automáticos Roche de química clínica. Para la determinación de PCR se dispone de varios métodos analíticos, tales como la nefelometría y la turbidimetría. La prueba empleada se basa en el principio del test inmunológico de aglutinación intensificado por partículas.

### **3.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

Los resultados de este trabajo han sido procesados con el paquete estadístico de Stast grafichs. Se llevaron a cabo análisis comparativos ANOVA, test LSD y t-Student, con el fin de determinar las diferencias significativas entre las muestras a un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Para el análisis de las correlaciones entre las variables estudiadas se aplicaron los modelos de regresión simple.

Letras minúsculas, mayúsculas y símbolos del test del ANOVA en forma de superíndices que se incluyen en las tablas y los gráficos del apartado de Resultados. Dichas letras y símbolos indican los resultados de test de LSD después de realizar una comparación múltiple de medias de los tres valores ensayados en una misma muestra para una variable determinada. Si dichos superíndices son distintos para una misma columna en caso de las tablas y en el caso de los gráficos para una misma serie de columnas, los valores correspondientes serán estadísticamente diferentes entre sí a un nivel de

significación de  $p < 0,005$ . La secuencia en orden alfabético de letras como superíndice corresponde al ordenamiento de menor a mayor del valor promedio de las muestras.



## **RESULTADOS**



## 4. RESULTADOS

### 4.1. ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS INICIALES DE LAS MUESTRAS DE PACIENTES EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.

En la primera etapa del estudio se han establecido las características iniciales de la población de pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5D, un grupo en tratamiento con hemodiálisis convencional con una membrana de alto flujo (HD-HF) comparados con el grupo de pacientes en tratamiento con hemodiafiltración on line (HDF-OL).

En la Tabla 1 se resumen las diferentes variables características de la muestra correspondiente al grupo en hemodiálisis convencional, que tiene un tamaño muestral de 26 sujetos con una media de 69 años de edad, de estos únicamente 17 pacientes completaron el año de seguimiento, las causas de salida de estudio fueron trasplante renal (2) o fallecimiento (7), 3 de los fallecimientos fueron durante los 3 primeros meses del estudio, por lo que no se incluyeron sus datos. El tiempo medio en diálisis de estos pacientes fue de  $35,5 \pm 49,3$  (2-240) meses. Estos resultados se compararon con los del grupo en hemodiafiltración online, que tiene un tamaño muestral de 21 sujetos con una media de 61,9 años de edad, de estos únicamente 15 pacientes completaron el año de seguimiento, las causas de salida de estudio fueron trasplante renal (5) o fallecimiento (1). El tiempo medio en diálisis de estos pacientes era de  $53 \pm 41,6$  (12-120) meses.

La diferencia en la mortalidad en ambos grupos, se deba quizá a factores comórbidos no analizados, no obstante como ya hemos comentado la HDF-OL ha demostrado tener una mortalidad más baja que la HD convencional, además los pacientes del grupo en HDF-OL tienen albúminas plasmáticas más altas que también como hemos comentado se asocia con un menor riesgo de mortalidad.

**Tabla 1.** Características de las muestras poblacionales en pacientes dializados con HD-HF y con HDF-OL

	HD-HF	HDF-OL
<b>Hombre</b>	<b>17 (65,4%)</b>	<b>15 (71,4%)</b>
<b>Mujer</b>	<b>9 (34,6%)</b>	<b>6 (28,6%)</b>
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>21</b>
<b>Tiempo diálisis(meses)</b>	<b>35,5±49,3</b>	<b>53±41,6</b>
<b>Edad</b>	<b>69±12,9</b>	<b>61,9±15,3</b>

Podemos observar que ambas poblaciones son similares en cuanto al sexo y la media de edad. No existe asociación entre el sexo y la técnica empleada ( $p=0.826$ ), tampoco para la edad y la técnica empleada ( $p=0.163$ ).

Se ha encontrado diferencias significativas para el tiempo en diálisis en meses, siendo éste significativamente mayor en HDF-OL ( $p=0.048$ ). La media del tiempo en diálisis es mayor en los pacientes en tratamiento con hemodiafiltración online, 53 meses, respecto a los 35,5 meses de los que reciben tratamiento con hemodiálisis convencional, lo cual se relacionaría en principio con un mayor grado de inflamación para los pacientes que llevan más tiempo en diálisis.

Respecto a los parámetros clínicos analizados (Tabla 2), observamos que la prevalencia de pacientes hipertensos fue mayor en el grupo de HD-HF, 95,6%, frente a un 68,4% de los del grupo de HDF-OL, lo cual en principio estaría relacionado con el tipo de patología de base de los pacientes. La prevalencia de patología hepática fue similar en ambos grupos.

La prevalencia de los pacientes que había recibido un trasplante previamente, con la carga de medicación inmunosupresora que eso supone en términos de inflamación, fue superior en los pacientes del grupo de HDF-OL, 21%, frente al 8,7% del otro grupo.

La prevalencia de patología tumoral previa curada, fue superior en el grupo de HD-HF, 30,4%, frente a un 10,5% del otro grupo.

En cuanto a la prevalencia de enfermedad autoinmune estable fue superior en el grupo de HD-HF, un 17,4%, frente a un 5,2% del otro grupo.

La prevalencia de hiperparatiroidismo secundario que requería de tratamiento fue de 82,6% para el grupo de HD-HF, frente a un 58% del grupo en HDF-OL (p=0.078).

**Tabla 2.** Parámetros clínicos de los pacientes dializados con HD-HF y con HDF-OL.

	<b>HD-HF</b>	<b>HDF-OL</b>
<b>Hipertensión arterial</b>	<b>95,6%</b>	<b>68,4%</b>
<b>Trasplante previo</b>	<b>8,7%</b>	<b>21%</b>
<b>Patología tumoral</b>	<b>30,4%</b>	<b>10,5%</b>
<b>Patología hepática</b>	<b>8,7%</b>	<b>10,5%</b>
<b>Enfermedad autoinmune</b>	<b>17,4%</b>	<b>5,2%</b>
<b>Hiperparatiroidismo secundario</b>	<b>82,6%</b>	<b>58%</b>

En la Tabla 3, se muestran en porcentajes los principales tratamientos que pueden interferir con el estrés oxidativo y que recibían los pacientes en hemodiálisis en ambos grupos, en el momento de la inclusión en el estudio.

Observamos cómo un 21,7% de los pacientes del grupo de HD-HF estaban en tratamiento antihipertensivo con IECA/ARAII, frente sólo un 5,2% de los pacientes en HDF-OL, como mostrábamos al describir las características clínicas de los pacientes. El grupo en HD-HF existía una prevalencia mayor de pacientes con hipertensión arterial de base que en el grupo en HDF-OL, lo que justificaría que un porcentaje mayor de estos estuvieran en tratamiento con fármacos antihipertensivos, aunque se ha documentado en la literatura un mejor control de la presión arterial con terapias convectivas.

El porcentaje de tratados con estatinas fue superior para el grupo en HDF-OL, un 47,3%, frente a un 30,4% del otro grupo, no hay asociación entre las estatinas y la técnica empleada ( $p=0.26$ ). Aunque los recientes estudios publicados no han encontrado beneficios en prevención primaria de eventos cardiovasculares para la población en hemodiálisis, a diferencia de los pacientes con enfermedad renal crónica en estadios anteriores.

**Tabla 3.** Tratamientos que reciben los pacientes dializados con ambas técnicas (HD-HF y HDF-OL).

	<b>HD-HF</b>	<b>HDF-OL</b>
<b>IECA/ARAI</b>	<b>21,7%</b>	<b>5,2%</b>
<b>Estatinas</b>	<b>30,4%</b>	<b>47,3%</b>
<b>Eritropoyetina</b>	<b>95,6%</b>	<b>63,1%</b>
<b>Hierro intravenoso</b>	<b>43,4%</b>	<b>42,1%</b>
<b>Ácido Fólico</b>	<b>30,4%</b>	<b>42,1%</b>
<b>Vitaminas B1,B6 y B12</b>	<b>13%</b>	<b>36,8%</b>
<b>Paricalcitol</b>	<b>69,5%</b>	<b>58%</b>
<b>Paricalcitol (<math>\mu\text{g}/\text{semana}</math>)</b>	<b>6</b>	<b>5,8</b>
<b>Cinacalcet</b>	<b>13%</b>	<b>23,6%</b>
<b>Cinacalcet (<math>\text{mg}/\text{día}</math>)</b>	<b>30</b>	<b>42</b>

La anemia asociada a la ERC estadio 5 hace necesario que para su corrección, un gran número de estos pacientes sean tratados con agentes eritropoyéticos y/o con hierro intravenoso durante la hemodiálisis, para poder alcanzar los objetivos de hemoglobina que se aceptan actualmente. Vemos como el 95,6% de los pacientes del grupo de HD-HF, recibían tratamiento con eritropoyetina, frente a un 58% de los pacientes en el grupo en HDF-OL, varios estudios no aleatorizados, encuentran mejoría de la hemoglobina o una disminución de las necesidades de dosis de eritropoyetina en HDF-OL.

El porcentaje de tratados con hierro intravenoso fue similar, 42-43%, no observándose una asociación entre hierro intravenoso y la técnica empleada ( $p=0.929$ ). La infusión intravenosa, sobre todo a dosis altas, ha demostrado elevar los marcadores inflamatorios en numerosos estudios.

En la enfermedad renal crónica, las necesidades vitamínicas no están totalmente definidas. No se observaron diferencias significativas entre pacientes que recibían tratamiento con ácido fólico ( $p=0.432$ ) y vitamina B1, B6, B12 ( $p=0.071$ ), no encontrando asociación con la técnica utilizada. Indicar que ningún paciente estaba en tratamiento con vitamina C ni E.

En cuanto al tratamiento del hiperparatiroidismo secundario a la enfermedad renal crónica, un 69,5% de los pacientes del grupo de HD-HF, recibían tratamiento con análogos de la vitamina D (paricalcitol), frente a un 58% de los pacientes en HDF-OL, con una dosis semanal similar, no hay asociación entre la toma de Paricalcitol y la técnica empleada ( $p=0.432$ ). El porcentaje de tratados con calcimiméticos (cinacalcet) fue ligeramente superior en el grupo de pacientes en HDF-OL, 23,6%, frente al 13% del otro grupo, con una dosis diaria superior, aunque ambos porcentajes de tratados son bajos.

#### **4.2. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO NUTRICIONAL ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.**

Para la evaluación del estado nutricional de los pacientes en hemodiálisis no existe un método de referencia, en este estudio se realizó una comparativa entre parámetros antropométricos y bioquímicos, de pacientes con ERC estadio 5D en hemodiálisis de alto flujo y en hemodiafiltración online, en un periodo de seguimiento de un año.

**4.2.1. Comparativa de los parámetros antropométricos**

Los parámetros antropométricos aportan información sobre las reservas energéticas y proteicas; incluimos para la valoración de estos, el peso corporal y el índice de masa corporal (IMC).

Actualmente diversos trabajos describen (Ferreira Filho *et al.*, 2012; Kalantar *et al.*, 2003), que al contrario de lo que ocurre en la población general, donde elevados índices de masa corporal y la hiperlipidemia se asocian a mayor riesgo cardiovascular, en la población en diálisis parecen tener un pronóstico inverso, es decir la malnutrición es un factor de riesgo de morbi-mortalidad en pacientes en diálisis, fundamentalmente cardiovascular. La hiperlipemia y un elevado IMC tienen un efecto protector en estos pacientes, al relacionarse con ingesta proteico calórica más adecuada y mejor situación nutricional.

**4.2.1.1. Peso corporal**

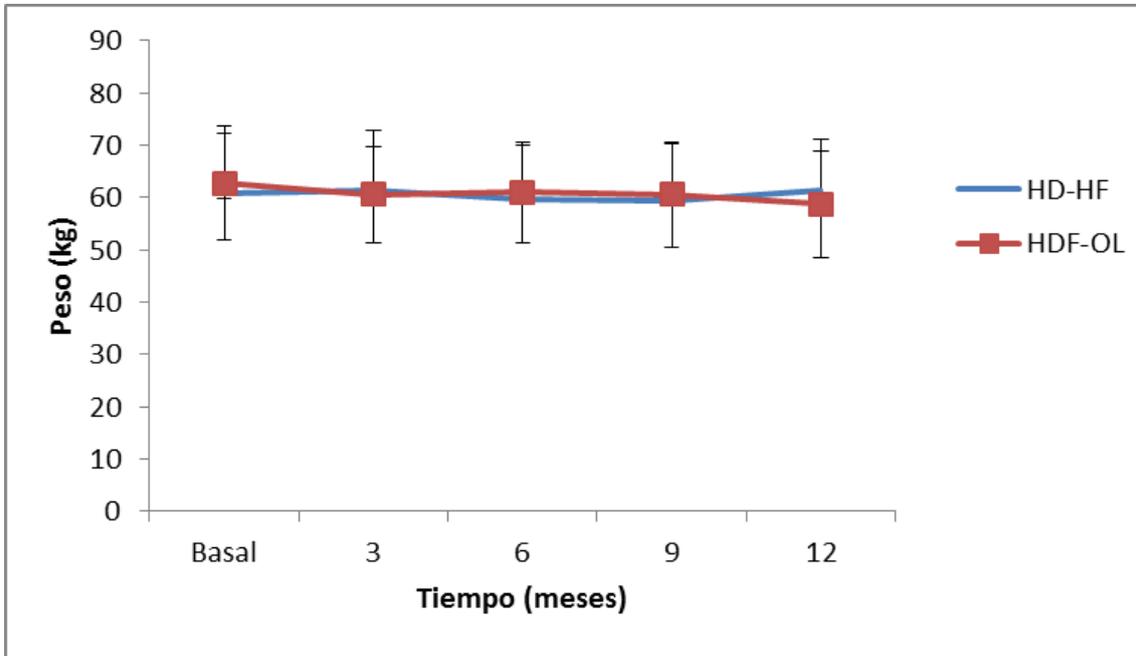
El peso corporal es un indicador sencillo, pero sus cambios en el tiempo aportan una información valiosa.

**Tabla 4.** Peso corporal de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

PESO (kg)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	60,75	61,25	59,58	59,40	61,23	
	Desviación Típica	11,36	11,67	10,34	10,83	9,86	
	Percentiles	25	50,37	49,50	49,70	49,00	53,50
		50	61,25	61,00	59,75	60,00	62,00
		75	68,25	69,00	69,00	69,50	70,50
<b>HDF-OL</b>	Media	62,72	60,51	60,97	60,51	58,65	
	Desviación Típica	10,94	9,26	9,67	9,96	10,30	
	Percentiles	25	54,80	53,60	54,95	56,00	51,40
		50	64,30	62,00	60,90	60,20	59,00
		75	70,60	68,40	68,75	67,60	67,00
<b>p</b>		0,392	0,961	0,641	0,827	0,385	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Como puede verse en la Tabla 4 y Figura 1, el peso corporal en el grupo de pacientes tratados con HD-HF se mantiene estable con una ligera ganancia final, con respecto a las medias del grupo, ocurre lo mismo si lo analizamos por percentiles.



**Figura 1.** Evolución del peso corporal de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

En el grupo de pacientes tratados con HDF-OL, observamos sin embargo como la media del grupo desciende de un 62,7 kg al inicio, a un 58,65 kg al final del año de seguimiento, ocurre lo mismo si lo analizamos por percentiles aunque las diferencias no son significativas.

En el grupo en HDF-OL encontramos una correlación directa, estadísticamente significativa, con la creatinina ( $r=0,492$ ;  $p=0.000$ ), albúmina ( $r=0,214$ ;  $p=0.042$ ) y las proteínas totales séricas ( $r=0,309$ ;  $p=0.003$ ), a mayor peso mejor estado nutricional.

**4.2.1.2. Índice de Masa Corporal (IMC) o de Quetelet**

El IMC es un indicador del compartimiento graso. Se calculó aplicando la siguiente fórmula: Peso (Kg)/talla (m)<sup>2</sup>. La interpretación de su rango de valores según el Comité de Expertos de la OMS se indica en la tabla.

**Tabla 5.** Valores de IMC establecidos por la OMS

<b>&lt;18,5 kg/m<sup>2</sup></b>	<b>Bajo peso</b>
<b>18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup></b>	<b>Normal</b>
<b>25,0-29,9 kg/m<sup>2</sup></b>	<b>Sobrepeso</b>
<b>&gt; 30,0 kg/m<sup>2</sup></b>	<b>Obesidad</b>

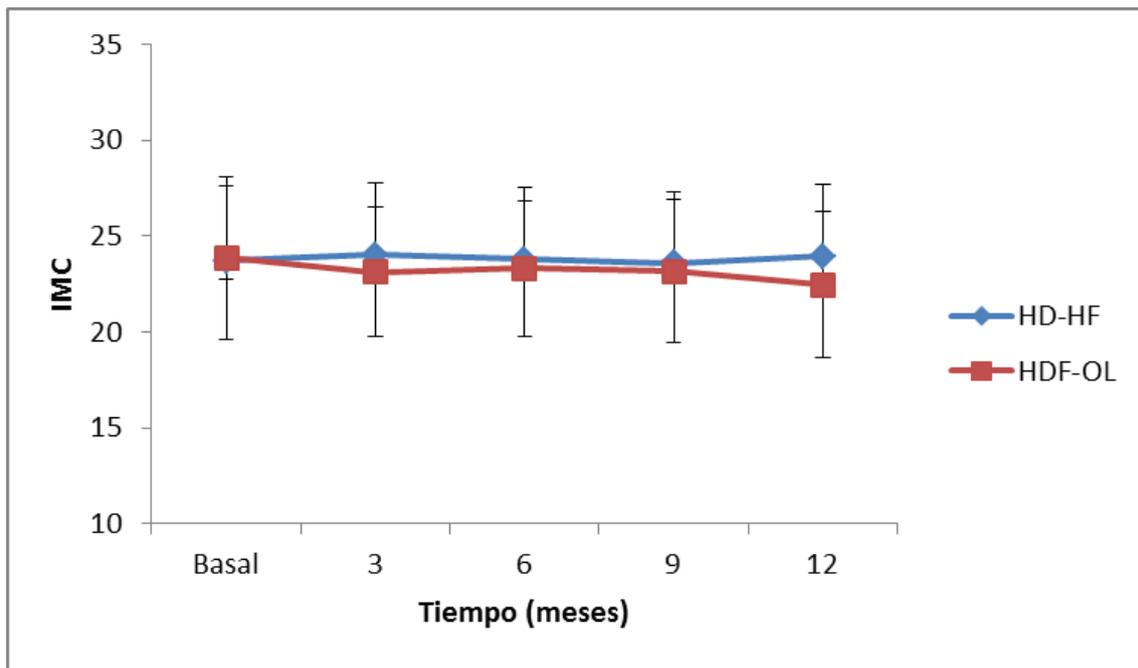
Los resultados para el IMC son similares a los del peso corporal, como observamos en la Tabla 6. En ambas técnicas y a lo largo del estudio se observa que se encuentra dentro del rango de normal establecido por el Comité de Expertos de la OMS

**Tabla 6.** IMC de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

IMC (kg/m <sup>2</sup> )		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	23,72	24,03	23,81	23,61	23,96	
	Desviación Típica	3,90	3,77	3,73	3,68	3,73	
	Percentiles	25	20,90	20,72	20,78	21,23	21,75
	50	23,62	23,80	23,50	23,14	24,56	
	75	25,25	27,53	26,22	25,65	25,73	
<b>HDF-OL</b>	Media	23,86	23,14	23,31	23,17	22,47	
	Desviación Típica	4,25	3,38	3,54	3,74	3,83	
	Percentiles	25	21,20	21,30	21,58	21,22	20,57
	50	22,62	22,59	22,75	22,98	21,87	
	75	27,10	25,59	26,34	26,10	24,14	
<b>p</b>		0,983	0,559	0,87	0,759	0,206	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Los resultados de la evolución del IMC a lo largo del año se muestran en la Figura 2, como observamos los valores de IMC en el grupo de HD-HF se mantiene estable con una ligera ganancia final, con respecto a las medias del grupo, ocurre lo mismo si lo analizamos por percentiles. En el grupo en HDF-OL, observamos sin embargo como la media del grupo desciende de un 23,8 kg/m<sup>2</sup> al inicio, a un 22,47 kg/m<sup>2</sup> al final del año de seguimiento, ocurre lo mismo si lo analizamos por percentiles.



**Figura 2.** Evolución del IMC de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.2.2. Comparativa de los parámetros bioquímicos

Los parámetros bioquímicos nutricionales se consideran indicadores de la severidad de una enfermedad y factores pronósticos, pero estos pueden verse interferidos en los pacientes en hemodiálisis por el estado inflamatorio.

4.2.2.1. Proteína visceral

4.2.2.1.1. Albúmina

Los niveles séricos de albúmina dependen de las cantidades de proteínas ingeridas en la dieta, aunque en los pacientes en diálisis también se ven influenciados por la inflamación, disminuyendo en respuesta a esta. Por lo que hay que diferenciar la causa de la concentración sérica de albúmina baja, que podría deberse a la reducción de ingesta de proteínas y calorías, o a una situación de gasto energético en reposo elevado, por un aumento del estrés oxidativo y del catabolismo proteico, sobre todo a la hora de decidir el abordaje terapéutico.

La hipoalbuminemia, aunque es un marcador tardío e inespecífico de desnutrición, siempre se ha señalado como un predictor independiente de mortalidad en diálisis. De determinación sencilla y económica, es el más empleado en estudios observacionales. Los niveles de albúmina sérica inferiores a 3,5 g/dL son un importante predictor de la tasa de morbi-mortalidad en los pacientes en hemodiálisis fundamentalmente de causa cardiovascular, el riesgo de mortalidad aumenta cuando la albúmina sérica disminuye de 3 g/dL.

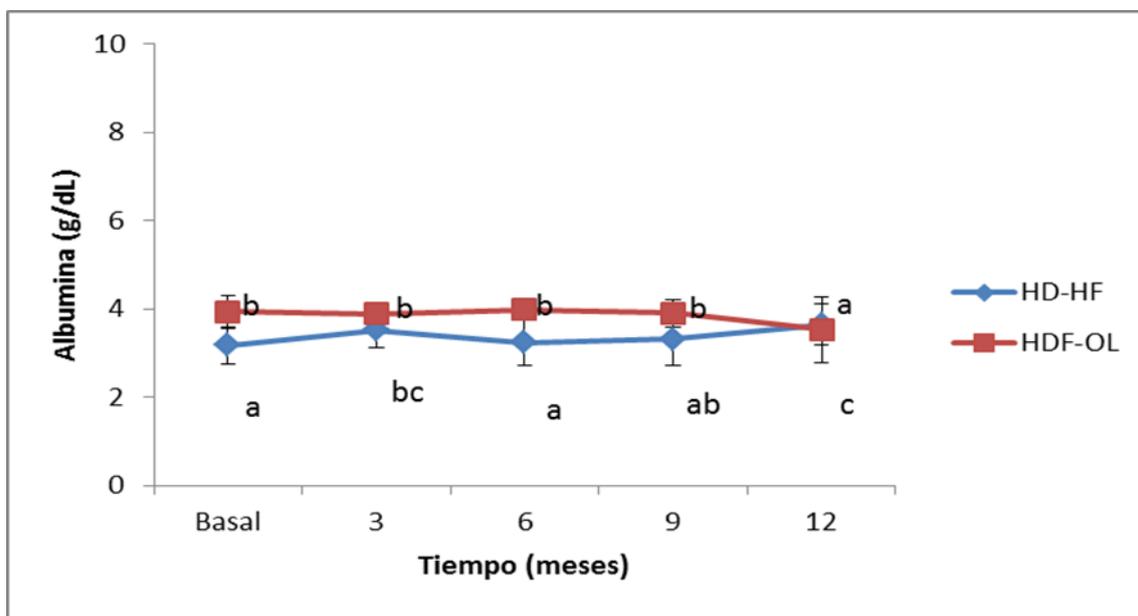
**Tabla 7.** Albúmina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

ALBÚMINA (g/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	3,18	3,52	3,23	3,31	3,64	
	Desviación Típica	0,41	0,39	0,51	0,59	0,45	
	Percentiles	25	2,92	3,30	2,83	3,00	3,35
		50	3,00	3,55	3,20	3,10	3,70
		75	3,58	3,80	3,58	3,50	4,00
<b>HDF-OL</b>	Media	3,93	3,88	3,99	3,90	3,52	
	Desviación Típica	0,36	0,27	0,25	0,31	0,73	
	Percentiles	25	3,72	3,80	3,80	3,75	3,20
		50	3,90	3,90	4,05	3,90	3,70
		75	4,17	4,07	4,17	4,10	4,10
<b>p</b>		0,000	0,001	0,000	0,001	0,835	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En nuestro estudio, como puede observarse en la Tabla 7, los niveles de albuminemia son superiores en el grupo de HDF-OL, lo que indica un mejor estado nutricional de los pacientes HDF-OL. Estadísticamente se observa que las diferencias entre ambas técnicas se mantienen significativas exceptuando a los 12 meses donde se igualan los valores medios de albuminemia de ambas técnicas.

Los resultados de la evolución de los niveles de albúmina plasmática en los pacientes dializados con ambas técnicas se presentan en la figura 3.



**Figura 3.** Evolución de la albúmina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

Cuando analizamos la evolución a lo largo del año de diálisis (Figura 3) se observa que la media de albuminemia en los pacientes del grupo de HD-HF fue mejorando a lo largo del año de seguimiento, desde 3,18 g/dL a 3,64 g/dL, situándose en un rango que se asocia a una menor morbi-mortalidad. Destacar que en el análisis de percentiles se observa que el 25% de los pacientes a tiempo basal tienen un alto riesgo de enfermedad que mejora al año del tratamiento con diálisis. En el grupo en HDF-OL, sin embargo la media de albúmina fue reduciéndose significativamente durante el año de seguimiento,

pasando de 3,93 g/dL a 3,52 g/dL, que sigue estando en adecuado rango en cuanto a riesgo cardiovascular se refiere.

#### 4.2.2.1.2. Transferrina

La transferrina sérica es un indicador fiable de la nutrición proteica ya que es más sensible a la deficiencia proteica y cambia más rápidamente con una dieta inadecuada, aunque puede aumentar si los depósitos de hierro se han agotado.

A pesar de ello, en varios trabajos (Locatelli *et al.*, 2002; Neyra *et al.*, 2000; Kalantar *et al.*, 1998) se propone la medida de transferrina como marcador más precoz que la albúmina en las situaciones de desnutrición e incluso de inflamación (Kaysen *et al.*, 2000), sobre todo si se tiene en cuenta que en la actualidad, se administra hierro intravenoso a los pacientes en hemodiálisis, monitorizando siempre que mantengan un adecuado nivel de depósito de hierro.

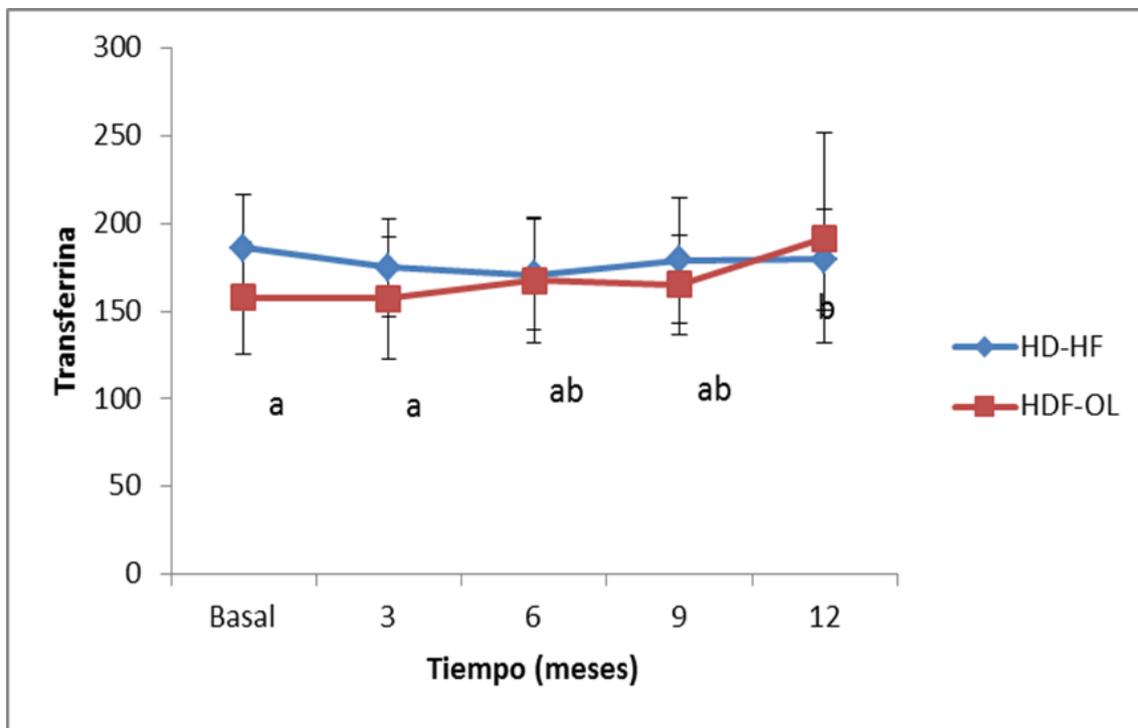
**Tabla 8.** Transferrina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

TRANSFERRINA (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	186	175	171	179	180	
	Desviación Típica	30,20	27,90	31,50	35,80	28,90	
	Percentiles	25	159	162	142	155	163
	50	180	173	166	166	174	
	75	209	193	195	212	186	
<b>HDF-OL</b>	Media	158	157	168	165	192	
	Desviación Típica	31,90	34,90	35,90	28,60	59,60	
	Percentiles	25	143	135	149	149	154
	50	157	154	161	162	197	
	75	164	169	183	185	224	
<b>p</b>		0,004	0,011	0,597	0,312	0,439	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Si tenemos en cuenta que el valor de normalidad sería igual o mayor a 200 mg/dL, observamos que todos los pacientes del estudio (Tabla 5) parten de una situación de desnutrición leve (150-200 mg/dL), esta situación de inicio es más acusada en los pacientes del grupo en HDF-OL ( $p=0.004$ ) siendo significativa a tiempo basal y tres meses.

En relación a la evolución de los niveles de transferrina a lo largo del año de estudio (Figura 4), en los pacientes tratados con HDF-OL se observa un incremento significativo a lo largo del año de seguimiento (157,7 -191,8 mg/dL), acercándose al valor considerado como de normo nutrición. Tal y como indica los datos de percentil, un 25% de los pacientes alcanzan valores superiores a 200 mg/dL. Por el contrario en el grupo en HD-HF, los valores de transferrina sérica se observa una pequeña disminución aunque no significativativa a lo largo del año de estudio (185-179 mg/dL) asociándose a una mayor desnutrición.



**Figura 4.** Evolución de la transferrina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

Un análisis de la correlación entre parámetros nutricionales, indica que en el grupo de pacientes HDF-OL encontramos una correlación directa, estadísticamente significativa, de la albúmina sérica con la transferrina ( $r=0.282$ ;  $p=0.007$ ), es decir, a mayores niveles de albúmina, mayores niveles de transferrina, lo que se traduce en un mejor estado nutricional.

**4.2.2.1.3. Proteínas totales**

El examen de proteína total mide la cantidad total de dos clases de proteínas encontradas en la porción líquida de la sangre: albúmina y globulinas. La albúmina ayuda a impedir que se escape líquido fuera de los vasos sanguíneos y las globulinas son una parte importante del sistema inmunitario.

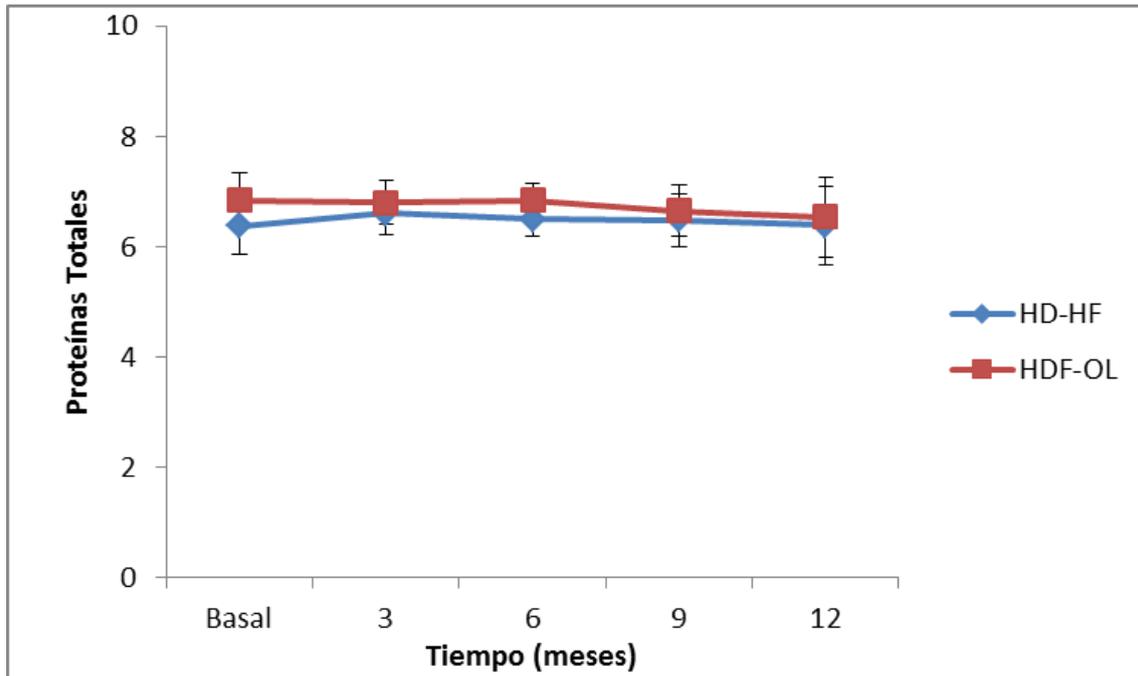
**Tabla 9.** Proteínas totales plasmáticas de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

PROTEÍNAS TOTALES (g/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	6,37	6,60	6,49	6,48	6,38	
	Desviación Típica	0,43	0,46	0,43	0,36	0,47	
	Percentiles	25	6,00	6,20	6,17	6,30	5,90
		50	6,30	6,60	6,50	6,40	6,40
		75	6,80	6,90	6,80	6,70	6,80
<b>HDF-OL</b>	Media	6,84	6,80	6,83	6,65	6,54	
	Desviación Típica	0,50	0,40	0,30	0,47	0,72	
	Percentiles	25	6,50	6,40	6,50	6,40	6,20
		50	6,90	6,80	6,90	6,75	6,40
		75	7,10	7,00	7,00	7,00	7,10
<b>p</b>		0,001	0,293	0,007	0,135	0,437	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

El rango de proteínas totales es de 6,0 a 8,3 g/dL. Los valores de proteína total de los pacientes a tiempo basal es superior a 6,0 en ambos grupos (Tabla 9). La media es superior en el grupo en HDF-OL, a lo largo del año de seguimiento, aunque la sólo hubo diferencias significativas a tiempo basal y a los 6 meses debido a las bajas desviaciones.

Los resultados de la evolución del nivel de proteínas totales a lo largo del tiempo se presentan en la Figura 5. En nuestro estudio, en el grupo de HD- HF, la media se mantiene estable con una ligera ganancia final pero no significativa (6,3 a 6,38 g/dL). En el grupo en HDF-OL, aunque se observa una pequeña disminución de un 6,84 g/dL al inicio, a un 6,54 g/dL al final del año de seguimiento, no es significativa ocurre lo mismo si lo analizamos por percentiles.



**Figura 5.** Evolución las proteínas totales plasmáticas de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.2.2.2. Proteína somática

##### 4.2.2.2.1. Creatinina

Los niveles de creatinina son indicadores del catabolismo muscular de forma global. Sus valores están en relación directa con la cantidad y contenido proteico de la dieta y la edad. En los pacientes en hemodiálisis no tiene unos valores de referencia como en la población general, pero si puede ser utilizado como parámetro bioquímico del estado nutricional, sobre todo en seguimiento, puesto que si las condiciones de la hemodiálisis se mantienen estable, fundamentalmente en cuanto a dosis de diálisis se refiere, un descenso progresivo respecto a los valores previos, es un indicador de malnutrición.

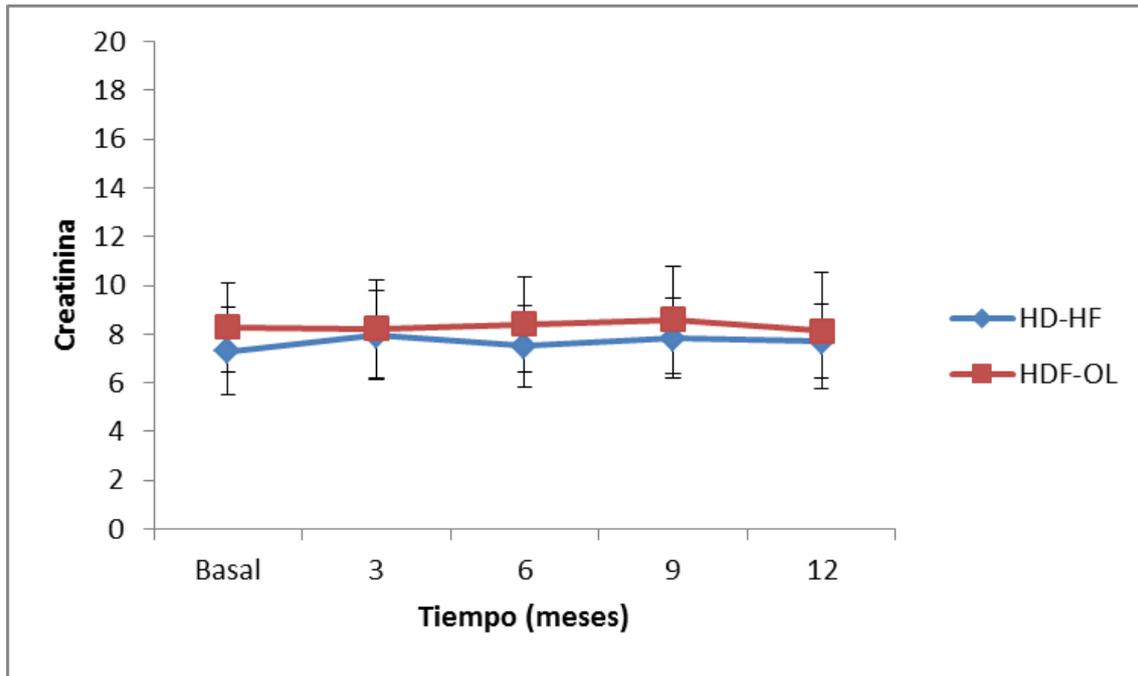
En la Tabla 10, se puede observar que la media de las determinaciones de creatinina plasmática fue superior en grupo en HDF-OL a lo largo del año de seguimiento, con respecto al grupo HD-HF, esta diferencia no es estadísticamente significativa. Los valores son superiores a los de la población normal, cuyos rangos de referencia son para las mujeres de 0,6 a 1,1 mg/dL y para los hombres de 0,8 a 1,3 mg/dL, por su condición de enfermos renales.

**Tabla 10.** Creatinina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

CREATININA (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	7,30	7,94	7,50	7,80	7,69	
	Desviación Típica	1,76	1,82	1,66	1,60	1,50	
	Percentiles	25	5,97	7,20	7,07	7,60	6,85
		50	7,40	8,30	8,15	8,20	8,00
		75	8,92	9,40	8,60	8,80	8,85
<b>HDF-OL</b>	Media	8,27	8,21	8,39	8,60	8,13	
	Desviación Típica	1,81	2,01	1,97	2,19	2,37	
	Percentiles	25	7,37	6,78	7,02	7,32	6,60
		50	8,26	8,08	8,25	8,38	7,30
		75	9,35	10,08	10,02	10,29	9,30
<b>p</b>		0,125	0,913	0,308	0,643	0,880	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En nuestro estudio encontramos pocas variaciones a lo largo del año de seguimiento respecto a la creatinemia (Figura 6), la media en ambos grupos prácticamente se mantuvo sin cambios. Únicamente si lo analizamos por percentiles observamos como en el grupo de HD-HF en el percentil 25 y 50 si hubo un incremento al finalizar el estudio.



**Figura 6.** Evolución de la creatinina plasmática de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

Estudios de correlación muestran que en el grupo de pacientes HDF-OL, se observa una correlación directa, estadísticamente significativa, entre la creatinina y los triglicéridos ( $r=0,353$ ;  $p=0.001$ ), ambos parámetros elevados en la población en diálisis indican un mejor estado nutricional. En el grupo en HD-HF, encontramos esta misma correlación con la creatinina, pero con la albúmina ( $r=0,302$ ;  $p=0.002$ ) y la transferrina ( $r=0,245$ ;  $p=0.012$ ).

#### **4.2.2.2.2. Niveles de nitrógeno ureico en sangre (BUN)**

El nitrógeno ureico en la sangre (BUN) es la cantidad de nitrógeno circulando en forma de urea en el torrente sanguíneo. La urea es una sustancia secretada a nivel del hígado, producto del metabolismo proteico, a su vez, es eliminada a través de los riñones.

El BUN y la tasa de catabolismo proteico (incremento del BUN en el período interdiálisis) son los primeros en descender cuando cae la ingesta proteica (asumiendo que no se ha modificado la dosis de diálisis), es decir, que una tendencia descendente con igual pauta de diálisis es un indicador de malnutrición.

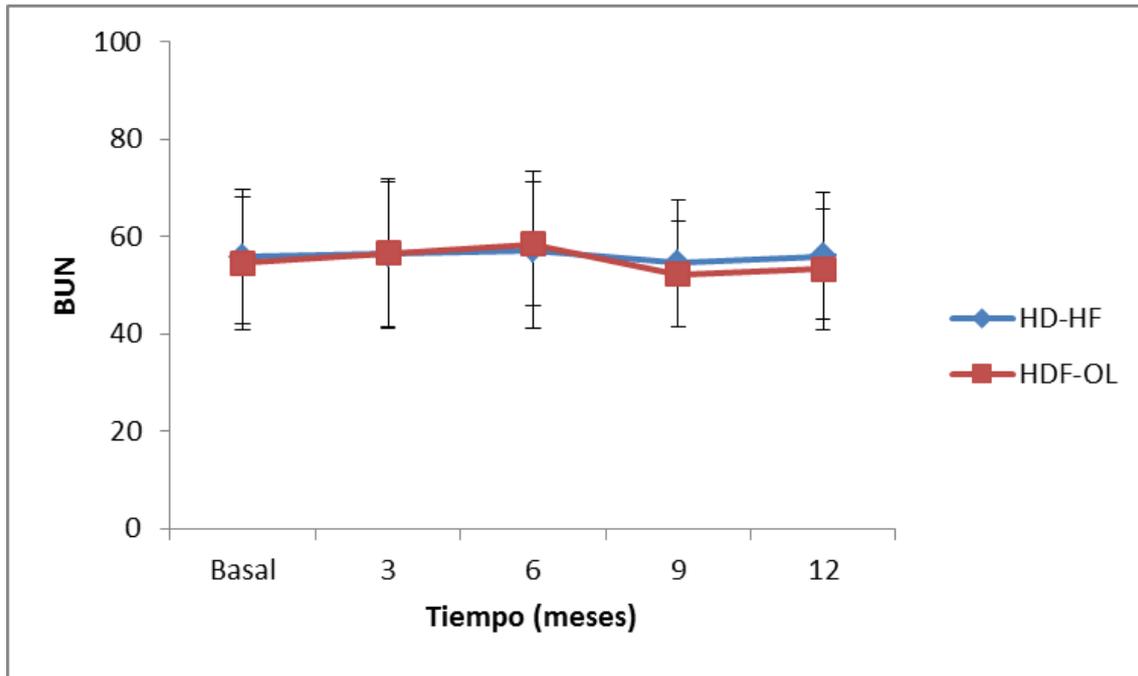
**Tabla 11.** BUN plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

BUN (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	55,89	56,40	57,25	54,59	55,98	
	Desviación Típica	13,88	14,78	16,16	13,03	13,06	
	Percentiles	25	46,41	43,71	48,29	46,06	45,82
		50	55,46	59,22	58,04	53,11	56,40
		75	66,74	67,68	66,85	59,69	62,51
<b>HDF-OL</b>	Media	54,52	56,54	58,49	52,22	53,28	
	Desviación Típica	13,63	15,40	12,69	10,85	12,41	
	Percentiles	25	44,65	45,94	50,31	40,89	44,65
		50	53,11	55,46	58,75	54,75	54,52
		75	66,74	66,15	66,75	62,86	62,98
<b>p</b>		0,680	0,903	0,743	0,760	0,821	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En nuestro estudio (Tabla 11), no encontramos variaciones significativas en las medias del BUN en ambos grupos de pacientes, siendo similares los resultados cuando se analizan por percentiles.

El análisis de los resultados a lo largo del año (Figura 7), indica que el índice BUN se mantiene estable a lo largo del año de seguimiento, únicamente aumentaron progresivamente pero no de forma significativa durante los primeros 6 meses, con un ligero descenso hasta cifras basales en los siguientes, siendo muy similar la evolución en ambos grupos.



**Figura 7.** Evolución del BUN plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.2.2.3. Lípidos

##### 4.2.2.3.1. Colesterol total

El colesterol es un buen marcador del estado nutricional y por tanto, cifras aparentemente normales o bajas pueden representar un estado de desnutrición, más que una normalidad del metabolismo lipídico. El descenso del colesterol plasmático, que probablemente está vinculado a un déficit nutricional energético, se asocia a una mayor mortalidad en los pacientes en hemodiálisis (Liu *et al.*, 2004) y se considera marcador de nutrición deficiente cuando sus valores son inferiores a 150 mg/dL, aconsejado en guías Europeas, Americanas y estudio Hemo (Rocco *et al.*, 2002).

La evolución del colesterol total con el tiempo de tratamiento en hemodiálisis ha sido valorada en pocos estudios en los que tras un año de seguimiento nutricional encontraron un descenso del colesterol en los pacientes, pero sin cambios significativos (Kalantar *et al.*, 1998; Iseki *et al.*, 1993).

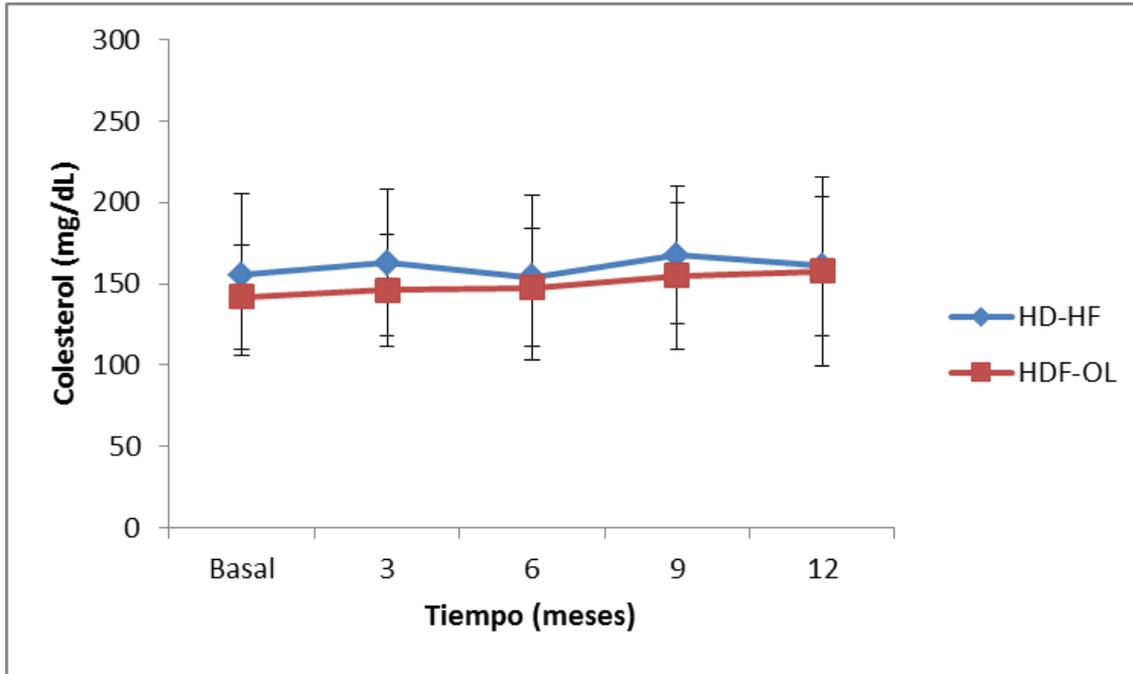
Si se comparan ambos grupos (Tabla 12) se observa que la población de pacientes que van a ser dializados con HD-HF los niveles de colesterol medio son límites de 155 mg/dL, si lo analizamos por percentiles, en el percentil 25 los pacientes parten de cifras de colesterol total inferiores a 150 mg/dL (110 mg/dL), como indicador de desnutrición aconsejado en guías europeas, americanas y estudio Hemo y posteriormente incrementan hasta 136 mg/dL, no ocurre lo mismo en el percentil 75 donde los valores descienden. En el grupo en HDF-OL tanto en los percentiles 25 como 50 se parte de niveles de colesterol total inferiores a 150 mg/dL, lo que pone de manifiesto un déficit nutricional energético en la mayoría de los pacientes, en estos grupos la mejoría a lo largo de año de seguimiento es progresiva pero constante hasta llegar a cifras de 163 mg/dL en el percentil 50, en general mejora los 3 percentiles durante el año de seguimiento, hasta superar en el caso del 50 y 75 los 150 mg/dL fijados como límite para considerar malnutrición.

**Tabla 12.** Colesterol total plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

COLESTEROL TOTAL (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	156	163	154	167	161	
	Desviación Típica	49,56	44,83	50,64	42,31	42,56	
	Percentiles	25	110	125	106	126	136
		50	150	167	151	168	155
		75	197	203	192	203	179
<b>HDF-OL</b>	Media	142	146	148	155	158	
	Desviación Típica	32,37	34,47	36,39	45,30	58,04	
	Percentiles	25	122	120	123	125	126
		50	136	138	140	147	163
		75	171	183	167	168	183
<b>p</b>		0,289	0,173	0,724	0,32	0,925	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

El estado evolutivo del colesterol se indica en la Figura 8, donde no se observan diferencias significativas en la media de ambas poblaciones.



**Figura 8.** Evolución del colesterol total plasmático de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.2.2.3.2. Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

La mayor parte del colesterol se transporta en la sangre unido a proteínas, formando unas partículas conocidas como lipoproteínas de baja densidad o LDL. Con el LDL como parámetro bioquímico de estado nutricional en el caso de los pacientes en diálisis, ocurre lo mismo que el caso del colesterol total donde cifras aparentemente normales o bajas pueden representar un estado de desnutrición.

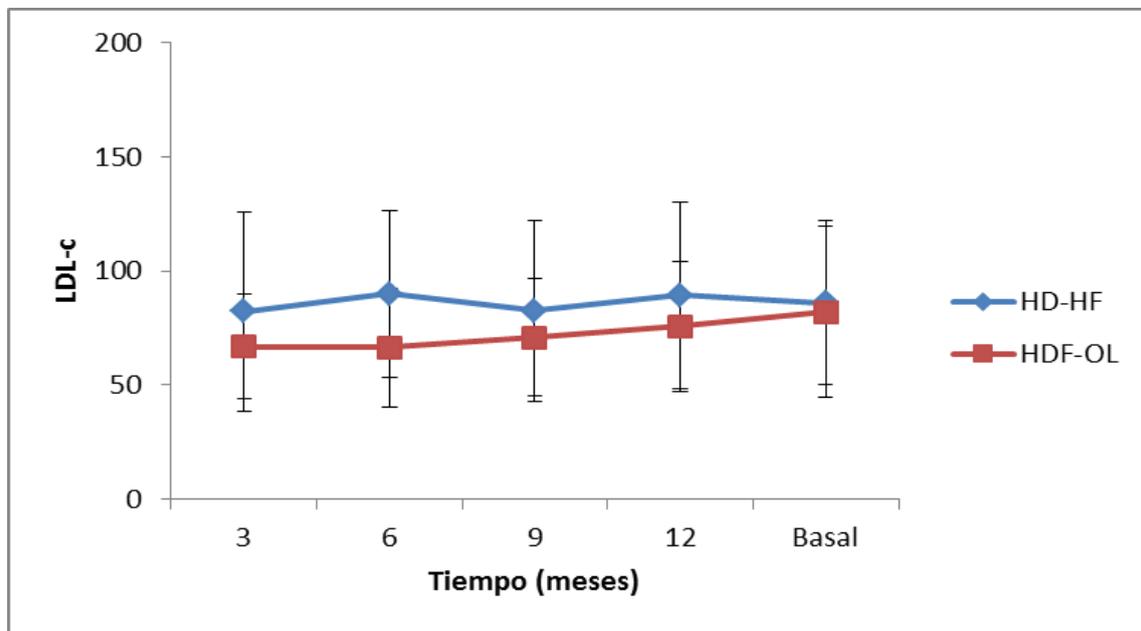
Aunque no se observan diferencias significativas entre ambos tipos de pacientes (Tabla 13), a tiempo basal el valor medio de los niveles de LDL es superior en los pacientes que van a ser dializados con HD-HF, donde un 25% de los pacientes tienen valores de LDL superiores a 120 mg/dL. El análisis de percentiles permite observar que el 50% de la población de ambos grupos de pacientes tienen valores de colesterol de 69 mg/dL.

**Tabla 13.** LDL colesterol plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

LDL (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
HD-HF	Media	82,08	89,96	82,41	89,32	86,04	
	Desviación Típica	43,63	36,51	39,50	40,91	35,78	
	Percentiles	25	44,25	57	45,25	51	57,90
		50	69	81	62	76	86
75		127	121	123	130	113	
HDF-OL	Media	66,60	66,30	70,90	75,63	82	
	Desviación Típica	22,92	26,29	25,77	28,53	37,54	
	Percentiles	25	50,25	46,50	53,25	51,75	49
		50	69,50	61,50	67	73,50	87
75		82,00	81,50	87,25	90,50	110	
<b>p</b>		0,509	0,031	0,480	0,398	0,777	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Evolutivamente (Figura 9) se observa que al igual que lo observado con los niveles de colesterol total, tiene lugar un aumento progresivo de los niveles de LDL a lo largo del año de seguimiento, aunque este aumento fue más pronunciado en el caso de la HDF- OL donde los pacientes pasaron de cifras de LDL medias de 66 mg/dL a 82 mg/dL.



**Figura 9.** Evolución del LDL colesterol plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

**4.2.2.3.3. Lipoproteínas de alta densidad (HDL)**

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son aquellas lipoproteínas que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado. Con el HDL como parámetro bioquímico de estado nutricional en el caso de los pacientes en diálisis, ocurre lo mismo que el caso del colesterol total donde cifras aparentemente normales o bajas pueden representar un estado de desnutrición.

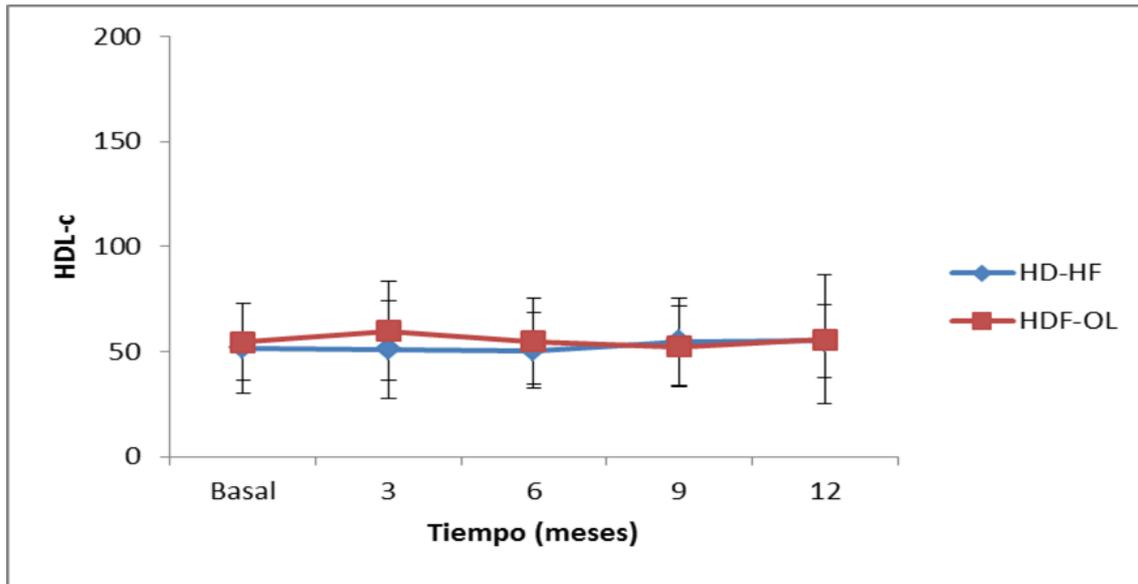
Los resultados (Tabla 14) muestran que no hay diferencia a tiempo basal entre ambos grupos de paciente, lo indica una homogeneidad de partida. Tampoco se observan cambios entre ambas poblaciones a los 3, 6, 9 y 12 meses.

**Tabla 14.** HDL colesterol plasmático de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

HDL (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	51,71	51,04	50,64	54,79	55,06	
	Desviación Típica	21,18	23,33	17,87	20,95	17,59	
	Percentiles	25	38,00	37,00	38,50	43,00	40,50
		50	45,00	45,00	50,00	48,00	54,00
		75	61,00	54,00	56,50	72,00	69,00
<b>HDF-OL</b>	Media	54,55	59,80	54,80	52,31	55,93	
	Desviación Típica	18,34	23,67	20,42	19,22	30,65	
	Percentiles	25	38,25	42,00	40,50	38,75	40,00
		50	54,00	56,00	50,50	46,50	52,00
		75	63,00	69,00	61,25	66,75	62,00
<b>p</b>		0,494	0,137	0,705	0,703	0,597	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Al igual que en los otros parámetros lipídicos, colesterol total y del LDL, ambos grupos experimentaron una ligera mejoría, aunque no significativa, que este caso fue más pronunciada en el grupo de HD-HF, donde la media de HDL pasó de 51 mg/dL a 55 mg/dL (Figura 10).



**Figura 10.** Evolución del HDL colesterol plasmático de los pacientes dializados en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.2.2.3.4. Triglicéridos

La hipertrigliceridemia es la alteración fundamental de los lípidos plasmáticos en la insuficiencia renal. En los pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis, la hipertrigliceridemia tiene un efecto protector, al relacionarse con ingestas proteico-calóricas más adecuadas y mejor situación nutricional.

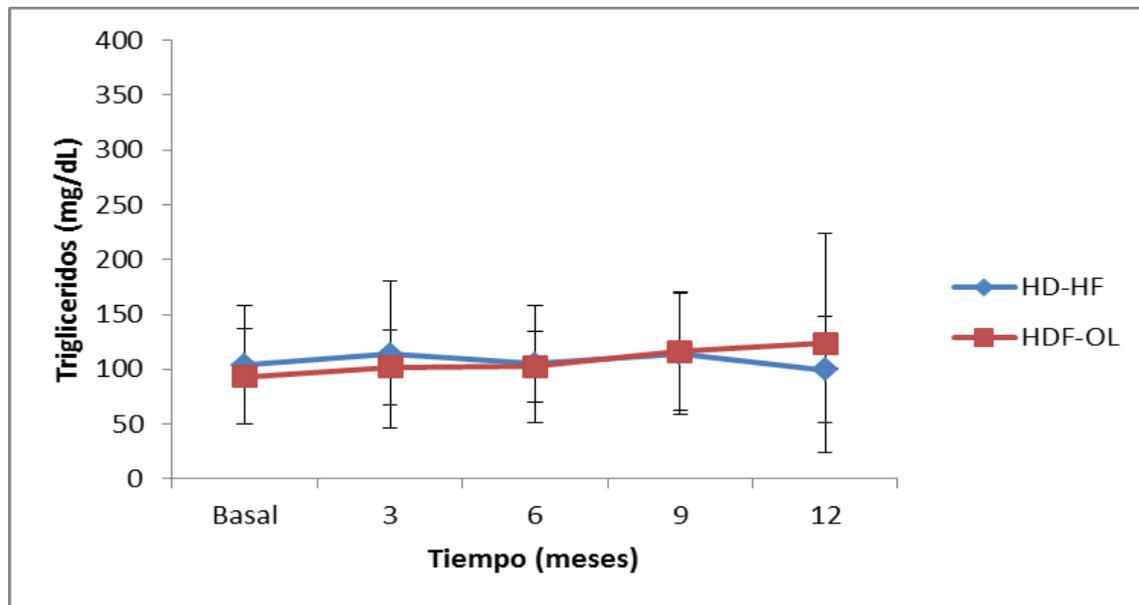
Los resultados de triglicéridos son menores a tiempo basal en la población HD-OL aunque la diferencia no es estadísticamente significativa (Tabla 15), el análisis de percentiles muestra como el 25% de la población de los seleccionados para HD-HF tiene valores de triglicéridos superiores a 160 mg/dL, sin embargo el percentil 75 en la población HD-OL es de 122,5 mg/dL.

**Tabla 15.** Triglicéridos plasmáticos de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
HD-HF	Media	113	115	105	114	99,41	
	Desviación Típica	67,71	72,15	53,90	55,28	48,63	
	Percentiles	25	72,25	64	67,75	72	66
	50	92	88	95	112	90	
	75	160	139	125	147	128	
HDF-OL	Media	93,50	102	102	116	124	
	Desviación Típica	42,88	33,87	31,98	54,06	99,59	
	Percentiles	25	55,75	71,00	82,25	84,25	81
	50	88,50	98,50	100	97	100	
	75	123	124	118	146	124	
<b>p</b>		0,584	0,86	0,84	0,855	0,637	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

El análisis evolutivo, Figura 11, muestra un incremento no significativo en los niveles de triglicéridos plasmáticos a lo largo del año de seguimiento en el grupo en HDF-OL, de 93 mg/dL a tiempo basal a 123 mg/dL. A diferencia del grupo en HD- HF, donde descendió la media de 112,7 mg/dL al inicio a 99,4 mg/dL a final del estudio.



**Figura 11.** Evolución de los triglicéridos plasmáticos de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ , LSD test) de los valores.

#### **4.2.2.4. Otros**

##### **4.2.2.4.1. PCR**

De todos los reactantes de fase aguda y marcadores de inflamación vascular del plasma, la PCR es el marcador de riesgo cardiovascular más utilizado, gracias a su reproducibilidad, bajo coste y disponibilidad en la clínica. La PCR es un sub-producto bioquímico inespecífico, producido por los hepatocitos como respuesta a niveles elevados de IL-6, que se eleva rápidamente tras un estímulo inflamatorio.

Aunque hasta la fecha carecemos de valores de referencia de PCR para pacientes con ERC, sí parece claro que los niveles de PCR suelen, por lo general, estar por encima del límite de 3 mg/L de la población general. Los pacientes en diálisis en Europa suelen tener una PCR media de 7–8 mg/L y una mediana de 4–5 mg/L. Hallazgos similares se han observado en pacientes con ERC en estadios 3-5. Según el estudio NHANES, alrededor del 50% de los pacientes con un aclaramiento renal entre 15-60 ml/min tienen unos niveles de PCR >2,1 mg/L. Los pacientes diabéticos generalmente tienen unas concentraciones séricas de PCR ligeramente mayores (media 10 mg/L) que los no diabéticos. Diversos autores han sugerido un punto de corte pragmático para los niveles de PCR en los pacientes en diálisis en torno a los 5 mg/L. Sin embargo, este punto de corte no está consensuado por ninguna guía clínica y dadas las diferencias étnicas y culturales de muchos países, no es extrapolable a todas las poblaciones de diálisis.

**Tabla 16.** PCR de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

PCR (mg/L)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	19,16	14,52	14,86	12,63	14,76	
	Desviación Típica	19,75	17,44	21,90	16,87	25,82	
	Percentiles	25	3,25	3,00	2,50	3,00	2,50
		50	13,00	7,00	8,00	8,00	6,00
75		27,50	18,00	18,00	11,00	15,50	
<b>HDF-OL</b>	Media	11,74	10,77	9,23	6,92	12,53	
	Desviación Típica	11,73	20,02	15,70	9,00	16,51	
	Percentiles	25	2,45	0,91	0,44	0,49	1,00
		50	6,30	5,21	2,35	5,79	5,00
75		20,10	14,18	12,43	8,49	16,00	
<b>p</b>		0,695	0,147	0,078	0,079	0,662	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En nuestro estudio encontramos que ambas poblaciones (Tabla 16) partían en su mayoría de niveles de PCR elevados, de media en el grupo de HD-HF 19,1 mg/L, mientras que en el grupo en HDF-OL 11,7 mg/L.

En el grupo de HD-HF, la PCR descendió ligeramente a lo largo del año de seguimiento hasta un 14,76 mg/L, lo mismo ocurrió si lo analizamos por percentiles (Tabla 13). En el grupo en HDF-OL observamos un descenso más pronunciado durante los 9 primeros meses, para finalmente elevarse en la última determinación a los 12 meses hasta cifras iniciales, sin embargo si lo analizamos por percentiles, vemos como existe un descenso en todos ellos hasta encontrarse en los niveles considerados como normales para la población en diálisis en los percentiles 25 y 50, con valores iguales o menores de 5 mg/L.

Encontramos una correlación inversa, estadísticamente significativa, en el grupo en HDF-OL entre PCR y creatinina ( $r=0,222$ ;  $p=0,035$ ), transferrina ( $r=0,358$ ;  $p=0,001$ ), colesterol total ( $r=0,334$ ;  $p=0,001$ ), LDL ( $r=0,296$ ;  $p=0,005$ ), y HDL ( $r=0,221$ ;  $p=0,036$ ), es decir, que niveles bajos de PCR se correlacionan con niveles altos de creatinina, transferrina, colesterol total, LDL y HDL, lo que indica que los pacientes con menos inflamación están mejor nutridos y viceversa.

En el grupo en HD-HF encontramos una correlación inversa, estadísticamente significativa, entre PCR y albúmina ( $r=0,215$   $p=0.029$ ), transferrina ( $r=0,436$   $p=0.000$ ) y HDL ( $r=0,362$   $p=0.000$ ), es decir que niveles altos de PCR se correlacionan con niveles bajos de albúmina, transferrina y HDL, lo que indica que los pacientes con más inflamación están peor nutridos y viceversa.

#### 4.2.2.4.2. Hemoglobina

Varios ensayos clínicos desarrollados en pacientes en diálisis y prediálisis, con/sin diabetes mellitus, sugieren que valores normales de hemoglobina no presentan ventajas clínicas relevantes y en cambio, pueden asociarse a algunos efectos adversos. Sin embargo, otros estudios demuestran que valores altos de hemoglobina se asocian a una mejor calidad de vida y capacidad para el ejercicio. Por tanto, la hemoglobina diana sigue siendo objeto de controversia y las guías de práctica clínica no están de acuerdo en los niveles a alcanzar.

Para la mayoría de los pacientes, tanto en casos de ERC como en casos en tratamiento sustitutivo, los niveles de hemoglobina deben mantenerse en 10-12 g/dL.

**Tabla 17.** Hemoglobina de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año.

HEMOGLOBINA (g/dL)		Basal	Tres Meses	Seis Meses	Nueve Meses	Doce Meses	
<b>HD-HF</b>	Media	11,43	11,02	11,25	11,28	11,38	
	Desviación Típica	1,40	1,50	1,10	1,50	1,63	
	Percentiles	25	10,62	9,90	10,22	10,30	10,15
		50	11,45	11,30	11,45	11,50	11,90
		75	12,20	12,40	12,25	12,50	12,45
<b>HDF-OL</b>	Media	11,24	11,17	11,47	11,26	11,88	
	Desviación Típica	1,24	1,26	1,06	1,15	1,31	
	Percentiles	25	10,22	10,40	10,67	10,35	10,70
		50	11,20	11,10	11,45	11,10	12,20
		75	11,77	11,95	12,35	12,07	13,00
<b>p</b>		0,555	0,981	0,762	0,619	0,316	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En nuestro estudio vemos como ambos grupos presentaban niveles medios de hemoglobina similares (Tabla 17) y en el rango óptimo aceptado para la población en hemodiálisis, estos valores no presentaron prácticamente variación a lo largo del año de seguimiento en ninguno de los grupos.

#### **4.3. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO OXIDATIVO ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE.**

Se han comparado los resultados obtenidos del estrés oxidativo entre los pacientes con ERC estadio 5D en hemodiálisis de alto flujo y en hemodiafiltración online, a lo largo del año de seguimiento, a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses.

Los parámetros medidos, descritos en el apartado de material y métodos, responden al análisis del estrés oxidativo en las diferentes poblaciones objeto de estudio. Así, para realizar dicha valoración se ha dispuesto fundamentalmente de cuatro tipos de datos. Por un lado, los que indican el estado antioxidante, medido como capacidad antioxidante total del plasma, a través del método ABTS, FRAP y la cuantificación de los Polifenoles (PF). En segundo lugar, estaría la determinación del estado redox, a través de la determinación del Glutation Reducido (GSH), Tiorredoxina (Trx) y el cociente entre el Glutation oxidado y el Glutation Reducido (GSSG/GSH). Continuando con el estudio, se encuentran los datos indicadores de biomarcadores de daño oxidativo a lípidos y proteínas, enmarcando las determinaciones de diferentes MDA y grupos carbonilo (GC). Por último, estaría la determinación de los niveles de la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO).

Los resultados obtenidos de la medición de los distintos parámetros en las diferentes poblaciones se resumen en las tablas y/o en los gráficos que se presentan a continuación.

**4.3.1. Comparativa de la capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo**

Se ha realizado el análisis estadístico comparativo entre todas las muestras de los pacientes en HDF-OL (N=105) y HD-HF (N=120) pre y posthemodiálisis, con independencia del tiempo, tanto en cada una de las técnicas, como entre ambas, obteniéndose el siguiente resultado.

Como podemos observar en la Tabla 18, perteneciente al grupo en HD-HF, en cuanto a la capacidad antioxidante se refiere, encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los valores pre y posthemodiálisis para ABTS y FRAP, aumentando en el primer caso ( $p=0,0001$ ) y disminuyendo en el segundo ( $p=0,0001$ ) en relación a una sesión de diálisis. También encontramos diferencias significativas en el caso de la Tiorredoxina y de la IDO, con una reducción de las mismas posthemodiálisis ( $p=0,0001$ ,  $p=0,00007$ ).

**Tabla 18.** Capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes dializados con HD-HF pre y posthemodiálisis.

HD-HF	PRE	POST	P
ABTS (mM trolox)	2,96±0,74	3,295±0,638	0,0001
FRAP (mM FeSO4)	0,727±0,196	0,428±0,129	0,0001
PF (µg/ml ac. galico)	1035±323	1009±314	0,5430
TRX (µg/mL)	77,92±22,4	62,74±22,2	0,0001
MDA (µM)	2,122±0,819	2,116±0,94	0,9586
GC (nmol/mg prot)	1,558±0,595	1,505±0,748	0,5950
GSH (µmol/g Hb)	2,105±1,53	2,004±1,435	0,6190
GSH/GSSG	0,592±0,47	0,602±0,477	0,8740
IDO (µM quinurenina)	4,669±2,039	2,564±1,25	0,00007

Valores de  $p<0,05$  indica diferencia estadísticamente significativa cuando se compara pre y posthemodiálisis.

En la Tabla 19, perteneciente al grupo en HDF-OL, observamos diferencias estadísticamente significativas en ABTS, con un aumento posthemodiálisis ( $p=0,0026$ ) y una reducción posthemodiálisis para FRAP y Polifenoles

( $p=0,0000$ ,  $p=0,0000$ ). Encontramos también una reducción estadísticamente significativa para la Tiorredoxina, MDA e IDO ( $p=0,0000$ ,  $p=0,03$ ,  $p=0,0000$ ).

**Tabla 19.** Capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes dializados con HDF-OL pre y posthemodiálisis.

HDF-OL	PRE	POST	P
ABTS (mM trolox)	2,96±0,59	3,243±0,611	0,0026
FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> )	0,765±0,188	0,449±0,16	0,0000
PF (µg/ml ac. galico)	1278±408	986±327	0,0000
TRX (µg/mL)	100±33	77±30	0,0000
MDA (µM)	2,349±1,067	2,006±0,96	0,0300
GC (nmol/mg prot)	1,624±0,596	1,460±0,66	0,0950
GSH (µmol/g Hb)	2,340±1,66	2,535±1.14	0,4127
GSH/GSSG	0,427±0,31	0,410±0.311	0,7380
IDO (µM quinurenina)	4,733±1,89	2,155±1,074	0,0000

Valores de  $p<0,05$  indica diferencia estadísticamente significativa cuando se compara pre y posthemodiálisis.

Los resultados de la comparativa de las muestras entre las dos técnicas en cuanto a los valores obtenidos pre y posthemodiálisis, se muestran en la Tabla 20, observamos que los pacientes en HDF-OL presentaron unos niveles prehemodiálisis de Polifenoles superiores a los pacientes en HD-HF ( $p=0,001$ ), indicando una mayor capacidad antioxidante. Los pacientes en HDF-OL tienen niveles pre y posthemodiálisis más elevados de Tiorredoxina que los pacientes en HD-HF ( $p=0,0001$  y  $p=0,0001$ ). El grupo de pacientes en HDF-OL tiene niveles posthemodiálisis de GSH superiores a los del grupo en HD-HF ( $p=0,0109$ ). En cuanto al cociente GSSG/GSH observamos que los pacientes en HD-HF tienen valores significativamente superiores tanto pre como posthemodiálisis ( $p=0,0076$ ,  $p=0,0024$ ) a los de los pacientes en HDF-OL, indicando así un mayor estrés oxidativo en el grupo HD-HF. Los pacientes en HDF-OL tienen niveles inferiores de IDO posthemodiálisis ( $p=0,0221$ ) que los pacientes en HD-HF.

**Tabla 20.** Valores de significancia (p) cuando se compara la capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL pre y posthemodiálisis.

	Valor de p	
	PRE HD-HF – PRE HDF-OL	POST HD-HF – POST HDF-OL
<b>ABTS</b>	0,8861	0,5072
<b>FRAP</b>	0,1762	0,2909
<b>PF</b>	0,001	0,5584
<b>TRX</b>	0,0001	0,0001
<b>MDA</b>	0,1081	0,3959
<b>GC</b>	0,5031	0,7012
<b>GSH</b>	0,3277	0,0109
<b>GSH/GSSG</b>	0,0076	0,0024
<b>IDO</b>	0,7986	0,0221

Valores de  $p < 0,05$  indica diferencia estadísticamente significativa cuando se compara pre y posthemodiálisis.

En la tabla 21 observamos la comparativa de la relación entre los valores pre y posthemodiálisis de ambas técnicas, encontramos un resultado de dicho cociente mayor para Polifenoles, Tiorredoxina, MDA e IDO ( $p=0,004$ ,  $p=0,0154$ ,  $p=0,0252$ ,  $p=0,0103$ ), lo que supone una reducción mayor y significativa de los niveles plásmaticos en HDF-OL para estas sustancias. Este resultado nos indica en el caso del cociente GSSG/GSH, que el hecho de que los pacientes en HDF-OL tengan valores más bajos que los pacientes en HD-HF, lo que indica un menor estrés oxidativo, no está en relación a la técnica, porque no existen diferencias estadísticamente significativas en la relación pre y posthemodiálisis en este cociente ( $p=0,2871$ ), es decir que la reducción plasmática es similar en ambas técnicas.

**Tabla 21.** Relación de los niveles pre/posthemodiálisis en pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL.

	HD-HF (pre/post)	HDF-OL (pre/post)	P
ABTS	2,96±0,74	3,295±0,638	0,0001
FRAP	0,727±0,196	0,428±0,129	0,0001
PF	1035±323	1009±314	0,5430
TRX	77,92±22,4	62,74±22,2	0,0001
MDA	2,122±0,819	2,116±0,94	0,9586
GC	1,558±0,595	1,505±0,748	0,5950
GSH	2,105±1,53	2,004±1,435	0,6190
GSH/GSSG	0,592±0,47	0,602±0,477	0,8740
IDO	4,669±2,039	2,564±1,25	0,00007

Valores de  $p < 0,05$  indica diferencia estadísticamente significativa cuando se compara pre y posthemodiálisis.

#### 4.3.2. Comparativa de la capacidad antioxidante y biomarcadores de estrés oxidativo en el tiempo

##### 4.3.2.1. Capacidad antioxidante total del plasma

##### 4.3.2.1.1. Capacidad estabilizadora del radical ABTS<sup>+</sup>

En la tabla 22, se recoge el valor promedio junto con la desviación típica obtenida de la determinación de los parámetros indicadores de la capacidad antioxidante total del plasma evaluado por el método ABTS. No se observan diferencias significativas entre las dos técnicas.

**Tabla 22.** Niveles de ABTS de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

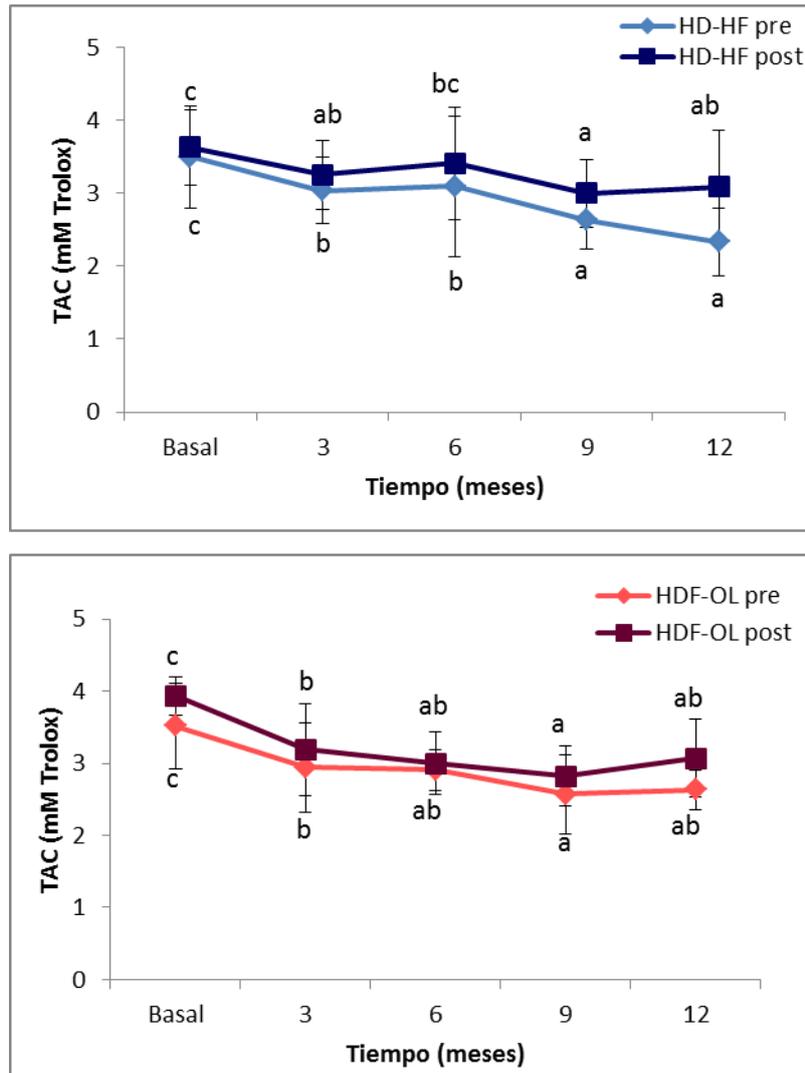
ABTS (mM trolox)		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	3,490	3,630	3,036	3,250	3,091	3,410	2,635	2,997	2,330	3,085	
	Desviación Típica	0,698	0,516	0,455	0,478	0,958	0,772	0,394	0,466	0,462	0,771	
	Percentiles	25	2,948	3,373	2,679	2,962	2,474	2,787	2,284	2,635	1,999	2,536
		50	3,421	3,617	3,016	3,257	2,691	3,234	2,564	2,989	2,104	3,005
	75	4,164	4,020	3,400	3,474	3,464	4,003	2,980	3,377	2,667	3,437	
<b>p (pre-post)</b>		0,256		0,081		0,012		0,001		0,001		
HDF-OL	Media	3,595	3,934	2,947	3,193	2,905	2,998	2,571	2,818	2,629	3,071	
	Desviación Típica	0,595	0,266	0,619	0,637	0,288	0,431	0,551	0,417	0,279	0,539	
	Percentiles	25	2,831	3,763	2,478	2,640	2,731	2,799	2,091	2,461	2,451	2,587
		50	3,715	3,917	3,064	2,976	2,891	2,941	2,573	2,841	2,535	3,197
	75	4,004	4,090	3,386	3,747	3,047	3,285	2,808	3,117	2,775	3,393	
<b>p (pre-post)</b>		0,024		0,18		0,31		0,016		0,0152		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,945	0,036	0,837	0,508	0,513	0,174	0,560	0,274	0,037	0,904	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Observamos que la diferencia entre los valores promedio pre y post realización de ambas técnicas, es estadísticamente significativa, fundamentalmente en las determinaciones de los 9 y 12 meses, es decir que la diálisis de ambas técnicas ha influido en el capacidad antioxidante total, en este caso aumentando la capacidad estabilizadora del radical ABTS.

Como podemos ver en la tabla 22, los valores promedio son similares en ambos grupos a lo largo del año de seguimiento, tanto pre como posthemodiálisis, salvo en dos ocasiones, donde son estadísticamente significativos, más altos en el grupo en HDF-OL, post hemodiálisis en la determinación inicial ( $p= 0.036$ ) y prehemodiálisis al año de seguimiento, está diferencia al final del periodo de seguimiento es favorable para el grupo en HDF-OL, puesto que supone que este grupo concluye el periodo de seguimiento con un menor estado inflamatorio que el grupo en HD-HF, y esta diferencia es estadísticamente significativa ( $p= 0.037$ ).

En las figuras 12 se representa la capacidad antioxidante total a lo largo del año de estudio. Para ambas técnicas existe un descenso significativo de los valores promedio a lo largo del año de seguimiento, siendo la evolución paralela para las muestras pre y postdiálisis.



**Figuras 12.** Evolución de la TAC (ABTS) de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.1.2. Capacidad antioxidante total reductora FRAP

En la tabla 23, se observa que los valores de FRAP, como indicador de la capacidad antioxidante total medida como poder reductor del plasma, disminuyen en ambas técnicas después de la diálisis. Es decir que la realización de ambas técnicas de diálisis supone una pérdida de capacidad antioxidante total en relación a FRAP.

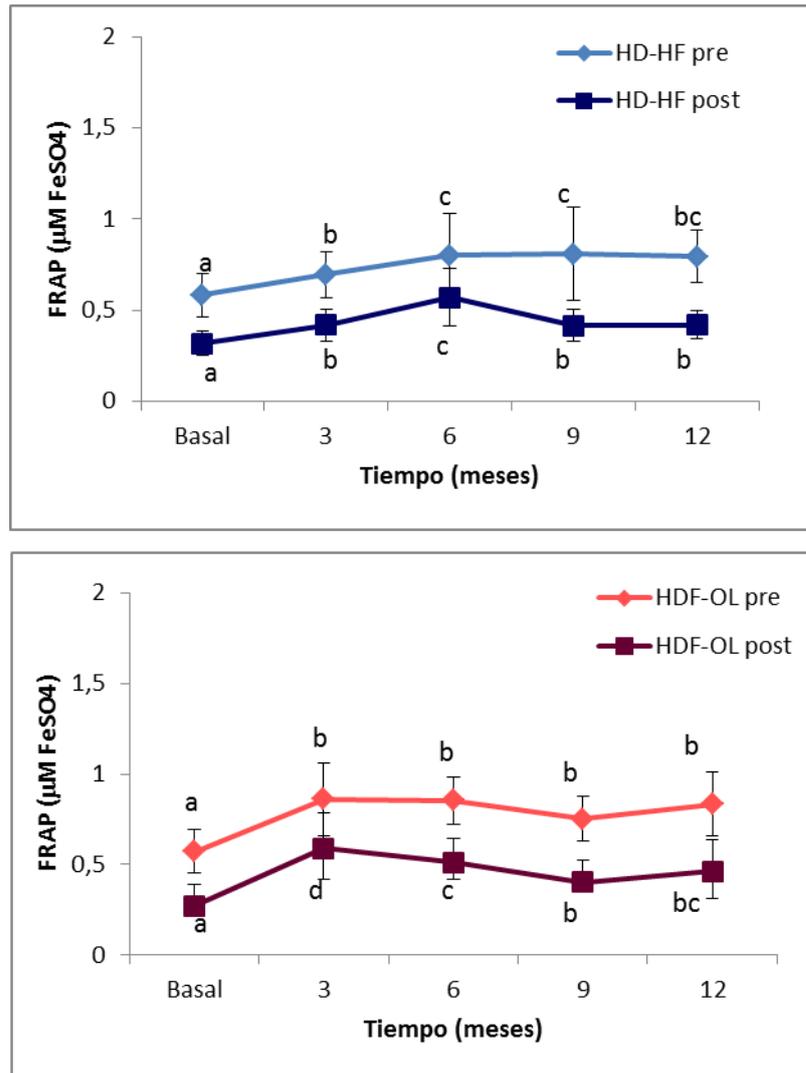
En la tabla 23 vemos como las medias de las determinaciones de FRAP, a lo largo del periodo de seguimiento, son superiores en el grupo en HD-HF, al inicio siendo esta diferencia estadísticamente significativa posthemodiálisis ( $p=0.022$ ). Sin embargo se observa que a los 3 meses esta diferencia se invierte, y vemos que la media es mayor en los pacientes en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis,  $p=0.011$  y  $p=0.000$ , respectivamente. No observándose diferencias significativas entre ambas técnicas en los siguientes meses de seguimiento

**Tabla 23.** Niveles de FRAP plasmáticos de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL.

FRAP ( $\mu\text{M FeSO}_4$ )		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	0,586	0,319	0,695	0,420	0,802	0,571	0,810	0,416	0,796	0,421	
	Desviación Típica	0,119	0,065	0,129	0,087	0,228	0,159	0,258	0,088	0,141	0,077	
	Percentiles	25	0,481	0,256	0,582	0,344	0,646	0,427	0,667	0,359	0,698	0,372
		50	0,599	0,330	0,712	0,416	0,863	0,592	0,731	0,406	0,781	0,421
		75	0,691	0,363	0,797	0,465	1,006	0,705	0,884	0,450	0,937	0,466
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,0001		0,0001		0,001		0,001		
HDF-OL	Media	0,573	0,272	0,860	0,590	0,852	0,514	0,752	0,403	0,834	0,463	
	Desviación Típica	0,121	0,038	0,198	0,170	0,131	0,098	0,122	0,045	0,175	0,149	
	Percentiles	25	0,455	0,248	0,651	0,504	0,749	0,453	0,697	0,371	0,776	0,401
		50	0,576	0,278	0,879	0,579	0,850	0,501	0,745	0,396	0,814	0,418
		75	0,674	0,289	1,015	0,688	0,946	0,559	0,827	0,439	0,941	0,449
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,001		0,001		0,001		0,001		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,832	0,022	0,011	0,000	0,535	0,345	0,950	0,894	0,308	0,790	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Cuando realizamos el análisis evolutivo a lo largo del año (Figuras 13), se observa para las dos técnicas de hemodiálisis un aumento significativo a los tres meses que se mantiene ligeramente a lo largo del año de seguimiento. Este incremento al año fue mayor para los pacientes dializados con la técnica HDF-OL.



**Figuras 13.** Evolución de FRAP en plasma de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.1.3. Índice de Polifenoles (PF)

Otro parámetro indicador de la capacidad antioxidante asociado a la dieta es el nivel de polifenoles medido por el método de Folin-Caltou. Para PF la diferencia entre los valores promedio pre y post realización de las técnicas, es estadísticamente significativa en la determinación basal y a los 3 meses en el grupo en HDF-OL, en las determinaciones posteriores no existen diferencias estadísticamente significativas, podemos decir que la realización de ambas técnicas prácticamente no modifica los valores para polifenoles, salvo en la

determinación basal y a los 3 meses en el grupo HDF-OL donde existe un llamativo descenso del valor promedio posthemodiafiltración online.

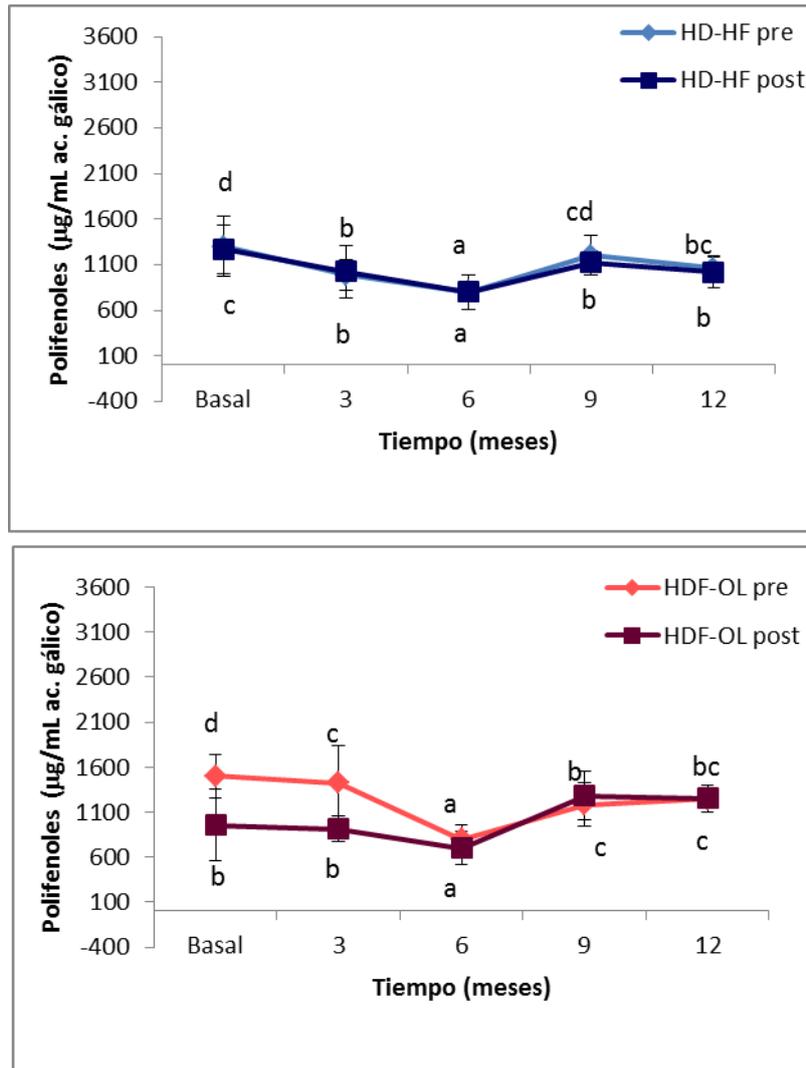
**Tabla 24.** Niveles de polifenoles totales en plasma de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

POLIFENOLES (µg/ml ac. galico)		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)
HD-HF	Media	1299	1268	989	1023	624	609	1204	1124	1062	1018
	Desviación Típica	328	267	172	288	187	191	223	132	139	168
	Percentiles 25	1205	1063	886	773	557	505	1031	1013	987	926
	50	1333	1336	959	1023	671	586	1164	1126	1064	980
	75	1473	1418	1062	1219	717	712	1238	1239	1173	1064
<b>p (pre-post)</b>		0,75		0,59		0,74		0,073		0,396	
HDF-OL	Media	1693	952	1422	911	787	693	1181	1283	1244	1252
	Desviación Típica	240	399	410	139	162	184	240	273	79	148
	Percentiles 25	1465	622	1126	819	686	565	1032	1071	1185	1151
	50	1759	780	1392	914	754	637	1174	1258	1238	1215
	75	1836	1347	1568	1010	833	744	1285	1464	1307	1414
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,0001		0,14		0,23		0,85	
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,000	0,014	0,000	0,145	0,004	0,136	0,913	0,094	0,000	0,001

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

Como podemos observar en las figuras 14, los niveles medios de las determinaciones de polifenoles disminuyen significativamente en ambos grupos a lo largo del año de seguimiento. El comportamiento es una disminución hasta los seis meses para de nuevo incrementarse al año de estudio. Al ser un parámetro dependiente de la dieta, puede ser esta la que determine este tipo de comportamiento, ya que la determinación de los 6 meses coincidió con el inicio de la primavera, lo que conlleva una dieta más apetecible y variada en cuanto a frutas y verduras se refiere.

Al inicio del estudio, las medias de las determinaciones prehemodiálisis de PF son superiores ( $p=0.000$ ) para el grupo en HDF-OL, esta diferencia se mantiene a los 3 meses y a los 6 meses ( $p=0.000$  y  $0.004$  respectivamente). En las determinaciones a los 9 meses, las medias son similares en los dos grupos. Sin embargo al año de seguimiento la media es mayor en el grupo en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis ( $p=0.000$  y  $0.001$  respectivamente).



**Figuras 14.** Evolución de los niveles de polifenoles totales en plasma de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.2. Estado Redox

##### 4.3.2.2.1. Niveles de Glutación Reducido (GSH)

Los resultados de Glutación Reducido (GSH) (Tabla 25), indican que las diferencias entre los valores promedio pre y post realización de ambas técnicas, no son estadísticamente significativas, salvo al inicio y en la determinación de los 12 meses en el grupo en HDF-OL, es decir, que los

valores promedios pre y post ambas técnicas no se vieron prácticamente modificados.

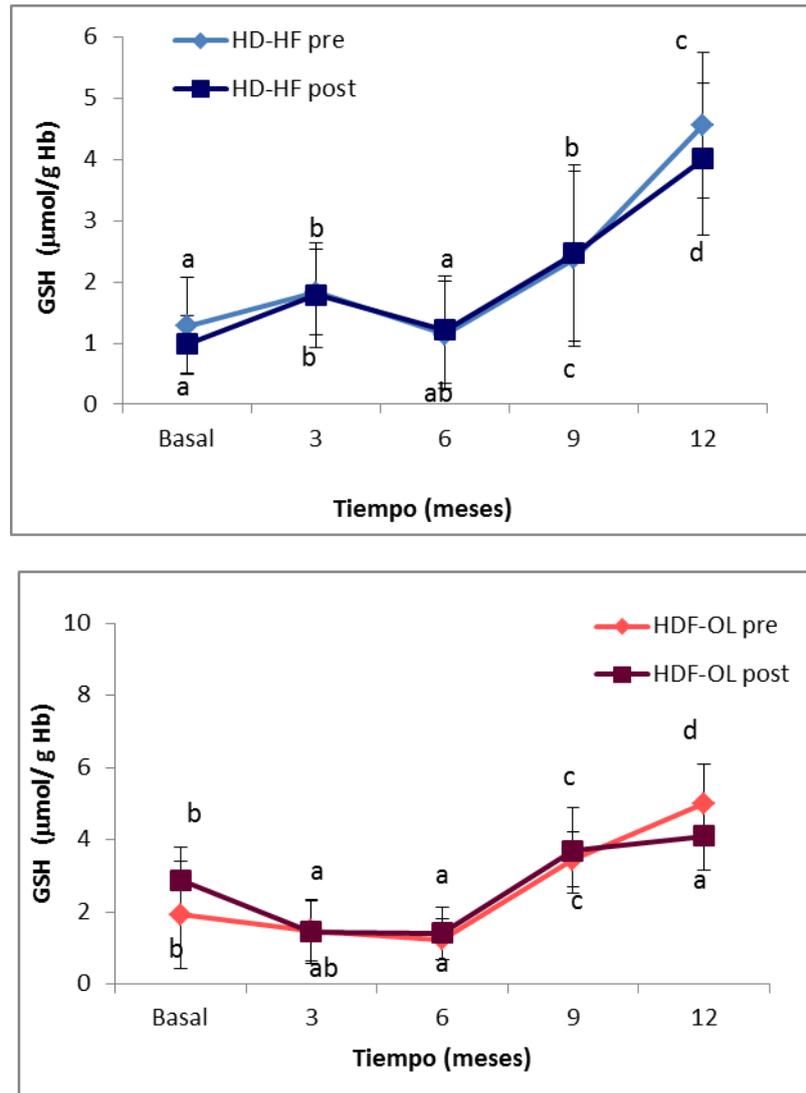
Como podemos ver en la Tabla 25, la media de las determinaciones al inicio es superior para el grupo en HDF-OL, aunque esta diferencia sólo es estadísticamente significativa para la media de las determinaciones posthemodiálisis ( $p=0.000$ ). A los 3 y 6 meses las medias de las determinaciones son similares. Sin embargo, vemos como las medias de las determinaciones a los 9 y 12 meses son superiores en el grupo en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis, aunque esta diferencia sólo es significativa a los 9 meses pre y posthemodiálisis ( $p=0.036$  y  $0.013$ , respectivamente).

**Tabla 25.** Niveles de glutatión (GSH) de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

GSH ( $\mu\text{mol/g Hb}$ )		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	1,273	0,987	1,834	1,792	1,137	1,218	2,380	2,466	4,562	4,015	
	Desviación Típica	0,794	0,468	0,691	0,856	0,869	0,882	1,428	1,439	1,193	1,242	
	Percentiles	25	0,778	0,761	1,252	1,103	0,581	0,481	1,285	1,433	3,817	3,156
		50	1,095	0,888	1,860	1,739	0,795	0,893	1,962	1,859	4,759	4,126
		75	1,548	1,200	2,274	2,435	1,369	1,982	3,930	3,190	5,156	4,781
<b>p (pre-post)</b>		0,11		0,799		0,412		0,843		0,122		
HDF-OL	Media	1,912	2,869	1,485	1,448	1,234	1,405	3,451	3,699	4,993	4,093	
	Desviación Típica	1,473	0,935	0,862	0,870	0,569	0,732	0,770	1,176	1,111	0,937	
	Percentiles	25	0,999	2,259	0,723	0,515	0,895	0,803	2,912	2,587	4,463	3,202
		50	1,469	2,471	1,385	1,422	1,211	1,435	3,594	3,946	5,016	4,226
		75	2,45	3,574	2,153	2,164	1,460	1,910	4,149	4,702	5,829	4,603
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,78		0,056		0,34		0,055		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,079	0,000	0,115	0,304	0,182	0,296	0,036	0,013	0,378	0,841	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En relación al estudio evolutivo (Figuras 15) se observa que el Glutatión Reducido (GSH), experimenta a lo largo del año de seguimiento un aumento significativo, hasta más del doble de los valores basales en el grupo en HDF-OL y más del triple de los valores en el grupo en HD- HF.



**Figuras 15.** Evolución de los niveles de GSH de los pacientes en HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.2.2. Niveles de tiorredoxina (Trx)

Para Tiorredoxina, la diferencia entre los valores pre y post realización de ambas técnicas, a lo largo del año de seguimiento, es estadísticamente significativa, en todas las determinaciones salvo en la de los 9 meses, para el grupo en HDF-OL y a partir de los 6 meses en el grupo en HD-HF. Los valores promedio de Trx experimentan un descenso en relación a la realización de ambas técnicas, es decir, que existe una pérdida de antioxidantes, en cuanto a Trx se refiere.

Para ambas técnicas existe un descenso de los valores promedio a lo largo del año de seguimiento, existe una pérdida antioxidante en relación a Trx.

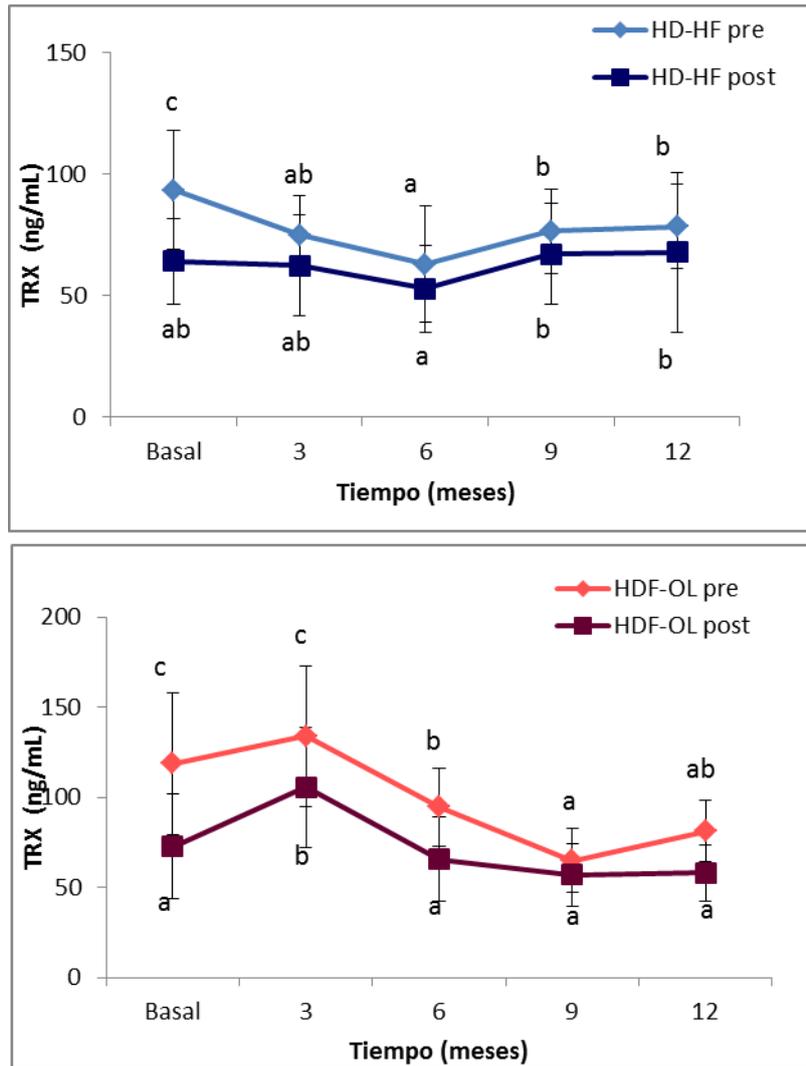
En la Tabla 26 podemos ver como las medias de las determinaciones prehemodiálisis al inicio son superiores en el grupo en HDF-OL ( $p=0.028$ ), esta diferencia se mantiene a los 3 y 6 meses ( $p=0.000$  y  $0.000$ , respectivamente), sin embargo las medias de las determinaciones a los 9 y 12 meses de seguimiento son similares en ambos grupos, aunque los valores son superiores, de manera no estadísticamente significativa, para el grupo en HDF-OL a los 12 meses.

**Tabla 26.** Niveles de tiorredoxina plasmática en los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

TIOREDOXINA (ng/mL)		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)
HD-HF	Media	93,37	64,27	75,04	62,42	62,98	52,88	76,47	67,23	78,41	67,80
	Desviación Típica	24,52	17,64	16,30	20,86	23,87	27,81	17,53	20,69	17,42	32,79
	Percentiles	77,11	52,85	60,69	48,48	44,75	41,50	60,70	49,72	62,86	48,15
	25	97,47	64,81	75,10	59,65	62,58	50,73	79,21	61,80	78,80	60,75
	50	112	76,81	86,33	72,08	82,91	64,11	86,34	82,59	89,98	73,79
<b>p (pre-post)</b>		0,0001		0,005		0,05		0,16		0,17	
HDF-OL	Media	119	72,74	134	106	94,57	65,72	64,69	57,25	81,40	58,26
	Desviación Típica	39,13	29,01	39,18	33,19	21,60	23,51	17,66	17,42	16,94	15,58
	Percentiles	89,75	50,59	104,30	86,89	83,88	44,48	54,62	41,38	68,48	47,39
	25	115	64,69	122	93,30	92,40	64,83	62,01	56,40	81,40	61,22
	50	137	84,31	160	117	109	70,27	75,66	69,55	95,49	66,70
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,002		0,001		0,16		0,07	
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,028	0,785	0,000	0,000	0,000	0,081	0,069	0,155	0,565	0,572

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En las figuras 16 se puede observar como los cambios al año son significativos para las muestras prediálisis, observándose una reducción en las HD-HF a los tres meses que se mantiene hasta los 12 meses, sin embargo en los pacientes dializados con HDF-OL, estos niveles disminuyen a los seis meses y se mantienen más o menos estables hasta los 12 meses.



**Figuras 16.** Evolución de los niveles de tioredoxina (TRX) plasmáticos de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.2.3. Niveles de GSSG/GSH

En el caso de la relación GSSG/GSH, no existieron diferencias estadísticamente significativas, entre los valores pre y post realización de ambas técnicas, a lo largo del año de seguimiento.

Como podemos en la Tabla 27, es el grupo en HD-HF, el que parte con unas medias mayores para el cociente entre Glutacion Oxidado y Glutacion Reducido (GSSG/GSH), tanto en las determinaciones pre como posthemodiálisis, siendo

esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.005$  y  $0.001$ , respectivamente). A lo largo del año de seguimiento, las medias de las determinaciones continúan siendo superiores en el grupo en HD-HF, aunque esta diferencia sólo es estadísticamente significativa a los 9 meses tanto en las determinaciones pre y posthemodiálisis ( $p=0.010$  y  $0.022$  respectivamente).

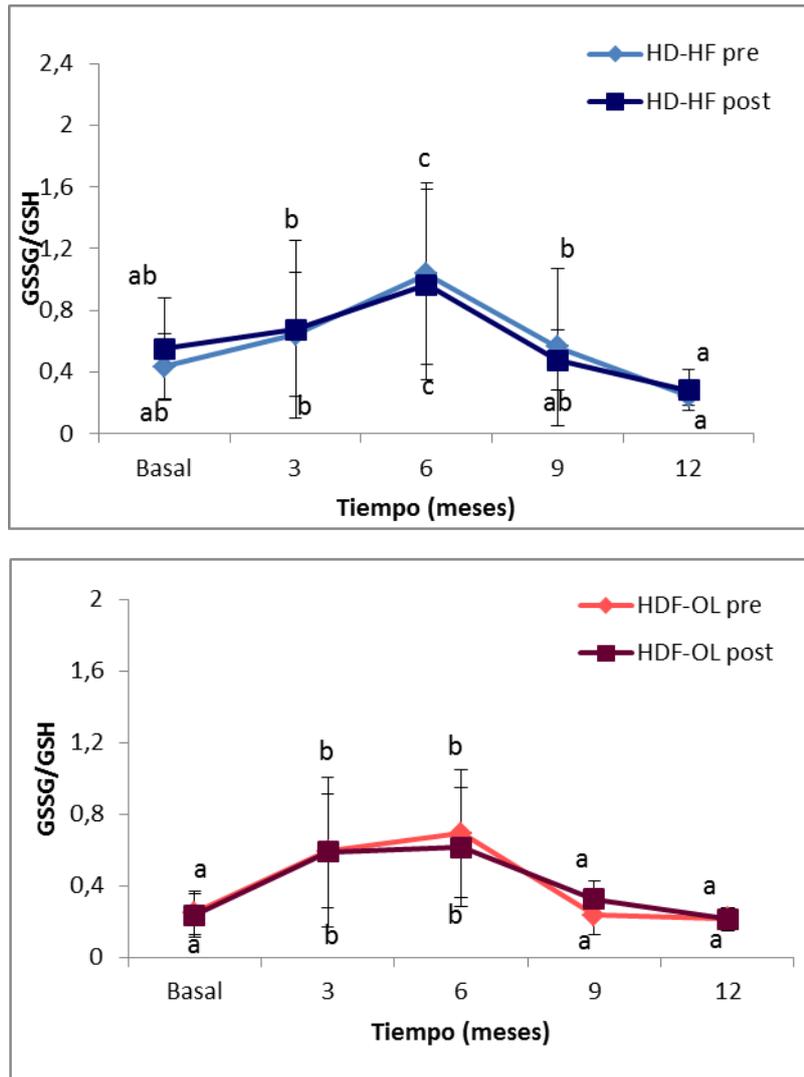
**Tabla 27.** Relación GSSG/GSH de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

GSSG/GSH		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	0,432	0,552	0,641	0,675	1,037	0,966	0,561	0,476	0,242	0,283	
	Desviación Típica	0,217	0,328	0,403	0,574	0,591	0,615	0,508	0,197	0,061	0,132	
	Percentiles	25	0,304	0,271	0,392	0,211	0,476	0,506	0,248	0,315	0,206	0,205
		50	0,399	0,535	0,532	0,488	1,054	0,880	0,385	0,472	0,243	0,238
		75	0,556	0,689	0,726	0,923	1,435	1,410	0,641	0,592	0,292	0,369
<b>p (pre-post)</b>		0,241		0,924		0,794		0,398		0,214		
HDF-OL	Media	0,252	0,236	0,595	0,592	0,693	0,617	0,237	0,325	0,221	0,215	
	Desviación Típica	0,122	0,121	0,318	0,417	0,358	0,334	0,111	0,106	0,057	0,062	
	Percentiles	25	0,147	0,142	0,379	0,329	0,442	0,356	0,155	0,237	0,184	0,154
		50	0,242	0,253	0,515	0,440	0,598	0,504	0,195	0,328	0,213	0,217
		75	0,368	0,317	0,795	0,790	0,928	0,923	0,318	0,406	0,248	0,255
<b>p (pre-post)</b>		0,637		0,334		0,1463		0,27		0,83		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,005	0,001	0,806	0,892	0,076	0,077	0,010	0,022	0,262	0,280	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En las figuras 17 se observa como un incremento significativo de los valores a los tres y seis meses, lo que indica un mayor grado de estado oxidativo durante este periodo para recuperar los valores basales a partir de los nueve y doce meses, volviendo al estado reducido basal.

Los niveles de GSSG/GSH en el grupo en HD-HF (Figura 17), experimentaron un descenso hasta casi la mitad, durante el año de seguimiento, mientras que los del grupo en HDF-OL, que partían de niveles estadísticamente significativos más bajos ( $p=0.005$ ), alcanzaron el año de seguimiento, incluso con un valor ligeramente inferior al del inicio, e inferior a los del grupo en HD-HF.



**Figuras 17.** Evolución de GSSG/GSH de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

#### 4.3.2.3. Biomarcadores del daño oxidativo

##### 4.3.2.3.1. Niveles del biomarcador de daño a proteínas grupos carbonilo (GC)

Observamos en la Tabla 28 que la diferencia entre los valores promedio pre y post realización de las técnicas, es estadísticamente significativa, únicamente al inicio, en la determinación basal en ambos grupos, en este caso el valor se

reduce, mientras que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores pre y post en las otras determinaciones.

En la Tabla 28 podemos ver como la media de las determinaciones al inicio, tanto pre como posthemodiálisis son mayores en el grupo en HD-HF, aunque esta diferencia sólo es estadísticamente significativa posthemodiálisis ( $p=0.003$ ). Posteriormente a lo largo del año de seguimiento vemos como no existe diferencias estadísticamente significativas en las medias de las determinaciones de ambos grupos, hasta los 12 meses donde la media de las determinaciones en el grupo HDF-OL es mayor que en el grupo en HD-HF, tanto pre como posthemodiálisis ( $p=0.000$  y  $0.007$ , respectivamente).

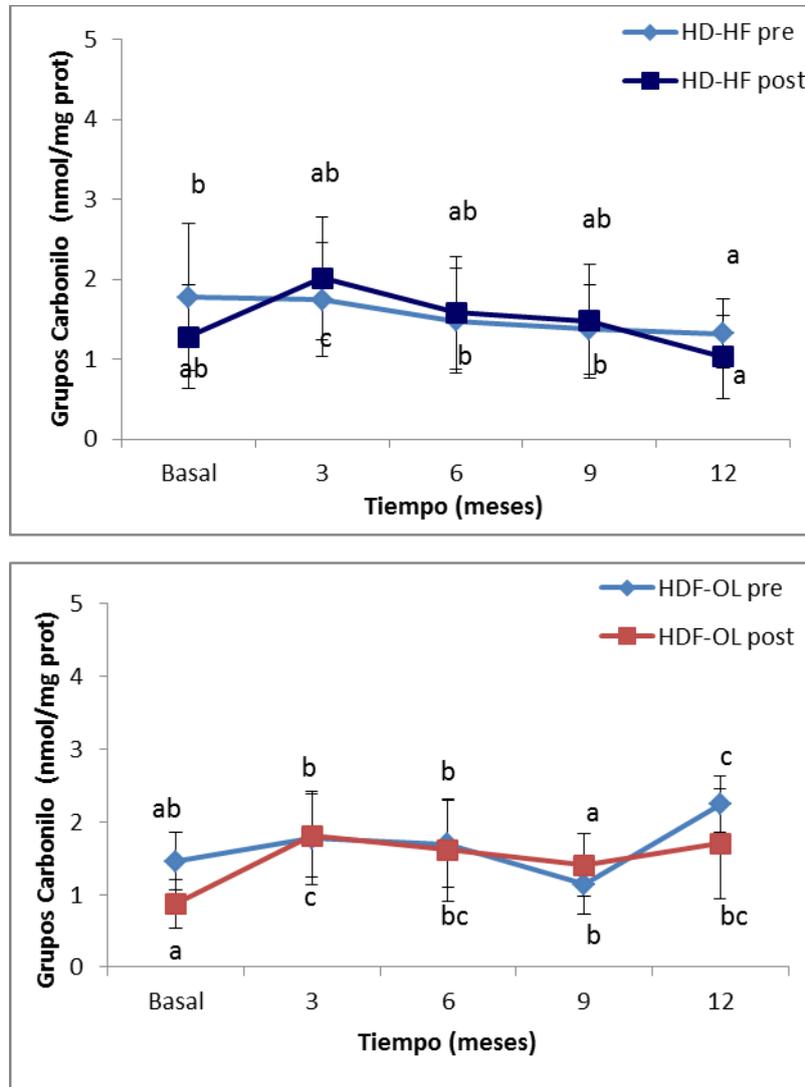
**Tabla 28.** Niveles de grupos carbonilo de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

GC (nmol/mg prot)		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	1,777	1,277	1,744	2,011	1,481	1,584	1,372	1,477	1,320	1,028	
	Desviación Típica	0,915	0,647	0,713	0,774	0,650	0,704	0,566	0,710	0,436	0,513	
	Percentiles	25	0,965	1,000	1,202	1,401	1,126	1,008	0,921	0,866	1,046	0,733
		50	1,493	1,085	1,606	1,966	1,273	1,492	1,282	1,190	1,196	0,942
	75	2,669	1,266	2,231	2,774	1,491	2,032	1,653	1,768	1,618	1,194	
<b>p (pre-post)</b>		0,036		0,299		0,59		0,49		0,144		
HDF-OL	Media	1,452	0,869	1,773	1,809	1,693	1,608	1,134	1,399	2,237	1,699	
	Desviación Típica	0,399	0,334	0,644	0,576	0,604	0,710	0,406	0,428	0,391	0,759	
	Percentiles	25	1,130	0,612	1,253	1,363	1,282	0,891	0,916	1,123	1,836	1,073
		50	1,431	0,846	1,816	1,739	1,630	1,612	1,033	1,339	2,197	1,519
	75	1,691	1,004	2,420	2,159	1,923	1,851	1,316	1,617	2,563	2,551	
<b>p (pre-post)</b>		0,001		0,715		0,603		0,141		0,089		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,527	0,003	0,807	0,385	0,053	0,814	0,229	0,855	0,000	0,007	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En las Figuras 18 se observa que durante el año de seguimiento los valores promedio para GC, en el grupo en HDF-OL, experimentan variaciones, se mantienen hasta a los 9 meses, donde caen por debajo del valor inicial, para terminar al por encima del valor inicial a los 12 meses. Niveles más altos se observan tanto en las muestras pre como post. Sin embargo, en el grupo en HD-HF, el valor promedio para GC se reduce a lo largo del año de seguimiento, para terminar a los 12 meses inferior al del grupo en HDF-OL, siendo esta

diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.000$ ), tanto en las muestras prediálisis como postdiálisis.



**Figuras 18.** Evolución de los grupos carbonilo los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

**4.3.2.3.2. Niveles del biomarcador de peroxidación lipídica MDA.**

En el caso de MDA, no existieron diferencias estadísticamente significativas, entre los valores pre y post realización de ambas técnicas, en la mayoría de las determinaciones su concentración plasmática disminuye posthemodialisis, sobre todo en el grupo en HDF-OL, pero esta diferencia no estadísticamente significativa salvo en la determinación basal en el grupo HD-HF.

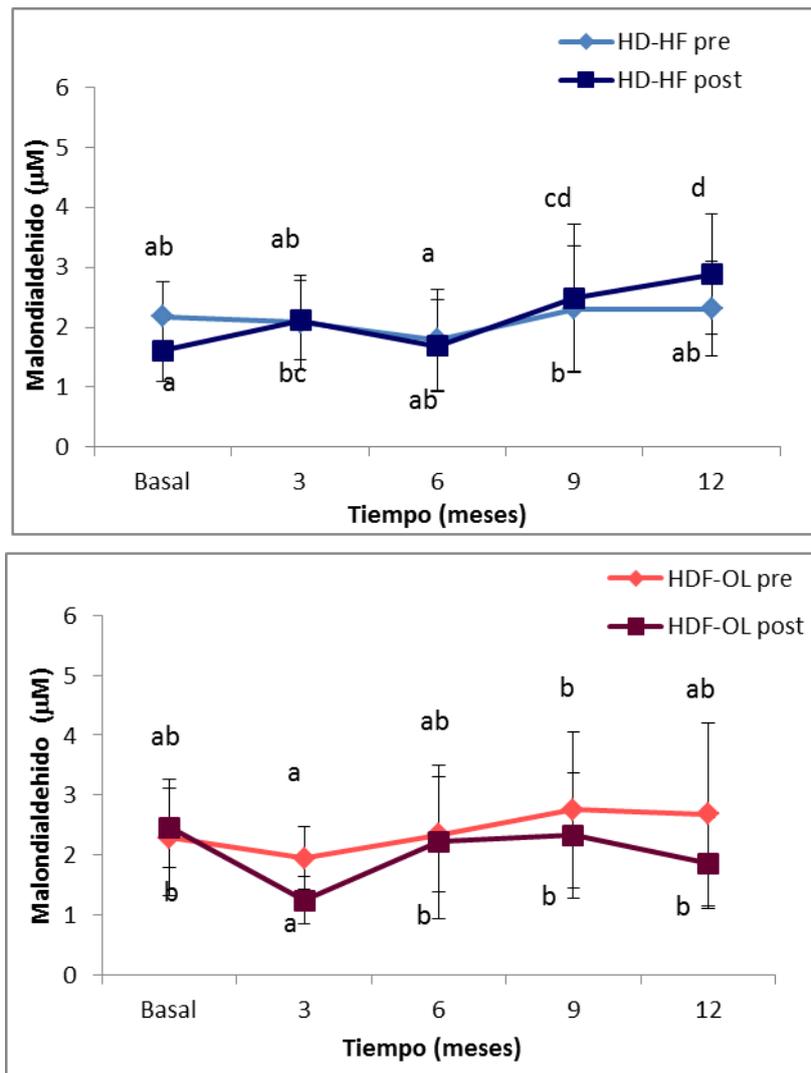
Como vemos en la Tabla 29, ambos grupos parten con unas medias similares para las determinaciones de MDA, aunque son ligeramente superiores en el grupo en HDF-OL, siendo esta diferencia estadísticamente significativa únicamente posthemodiálisis ( $p=0.000$ ), posteriormente en el año de seguimiento los valores se mantienen similares en ambos grupos, prehemodiálisis a los 6 meses, únicamente encontramos que los niveles fueron superiores para el grupo en HDF-OL ( $p=0.031$ ), y posthemodiálisis a los 3 y 12 meses la media de las determinaciones fue inferior en el grupo en HDF-OL ( $p=0.000$  y  $0.003$ , respectivamente).

**Tabla 29.** Niveles del biomarcador de peroxidación lipídica MDA en los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL.

MDA ( $\mu\text{M}$ )		Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)	
HD-HF	Media	2,179	1,611	2,080	2,117	1,792	1,690	2,305	2,491	2,309	2,882	
	Desviación Típica	0,589	0,509	0,784	0,661	0,839	0,765	1,055	1,230	0,789	1,000	
	Percentiles	25	1,769	1,258	1,770	1,612	1,233	1,158	1,277	1,517	1,648	2,044
		50	2,227	1,516	2,209	2,159	1,543	1,735	2,270	2,157	2,367	2,770
	75	2,505	1,845	2,584	2,642	2,280	2,085	3,214	3,142	3,016	3,376	
<b>p (pre-post)</b>		0,005		0,801		0,848		0,398		0,107		
HDF-OL	Media	2,293	2,459	1,951	1,246	2,343	2,224	2,761	2,333	2,681	1,864	
	Desviación Típica	0,973	0,654	0,515	0,399	0,961	1,275	1,301	1,042	1,524	0,751	
	Percentiles	25	1,431	2,112	1,557	0,800	1,908	1,506	1,412	1,166	1,767	1,403
		50	2,461	2,334	1,964	1,257	2,110	2,095	3,068	2,557	1,907	1,634
	75	2,814	2,785	2,338	1,565	2,938	2,730	3,767	3,069	3,628	2,146	
<b>p (pre-post)</b>		0,555		0,09		0,984		0,254		0,124		
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>		0,671	0,000	0,260	0,000	0,031	0,121	0,308	0,790	0,950	0,003	

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

A lo largo del año de seguimiento (Figuras 19), los valores promedio de MDA en ambos grupos se mantiene estables, no observándose en las muestras pre diálisis diferencias significativas, sin embargo destacan los resultados de las muestras post, donde se observa un incremento significativo después de la diálisis en los paciente dializados con HD-HF, posiblemente debido a la acción de la técnica, no observándose en los pacientes dializados con HDF-OL.



**Figuras 19.** Evolución del MDA de los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores.

4.3.2.4. Indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO)

En el caso de la IDO, en la Tabla 30 observamos que la diferencia entre los valores promedio pre y post realización de ambas técnicas, es estadísticamente significativa, a lo largo de todo el año de seguimiento, salvo en la determinación de los 9 meses en el grupo en HD-HF. Esto supone que existe una reducción plasmática de los niveles de IDO tanto en una sesión de hemodiálisis de alto flujo como en una sesión de hemodiafiltración online, pero parece más destacado en la HDF-OL.

El grupo en HD-HF parte del valor promedio más alto para IDO, este valor a los 12 meses de seguimiento se encuentra ligeramente aumentado, ocurre lo mismo para el grupo en HDF-OL.

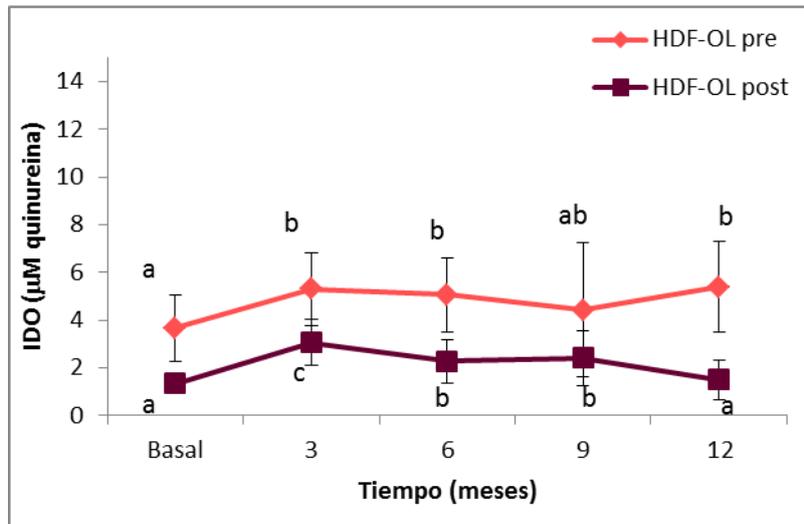
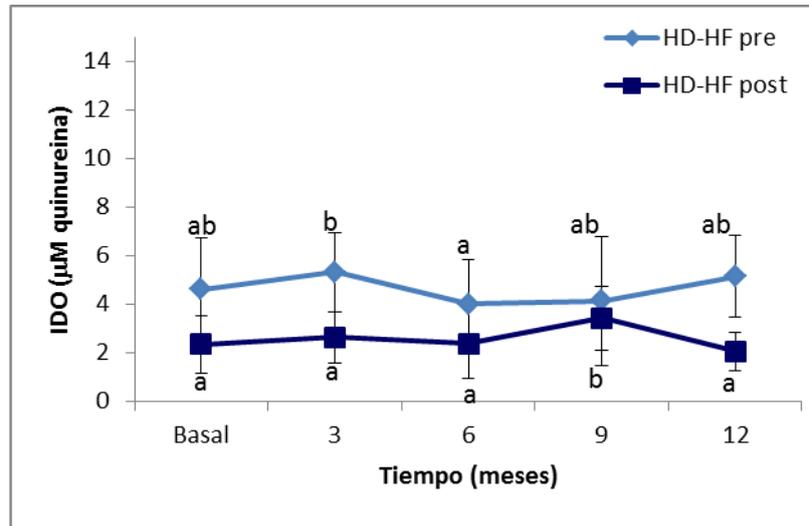
**Tabla 30.** Niveles de quinurenina como indicador de la actividad IDO en los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año.

IDO (µM quinurenina)	Basal (pre)	Basal (post)	3 meses (pre)	3 meses (post)	6 Meses (pre)	6 Meses (post)	9 Meses (pre)	9 Meses (post)	12 Meses (pre)	12 Meses (post)
<b>HD-HF</b> Media	4,605	2,337	5,315	2,63	3,993	2,384	4,131	3,428	5,148	2,050
Desviación Típica	2,143	1,176	1,640	1,059	1,861	1,465	2,656	1,323	1,666	0,793
Percentiles 25	3,292	1,513	3,954	1,877	2,388	1,314	1,850	2,200	3,824	1,484
50	4,150	2,183	5,611	2,600	3,710	1,952	3,125	3,694	5,005	1,975
75	5,817	2,733	6,280	3,285	5,377	3,165	6,700	4,336	6,811	2,705
<b>p (pre-post)</b>	0,001		0,001		0,001		0,051		0,001	
<b>HDF-OL</b> Media	3,684	1,357	5,315	3,073	5,061	2,273	4,431	2,430	5,388	1,501
Desviación Típica	1,388	0,447	1,524	0,972	1,555	0,898	2,816	1,150	1,896	0,823
Percentiles 25	2,692	1,200	3,875	2,608	3,911	1,451	1,975	1,450	4,024	0,781
50	3,400	1,317	5,233	3,158	4,632	2,346	3,350	2,388	4,879	1,296
75	4,267	1,438	6,817	3,567	5,853	3,138	6,600	2,894	7,139	2,160
<b>p (pre-post)</b>	0,001		0,001		0,002		0,035		0,001	
<b>p (HD-HF HDF-OL)</b>	0,112	0,001	0,961	0,098	0,085	0,927	0,483	0,047	0,749	0,057

Valores de  $p \leq 0,05$  indica diferencia significativa (LSD test) cuando se comparan las dos técnicas de diálisis HD-HF y HDF-OL.

En las Figuras 20 se muestran las medias de las determinaciones de la IDO durante el año de seguimiento en ambos grupos, como vemos ambos grupos mantienen unas medias similares, sin diferencias estadísticamente significativas al año de estudio.

Únicamente destaca que las medias para las determinaciones posthemodiálisis al inicio o a los 9 meses fueron inferiores en el grupo en HDF-OL, siendo estas diferencias estadísticamente significativas, lo que de nuevo podría indicar una mayor eficacia en cuanto a la reducción de los niveles plasmáticos de la hemodiafiltración online para IDO.



**Figuras 20.** Evolución de los niveles de quinureina en los pacientes dializados con HD-HF y HDF-OL durante un año, pre y posthemodiálisis. Los resultados están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ , LSD test) de los valores



## **DISCUSIÓN**



## 5. DISCUSIÓN

La enfermedad renal crónica es un problema de salud pública importante (McBride *et al.*, 2014; Levey *et al.*, 2007) que afecta, según datos del estudio EPIRCE (Otero *et al.*, 2010) aproximadamente al 10% de la población adulta española y a más del 20% de los mayores de 60 años, y que, además, está infradiagnosticado. En pacientes seguidos en Atención Primaria con enfermedades tan frecuentes como la HTA o la diabetes, la prevalencia de ERC puede alcanzar el 35-40%.

En España, en datos publicados correspondientes a 2013, la incidencia global de pacientes con ERC subsidiarios de depuración extrarrenal era de 124 pmp, en mayores de 15 años 145 pmp y la prevalencia global era de 1122 pmp, en mayores de 15 años 1314 pmp. En los últimos años no sólo hemos vivido un incremento notable en la prevalencia en los pacientes con ERC en tratamiento sustitutivo, sino que hemos experimentado un importante cambio en el perfil de la población tratada. La esperanza de vida de la población ha aumentado significativamente en los últimos años, lo que ha determinado que un mayor número de pacientes con enfermedades crónicas, como la diabetes mellitus, la hipertensión arterial o la arteriosclerosis, vivan lo suficiente como para desarrollar insuficiencia renal en sus estadios más avanzados y, por ello precisen de depuración extrarrenal. Buena prueba de las características de la población tratada con diálisis es el escaso 20 % de pacientes que se mantiene activo en lista de espera de trasplante renal, a pesar de unos criterios de inclusión cada vez menos rígidos.

La diálisis en general, sin tener en cuenta la modalidad, constituye una terapéutica cara y compleja que sirve para realizar un tratamiento sintomático de la enfermedad renal y evitar así que el paciente fallezca como consecuencia de la uremia. En la actualidad, en países desarrollados como el nuestro, donde las razones económicas no limitan el tratamiento, las contraindicaciones son escasas. La edad ya no es una contraindicación absoluta para el inicio de la diálisis, lo que hace que la población en diálisis sea cada vez más añosa, con las consecuencias que eso tiene sobre la morbilidad de los pacientes.

La hemodiálisis constituye la modalidad terapéutica más ampliamente utilizada en el mundo para el tratamiento de la ERC. Muchos han sido los avances médicos y tecnológicos en el campo de la diálisis en los últimos años, desde el desarrollo de monitores “inteligentes”, membranas de mayor permeabilidad y biocompatibilidad, la utilización de bicarbonato como buffer, el mayor control del agua de la diálisis y muchos otros que han permitido que pacientes de mayor edad y pluripatología puedan beneficiarse de este tratamiento.

En la ERC existe un aumento del estrés oxidativo (Tucker *et al.*, 2015; Popolo *et al.*, 2013; Himmelfarb *et al.*, 2002) implicado en desarrollo de diferentes patologías tales como, la aterosclerosis, la diabetes mellitus, tumores malignos, enfermedades cardiovasculares, enfermedad hepatobiliar, trastornos pulmonares y renales; enfermedades neurodegenerativas, y enfermedades inflamatorias e infecciosas. El estrés oxidativo es un estado en el que las especies reactivas de oxígeno pueden causar oxidación celular y de las macromoléculas de la matriz, incluyendo azúcares, proteínas, ácido desoxirribonucleico y lípidos. La evidencia creciente sugiere que el estrés oxidativo puede tener un papel significativo en el desarrollo de complicaciones en pacientes con enfermedad renal en etapa terminal que requiere diálisis, jugando un papel importante en la patogénesis de la lesión vascular y la progresión de la aterosclerosis y por tanto relacionada con la disfunción endotelial (Popolo *et al.*, 2013).

La inflamación sistémica es una característica clínica habitual en los pacientes en diálisis (Tucker *et al.*, 2015). Esta inflamación es multifactorial en su origen, relacionándose entre otros con la pérdida de la función renal (retención de oxidantes que deben ser eliminados en la orina como el fenol indoxyl carboxilo, la metilguanidina y los lípidos oxidados) (Chang, 2009; Kazumasa *et al.*, 2001), las comorbilidades (edad avanzada, diabetes mellitus, inflamación crónica, uremia, desnutrición grave y los factores asociados a la diálisis per se), o el procedimiento de la diálisis. Las consecuencias de la inflamación tocan a un amplio abanico de procesos patofisiológicos, como el síndrome malnutrición-inflamación, la calcificación vascular y disfunción endotelial, la resistencia a la insulina o la depresión.

Este estado constante de microinflamación en los pacientes en diálisis, les otorga un riesgo elevado de presentar complicaciones cardiovasculares y, por tanto, mayor mortalidad cuando se comparan con la población sin ERC (Quiroga *et al.*, 2013; Quiroga *et al.*, 2012). Este hecho ha condicionado que en la última década la inflamación sea objeto de estudio y se han propuesto potenciales intervenciones para intentar disminuirla, ya que esto podría mejorar su pronóstico.

El estrés oxidativo surge del desequilibrio entre la producción de sustancias reactivas derivadas del oxígeno (ROS) y los mecanismos de defensa antioxidantes (Halliwell *et al.*, 1999). En condiciones normales ambos sistemas se encuentran en equilibrio de modo que un incremento en la producción de ROS va acompañado de un incremento en la defensa antioxidante.

El incremento de estrés oxidativo en los pacientes dializados, parece ser consecuencia de la acumulación de compuestos con capacidad prooxidante o resultado de la activación de ROS por neutrófilos y plaquetas, o a la depleción de antioxidantes debido a su consumo o eliminación durante el proceso de diálisis (Locatelli *et al.*, 2003; Garry, 2003; Halliwell *et al.*, 1999).

El estrés oxidativo durante los procesos de hemodiálisis depende en parte de la biocompatibilidad de las membranas. El estrés oxidativo se produce durante la hemodiálisis, como consecuencia de una activación del complemento y de los leucocitos de la sangre al contacto con la membrana artificial de la diálisis, lo que puede promover la producción de radicales libres (Jaber *et al.*, 2005). Incluso una sola sesión de hemodiálisis puede aumentar la peroxidación lipídica y disminuir los antioxidantes (Rao *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 1997; Daschner *et al.*, 1996). Cuando la producción de radicales libres excede las defensas antioxidantes disponibles, se produce la reacción de los radicales libres con todas las clases de moléculas biológicas tales como, lípidos, polipéptidos y el ácido nucleico, causando peroxidación de lípidos, desnaturalización de las proteínas y daño vascular (Slater, 1984).

Diversos estudios han evaluado la biocompatibilidad de las membranas de diálisis, el tipo de membrana puede influir generando mayor o menor estrés

oxidativo, uno de los mecanismos básicos es una menor producción de ROS resultado de una menor estimulación de los procesos inflamatorios y una mayor eliminación de toxinas urémicas que participan en la producción de ROS (Ogunro *et al.*, 2014; Ramakrishna *et al.* 2012; Chang 2009; Yavuz *et al.*, 2004). También como se demuestra en un reciente metaanálisis (Paweena *et al.*, 2013) el uso de agua ultrapura en el baño de diálisis se asocia con una disminución significativa en varios marcadores de inflamación, incluyendo PCR e IL-6, también a una mejora significativa en la albúmina plasmática, como marcador de la nutrición y la inflamación, y a una mejora en varios parámetros de anemia, con un aumento en el nivel de hemoglobina asociado a una disminución de la dosis semanal de eritropoyetina. En este sentido se han conseguido grandes avances, mejorando la biocompatibilidad de las membranas, la calidad del agua de la diálisis, reduciendo el número de catéteres intravasculares como acceso vascular para hemodiálisis, intentando evitar la sobrehidratación de los pacientes en diálisis, y por supuesto el tipo de técnica de depuración extrarrenal.

La hemodiálisis convencional puede considerarse una terapia sustitutiva renal que garantiza resultados razonables a corto plazo. Sin embargo, los resultados clínicos a largo plazo podrían mejorarse. La desnutrición y la inflamación son comunes, el control de la hiperfosforemia, la hipertensión y la insuficiencia cardíaca son pobres, la rehabilitación y la calidad de vida son subóptimas y las tasas de hospitalización y de mortalidad son altas. La causa más común de mortalidad en pacientes en HD de forma crónica es la enfermedad cardiovascular, que es la causa atribuida de muerte en aproximadamente el 50% de los pacientes (Maduell, 2009).

En otras palabras, el paciente dializado en estas condiciones mantiene el denominado síndrome residual (Depner, 2001), que incluye mayor susceptibilidad a presentar infecciones, disminución del consumo de oxígeno durante el ejercicio, trastornos del sueño o de la capacidad de concentración, depresión, menor capacidad de resistencia y un riesgo aumentado de presentar complicaciones cardiovasculares. El síndrome residual se ha atribuido a una incompleta depuración de solutos potencialmente dializables y a la

acumulación de solutos de gran peso molecular que son difíciles de eliminar mediante diálisis convencional. La hemodiafiltración con elevado líquido de reposición proporciona una manera óptima de eliminar sustancias urémicas con un amplio rango de peso molecular, desde pequeños solutos a proteínas de bajo peso molecular (Clark and Gao, 2002; Henderson *et al.*, 2001).

La hemodiafiltración online (HDF-OL), en la que se usa el propio líquido de diálisis como líquido de reposición, ha conseguido obviar gran parte de los inconvenientes que limitaban la utilización de la HDF en otras modalidades, hasta ir desplazando a las otras técnicas de HDF. La aparición de monitores que permiten realizar HDF-OL con una seguridad excelente ha conseguido su paulatina implantación en la clínica. Las ventajas de la HDF-OL son: su coste muy poco por encima de una HD de alto flujo (HD-HF), que actualmente se considera que la HDF-OL es coste-efectiva (Takura *et al.*, 2013) y la posibilidad de conseguir durante la sesión de HDF-OL volúmenes de transporte convectivos elevados (Ledebó *et al.*, 2010; Blankestijn *et al.*, 2010).

Desde su implantación en la clínica, se han observado diversas ventajas clínicas de la HDF-OL respecto a la HD, mejoría de la estabilidad hemodinámica; mejor respuesta a los agentes estimulantes de la eritropoyesis; mayor eliminación de fosfatos y  $\beta_2$  microglobulina; disminución de la incidencia de la amiloidosis relacionada con la diálisis; disminución de los marcadores-mediadores de inflamación crónica (Ramírez *et al.*, 2007; Carracedo *et al.*, 2006); mejor preservación del estado nutricional; mejor respuesta a la hormona del crecimiento en niños en diálisis; respuesta favorable de la encefalopatía hepática y mejor preservación de la función renal residual (FRR). Incluso, en estudios observacionales, se demostró mejor supervivencia de los pacientes en esta técnica respecto a la HD convencional.

Además de las ventajas clínicas parciales, ya comentadas, la consolidación de un tratamiento, en este caso una técnica de diálisis, se basa en la demostración de su contribución a una mejora en la morbilidad, la mortalidad o la calidad de vida. En este sentido, contamos con grandes estudios observacionales: DOPPS, EuCliD, RISCAVID, que indican una mejor supervivencia de los pacientes en HDF-OL respecto a los que están en HD

(Vilar *et al.*, 2009; Panichi *et al.*, 2008; Jirka *et al.*, 2006; Canaud *et al.*, 2006).

El estudio ESHOL (Maduell *et al.*, 2013) es el primer estudio controlado y aleatorizado que demuestra una reducción del 30 % en la mortalidad global de los pacientes en HDF-OL, respecto a los de HD-HF, siendo esta valoración el objetivo primario del estudio. La mortalidad anual del grupo en HDF-OL era del 9,8 %, frente a la del grupo en HD, del 14,1 %. Entre las causas de mortalidad que contribuyen a esta disminución de la mortalidad global en el grupo en HDF-OL, destacan los accidentes cerebrovasculares agudos (ACVA) y las causas infecciosas. La disminución del estado inflamatorio crónico de estos pacientes y la mejoría de la respuesta inmunológica podrían jugar un papel fundamental. La eliminación de moléculas mediadoras en la inflamación y la mayor eliminación de moléculas inhibitoras de la respuesta inmunológica podrían explicar este resultado (Carracedo *et al.*, 2006). Asociado a lo anterior, también se evidencia una mejora de la morbilidad de los pacientes en HDF-OL, valorada mediante una disminución del 22 % de los ingresos hospitalarios por cualquier causa.

Los resultados de varios estudios observacionales han sugerido un efecto beneficioso de la HDF-OL en parámetros inflamatorios tales como la proteína C-reactiva (PCR) y interlequina 6 (IL-6) (Vilar *et al.*, 2009; Filiopoulos *et al.*, 2008; Panichi *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2007; Vitek and Schwertner, 2007; Schiffl, 2007; Panichi *et al.*, 2006; Vaslaki *et al.*, 2006; Canaud *et al.*, 2000). Otros, sin embargo, no confirmaron estos hallazgos (Oates *et al.*, 2011; Kuo *et al.*, 2008; Tiranathanagul *et al.*, 2009; Carracedo *et al.*, 2006; Vaslaki *et al.*, 2005). Además del hecho de la pérdida de albúmina en el dializado, que se considera que es un reactante de fase aguda negativo, que se ha sugerido como un posible inconveniente de HDF-OL (Meert *et al.*, 2011; Krieter *et al.*, 2010; Pedrini *et al.*, 2006). Sin embargo, hasta el momento, en los datos de estudios observacionales queda documentado que las concentraciones de albúmina prediálisis se mantienen estables a largo plazo en HDF-OL.

Si seleccionamos y analizamos los datos únicamente de pacientes de la cohorte europea del estudio DOPPS (Canaud *et al.*, 2006), donde se evaluaba el riesgo de mortalidad en los pacientes que recibieron hemodiafiltración frente

a la hemodiálisis, se observó usando marcadores inflamatorios bien aceptados como la albúmina, la ferritina y la saturación de transferrina, que la HDF se asocia con una menor perfil microinflamatorio que la HD. Este efecto es de particular importancia para los pacientes en hemodiálisis, sobre todo a largo plazo, en la prevención de patologías como la amiloidosis por  $\beta 2$  microglobulina y la arterosclerosis.

El 'RISchio CArdiovascolare nei pazienti afferenti all' Area Vasta In Dialisi' (RISCAVID), es un estudio observacional y prospectivo, incluyendo la totalidad de la población en hemodiálisis crónica (HD) en el noroeste de la Toscana (1.235.000 personas). El objetivo del estudio fue determinar la relevancia de los factores de riesgos tradicionales y no tradicionales en cuanto a la mortalidad y morbilidad de los pacientes en hemodiálisis, así como el impacto de las diferentes modalidades de hemodiálisis. Los resultados mostraron que los pacientes con niveles altos combinados de PCR y de las citoquinas proinflamatorias tenían un aumento del riesgo de mortalidad cardiovascular (RR 1,9;  $p < 0,001$ ) y por todas las causas (RR 2,57;  $p < 0,001$ ). El análisis multivariado ajustado a la comorbilidad y la demografía, mostró a la PCR como el predictor de mortalidad más potente ( $p < 0,001$ ), seguido por la IL-6. Se observó también que los pacientes en HDF-OL tenían un aumento significativo de supervivencia acumulada respecto de los pacientes en HD-LF ( $p < 0,01$ ). Los datos a los 30 meses a partir de este estudio mostraron el efecto sinérgico de la PCR y las citoquinas proinflamatorias como los factores predictores de mortalidad por todas las causas y la mortalidad cardiovascular. La HDF-OL se asoció con una mejoría en la supervivencia acumulada independiente de la dosis de diálisis (Panichi *et al.*, 2008).

Dado que los estudios observacionales son estudios no controlados, no hay una respuesta definitiva sobre la cuestión de si la HDF-OL tiene impacto en la inflamación sistémica.

CONvective TRANsport STudy (CONTRAST) es un ensayo controlado aleatorizado que ha investigado los efectos del aumento del transporte convectivo en HDF-OL en postdilución en comparación con la hemodiálisis de bajo flujo (HD-LF), en mortalidad por cualquier causa y en morbilidad y

mortalidad cardiovascular (Penne *et al.*, 2010). La Proteína C reactiva (PCR) y la interleuquina-6 (IL-6) fueron medidas durante un máximo de 3 años en 405 pacientes, y la albúmina se midió al inicio del estudio y cada 3 meses en 714 pacientes durante todo el seguimiento.

Hubo un incremento de las concentraciones plasmáticas de la Proteína C reactiva y la interleuquina-6 en pacientes tratados con HD-LF, y se mantuvo estable en los pacientes tratados con HDF-OL. La albúmina sérica disminuyó significativamente en ambos brazos del tratamiento, sin diferencias entre los grupos. Por lo tanto, a largo plazo la HDF-OL con dializado ultrapuro parece reducir la actividad inflamatoria en el tiempo en comparación con la hemodiálisis (HD-LF), pero no afecta a la tasa de cambio en albúmina (Claire *et al.*, 2014).

En un metaanálisis recientemente publicado (Susantitaphong *et al.*, 2013) en el que se analizaron 65 ensayos controlados aleatorizados (n= 12182), revisando literatura hasta Diciembre de 2012, que comparaban las terapias convectivas (HDF-OL en su mayoría) con la hemodiálisis de bajo flujo (HD-LF). Las terapias convectivas resultaron en una disminución de la mortalidad por cualquier causa, riesgo relativo (RR) 0,88; 95% intervalo de confianza (IC) 0,76, 1,02, p = 0,09, la mortalidad cardiovascular (RR 0,84; IC del 95%: 0,71, 0,98, p = 0,03) y todas las causas de hospitalización (RR 0,91; IC del 95%: 0,82, 1,01; p = 0,08). Las terapias convectivas también resultaron en un aumento de la eliminación de toxinas urémicas de bajo peso molecular (urea, creatinina y fosfato), de tamaño mediano ( $\beta$ 2 microglobulina y leptina) y ligadas a proteínas (homocisteína, productos finales de glicación avanzada y pentosidina) y a una disminución de los marcadores inflamatorios (IL-6). No hubo impacto de las terapias convectivas sobre los parámetros de morfología y funcionalidad cardíaca, ni sobre la presión arterial y la anemia. Aunque las terapias convectivas se asocian con la mejora de aclaramiento de solutos urémicos, el potencial a largo plazo de los beneficios de las técnicas convectivas específicas como la HDF- OL requieren más estudio (Susantitaphong *et al.*, 2013).

En este metaanálisis las terapias convectivas no tuvieron un impacto significativo en cualquiera de los parámetros de la anemia, incluyendo los

cambios netos en la hemoglobina, hematocrito, transferrina, ferritina, saturación de transferrina, dosis de hierro intravenoso y el índice de resistencia a la eritropoyetina. En cuanto a los parámetros nutricionales, las terapias convectivas resultaron en un aumento neto en el peso corporal de 0,68 kg (IC del 95% 0,33, 1,02;  $p < 0,001$ ), y en unos niveles plasmáticos preterapia de HDL de 3,87 mg / dL (CI 95%: 0,93, 6,81;  $p = 0,01$ ). En contraste, las terapias convectivas resultaron en una disminución neta en el nivel de albúmina sérica antes del tratamiento de 0,04 g/dL (CI 95% -0,08, -0,01;  $p=0,03$ ), y de triglicéridos de 20,25 mg / dL (CI 95% -32,60, -7,91;  $p= 0,001$ ). No hubo efectos notables sobre otros parámetros nutricionales, incluyendo la tasa de catabolismo proteico normalizada (nPCR), y el colesterol total y LDL.

En cuanto a los marcadores inflamatorios, en este metaanálisis, las terapias convectivas resultaron en una disminución neta significativa de niveles en suero pre-tratamiento de interleuquina 6 de 0,42 pg / ml (IC 95% -0,73, -0,11;  $p = 0,01$ ) y de superóxido dismutasa ( $p= 0,03$ ). No hubo efectos perceptibles sobre otros marcadores inflamatorios, incluyendo la proteína C-reactiva y capacidad antioxidante total.

En el estudio ESHOL (Maduell *et al.*, 2013), que se trata de un ensayo controlado aleatorizado, multicentrico, en el que se randomizó a 906 pacientes en hemodiálisis crónica, ya sea para continuar hemodiálisis de alto flujo ( $n = 450$ ) o para cambiar a HDF-OL postdilución de alta eficiencia ( $n = 456$ ). En comparación con los pacientes que continuaron en hemodiálisis, los asignados a HDF-OL tenían un riesgo 30% menor de mortalidad por cualquier causa, un riesgo 33% menor de mortalidad cardiovascular y un riesgo 55% menor de mortalidad relacionada con infección. Además, los resultados fueron consistentes en distintos subgrupos de los pacientes de acuerdo a la edad, el sexo, la diabetes mellitus, el índice de comorbilidad de Charlson y el acceso vascular, es más el subgrupo que más beneficios obtenía con la HDF-OL eran los pacientes más añosos, no diabéticos, que se dializaban a través de una fístula arteriovenosa autóloga y que tenían un índice de comorbilidad de Charlson mayor. Con estos resultados se estimó que el cambio de ocho pacientes de hemodiálisis a HDF-OL puede prevenir una muerte anual. Las

tasas de incidencia de complicación por hipotensión en las sesiones de diálisis y todas las causas de hospitalización fueron menores en los pacientes asignados a HDF-OL. Por lo tanto se concluyó, la HDF-OL postdilución de alta eficiencia reduce la mortalidad por cualquier causa en comparación con la hemodiálisis convencional.

En subanálisis del estudio ESHOL encontramos que a pesar de estos excelentes resultados en cuanto a la reducción de la mortalidad, en cuanto a los parámetros nutricionales, en el peso seco y la albúmina plasmática no se observaron diferencias significativas en ambos grupos, es más, la albúmina plasmática tuvo una reducción significativa a lo largo del estudio en ambos tipos de tratamientos. Tampoco hubo diferencias significativas en ambos grupos, para el marcador inflamatorio “gold estándar” en la práctica clínica, la PCR. Tampoco se encontraron diferencias en la hemoglobina, ferritina e índice de saturación de transferrina, ni en la necesidad y dosis de agentes estimuladores de la eritropoyesis ni en el hierro intravenoso.

En base a la bibliografía revisada queda evidenciada la relación entre estrés oxidativo y enfermedad renal crónica, sobre todo en su fase avanzada en hemodiálisis, pero existen resultados contradictorios en cuanto a los resultados obtenidos en los marcadores inflamatorios y el perfil nutricional, cuando comparamos la hemodiálisis, sobre todo el caso de la hemodiálisis de alto flujo que es la técnica de depuración extrarrenal más extendida actualmente, frente a la hemodiafiltración online que se postula como la posible técnica de referencia para la mayoría de los pacientes en diálisis, sobre todo después de los resultados de los diversos estudios, observacionales en su mayoría, pero recientemente controlados y aleatorizados, donde se demuestra una más que importante reducción de la mortalidad, sobre todo desde el punto de vista cardiovascular, donde la microinflamación juega un papel fundamental en su etiopatogenia.

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, diseñamos un estudio para comparar el estrés oxidativo y el estado nutricional, como marcadores del estado inflamatorio, en los pacientes en hemodiálisis comparando dos técnicas, hemodiálisis de alto flujo frente a hemodiafiltración online.

### **5.1. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO NUTRICIONAL ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE**

Para llevar a cabo la evaluación del estado nutricional de los pacientes en hemodiálisis realizamos una comparativa entre parámetros antropométricos y bioquímicos, de pacientes con ERC estadio 5D en HD-HF y los pacientes en HDF-OL, en un periodo de seguimiento de un año. En los parámetros antropométricos se analizó el valor promedio del peso corporal y el índice de masa corporal (IMC), y para los bioquímicos se analizó el valor promedio de la creatinina, BUN, albúmina, transferrina, proteínas totales, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicéridos, PCR y hemoglobina.

La evaluación del estado nutricional no debe ser un procedimiento estático, la precisión mejora observando tendencias de los indicadores mediante evaluaciones periódicas. No hay ningún parámetro individual que sea predictor independiente del estado nutricional y que no sea influido por otras circunstancias. Es importante la evaluación combinada de parámetros clínicos, bioquímicos y antropométricos (Lorenzo, 2009; Ruperto *et al.*, 2008; Fouque *et al.*, 2007; Rufino *et al.*, 2006; Kopple, 2001; Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, 2000; Blumenkrantz *et al.*, 1980).

La prevalencia de desnutrición en diálisis ha disminuido considerablemente en la última década, hoy en día cabe considerarla como una situación infrecuente en el enfermo estable. De hecho no debe considerarse una complicación del estado urémico en sí, sino el resultado de ciertas complicaciones, como los estados inflamatorios prolongados, u otros estados comórbidos, algunos de ellos subclínicos o asociados a subdiálisis prolongada. La inflamación crónica silente es una clara situación de riesgo de déficit nutricional (Ikizler *et al.*, 1999). Esta asociación, conocida como Síndrome Malnutrición-Inflamación-Arteriosclerosis (síndrome MIA) (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2003; Kalantar-Zadeh *et al.*, 2001; Stenvinkel *et al.*, 1999) tiene una importante influencia en la aceleración del proceso arteriosclerótico y en la morbimortalidad cardiovascular del paciente en diálisis.

El sobrepeso y la obesidad se asocian a un mayor riesgo cardiovascular y mayor mortalidad en la población general, y existen datos controvertidos en la población en diálisis. Las adipocinas (leptina, adiponectina) producidas en los adipocitos podrían jugar un papel en dicho proceso, así como los parámetros inflamatorios (proteína C reactiva [PCR], interleuquina 6 [IL-6]) pueden ser marcadores del mismo (Cordeiro *et al.*, 2010). La anorexia en pacientes urémicos se ha relacionado con la acumulación de sustancias urémicas. En ratas urémicas, Anderstam *et al.*, 1996, aislaron e identificaron toxinas en el rango de 1000-5000 Da en el plasma urémico, que suprimían el apetito de forma nivel-dependiente. La leptina (PM 16000 Da), habitualmente elevada en pacientes en diálisis, tiene un efecto anorexígeno (Merabet *et al.*, 1997), por lo que su mayor eliminación con HDF puede contribuir a un aumento del apetito.

Los datos del United States Renal Data System (USRDS) y los del estudio DOPPS confirman que los pacientes de diálisis desnutridos tienen un mayor riesgo de la mortalidad (Lopes *et al.*, 2010). Además se demostró que para cada unidad de disminución en el IMC el riesgo de muerte cardiovascular aumentaba en un 6% y cada 1 g/dL de caída en el nivel de albúmina sérica se asociaba con un aumento del 39% en el riesgo de muerte cardiovascular. En el estudio DOPPS además se observó que los pacientes con un IMC más bajo ( $\leq 21\text{Kg/m}^2$ ) pero con creatinemias altas ( $\geq 10,5\text{ mg/dL}$ ), tenían menos riesgo de mortalidad que aquellos que con el mismo IMC tenían creatinemias más bajas ( $\leq 7,5\text{mg/dL}$ ). También la asociación de hipoalbuminemia con mayor mortalidad fue más fuerte en los pacientes con IMC más bajo y creatinemias más bajas. Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, encontraron que los pacientes en diálisis con sobrepeso tienen una proporción de grasa y agua extracelular superior ( $p < 0,001$ ). Los niveles de leptina ( $p=0,001$ ) y de PCR ( $p=0,036$ ) son más elevados, y los de adiponectina, más reducidos ( $p=0,003$ ). Existiendo una correlación inversa entre el IMC y la masa magra ( $p=0,01$ ). Los marcadores nutricionales (prealbúmina, albúmina, proteínas totales, creatinina y transferrina) guardaron relación con la masa magra ( $p=0,05$ ). Al comparar la HD convencional con membrana de medio flujo con la HDF-OL, observaron un menor proporción de grasa en la HDF-OL ( $p=0,049$ ). En este sentido en nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre ambas técnicas para el peso

corporal y el IMC, pero en el grupo en HDF- OL encontramos para ambos una correlación directa, estadísticamente significativa, con la creatinina ( $r=0,492$   $p=0,000/r=0,208$   $p=0,048$ ), albúmina ( $r=0,214$   $p=0,042/r=0,207$   $p=0,050$ ) y las proteínas totales séricas ( $r=0,309$   $p=0,003/r=0,402$   $p=0,000$ ), como en el caso de los anteriores autores mencionados. Sin embargo en el grupo en HD-HF existe una correlación negativa entre el peso y la albúmina ( $r=0,253$   $p=0,009$ ). Además también encontramos en el grupo en HDF-OL una correlación negativa entre el IMC y los grupos carbonilos (CG) ( $r=0,281$   $p=0,011$ ) que son un importante marcador de la oxidación proteica. Estos hallazgos sugieren que los pacientes en HDF-OL cuanto mayor es su peso e IMC mejor nutridos están, tienen mayor porcentaje de masa magra y están menos inflamados, a diferencia de los pacientes en HD-HF, por lo tanto podemos suponer que para igual valor de peso o IMC tienen menor riesgo de mortalidad.

La fuente primaria de la creatinina sérica es el músculo esquelético y las concentraciones de creatinina sérica son más elevadas en las personas con mayor masa muscular, independientemente de la función renal (Macdonald *et al.*, 2006). Las concentraciones de creatinina sérica prehemodiálisis están fuertemente correlacionadas con la masa corporal magra en los pacientes que requieren hemodiálisis (Noori *et al.*, 2011) y están asociadas con un mejor estado funcional (Burrowes *et al.*, 2002) y un menor riesgo de mortalidad (Walther *et al.*, 2012; Dwyer *et al.*, 2005; Kalantar-Zadeh *et al.*, 2005; Lowrie and Lew, 1990). Sin embargo, como es una molécula de bajo peso molecular, la creatinina sérica es eficientemente aclarada en la diálisis y por lo tanto los niveles de creatinina prehemodiálisis podrían estar influenciados no sólo por la masa muscular, sino también por la dosis de diálisis proporcionada en la sesión de diálisis anterior (Fouque *et al.*, 2008; Shinzato *et al.*, 1997). Walther *et al.*, 2012, encontraron que la creatinina prediálisis y el cambio interdialítico la creatinina están fuertemente asociado con el estado nutricional y la mortalidad en pacientes en hemodiálisis, este último proporcionó poca información adicional frente a los niveles de creatinina prediálisis. Los estudios demuestran que una concentración baja de creatinina prediálisis es un poderoso factor de riesgo de mortalidad (Moreau-Gaudry *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2010; Kalantar-Zadeh *et al.*, 2007; Beddhu *et al.*, 2003; Beddhu *et al.*, 2003). En

nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre los valores promedio de los niveles prediálisis de creatinina sérica entre ambas técnicas, resultados iguales en este sentido a los de Maduell *et al.*, 2013, dentro del estudio ESHOL, pero si observamos que el percentil 75 del grupo en HDF-OL presenta valores más altos que el grupo en HD-HF y la mayoría de las determinaciones son  $\geq 10$  mg/dL que como ya hemos comentado previamente se asocia con una menor riesgo de mortalidad. Fue significativa también la correlación negativa encontrada en el grupo en HDF-OL con los niveles de MDA prehemodiálisis ( $r= 0,261$   $p=0,017$ ), biomarcador de la oxidación lipídica, que como veremos más adelante su aumento indica un mayor estrés oxidativo, indicando en este sentido que los pacientes en HDF-OL con valores de creatinemia más altos presentan un menor estado inflamatorio y por lo tanto menor riesgo de mortalidad.

Ante una dosis fija de diálisis, el descenso de los niveles séricos de BUN es el primer marcador de un déficit de la ingesta proteica, antes de que se refleje en la albuminemia. Es sabido que niveles bajos de BUN pre-dialisis está asociado con un mayor riesgo de muerte que niveles de BUN entre 45-55 mg/dL (Roy *et al.* 2013; Lowrie, 1990, Archiardo *et al.*, 1983). En este sentido en nuestro trabajo los niveles de BUN se mantuvieron en un rango adecuado, en torno a 45-60 mg/dL, en ambos grupos, no encontramos diferencias significativas entre los valores promedio de los niveles del BUN entre ambas técnicas, los cuales se mantuvieron estables en ambos grupos durante el año de seguimiento, indicando en este sentido una ingesta proteica similar en los pacientes de ambas técnicas.

La albúmina es el marcador bioquímico de las reservas de proteínas más utilizado en la práctica clínica por su facilidad para ser medido y por ser un potente predictor de morbilidad y mortalidad en la ERC, independientemente de las causas que conducen a la reducción de su concentración en suero (Schmidt *et al.*, 2012). De hecho, en particular en la población de pacientes en diálisis, los valores de albúmina plasmática menores de 2,5 g/dL se asocian con un riesgo de muerte 20 veces superior en comparación con valores de 4,0 a 4,5 g/dL; e incluso valores dentro del rango de la normalidad (3,5 y 4,0 g/dL) se

asocian con el doble de riesgo (Santos *et al.*, 2004). Sin embargo, en su interpretación se debe tener en cuenta que los niveles bajos pueden reflejar además de la desnutrición, pérdida de albúmina en el dializado, enfermedades sistémicas, sobrehidratación, edad avanzada y especialmente la presencia de inflamación (Calado *et al.*, 2007). La albúmina se considera un reactante de fase aguda negativo, es un importante antioxidante extracelular, que actúa limitando el daño celular de los radicales libres productos del estrés oxidativo (Roche *et al.*, 2008). Lima de Castro *et al.*, 2014, encontraron que la hipoalbuminemia en los pacientes en hemodiálisis se asocia con aumento de la peroxidación lipídica. Maduell *et al.*, 2013 en el estudio ESHOL, donde se comparaba la HDF-OL con la HD, no encontraron diferencias para los valores de albumina durante el periodo de seguimiento en ambos grupos, sin embargo la concentración plasmática de albúmina disminuyó significativamente en ambos grupos a lo largo del estudio. También fue observada una ligera disminución en los niveles de albúmina sérica a los tres meses de diálisis en la técnica HDF-OL con altos volúmenes convectivos (> 20 L/sesión) (Panichi *et al.*, 2015). Sin embargo, otros autores como Vilar *et al.*, 2009, y Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, en una comparativa de ambas técnicas no encontraron diferencias realizando una comparativa entre la HDF-OL y la HD-HF no encontraron diferencias significativas para la albúmina entre ambas técnicas. En nuestro trabajo sin embargo, encontramos diferencia estadísticamente significativa hasta los 9 meses de seguimiento a favor del grupo de pacientes en HDF-OL, en el percentil 75 durante todo el periodo de seguimiento los pacientes en HDF-OL tuvieron valores  $\geq 4$  g/dL, valores de referencia de un adecuado perfil nutricional para la población en diálisis, además la media del grupo se mantuvo cercana a este valor durante los primeros 9 meses de seguimiento, a diferencia de los pacientes en HD-HF que fue  $\leq 3.5$  g/dL durante este periodo. Esto indica un mejor perfil nutricional e inflamatorio en los pacientes en HDF-OL.

Un comportamiento similar encontramos para la determinación de proteínas totales, que se componen de albúmina y globulinas, estas últimas son proteínas que forman parte importante del sistema inmunitario. Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, tampoco encontraron diferencias significativas, sin embargo en nuestro trabajo los niveles plasmáticos de proteínas totales son superiores en

el grupo en HDF-OL, esta diferencia es estadísticamente significativa a los inicio y a los 6 meses, lo que se traduce de nuevo en un mejor estado nutricional para los pacientes en HDF-OL.

La transferrina suele estar normal o descendida en la uremia y cae más precozmente que la albúmina ante una deficiencia nutricional, ya que su vida media es más corta (8 días). En varios trabajos (Locatelli *et al.*, 2002; Neyra *et al.*, 2000; Kalantar *et al.*, 1998) se propone la medida de transferrina como marcador más precoz que la albúmina en las situaciones de desnutrición e incluso de inflamación (Kaysen *et al.*, 2000). Susantitaphongen *et al.*, 2013, en el metaanálisis que realizaron, no encontraron diferencias significativas en los niveles de transferrina entre las técnicas convectivas y la HD-LF, en nuestro trabajo encontramos que los pacientes en HDF-OL grupo presentan un incremento de los valores de transferrina mayor a lo largo del año de seguimiento (157-191,8 mg/dL), acercándose al valor considerado como de normo nutrición para los pacientes en hemodiálisis  $\geq 200$  mg/dL. Por el contrario en el grupo en HD-HF, los valores de transferrina sérica experimentaron un ligera reducción a lo largo del año de seguimiento (185-179,7 mg/dL). En el grupo en HDF-OL encontramos una correlación directa significativa, de la albúmina sérica con la transferrina ( $r=0,282$   $p=0,007$ ), es decir, a mayores niveles de albúmina, mayores niveles de transferrina, lo que se traduce en un mejor estado nutricional.

Los pacientes con ERC tienen importantes cambios en metabolismo de los lípidos; la manifestación más típica es la dislipidemia mixta o dislipemia aterogénica, con predominio de hipertrigliceridemia asociada con niveles bajos de HDL-c. Las partículas de LDL pueden asumir características proaterogénicas: tamaño más pequeño, denso y sufren un mayor grado de peroxidación lipídica (Laurinavicius and Salem, 2008). Entre las razones de este perfil lipídico se encuentran la inflamación, la desnutrición y la hipoalbuminemia presente en muchos de estos pacientes. La hipoalbuminemia determina cambios fisiopatológicos en el metabolismo de los lípidos, disminuyendo la presión oncótica, que estimula la síntesis hepática de albúmina y otras proteínas, incluyendo el apolipoproteínas, estas últimas

producen un aumento en los niveles de colesterol, triglicéridos y LDL, y un descenso del HDL (Gyebi *et al.*, 2012).

La disminución en la actividad de las enzimas lipolíticas involucrados en el metabolismo lipídico parece ser el principal mecanismo responsable de la disminución de HDL en los pacientes en diálisis, así como la reducción de apoA1 y apoA231. En relación con el aumento de LDL los niveles en pacientes con nefropatías, el principal mecanismo implicado puede ser la disminución de su catabolismo, mientras que los niveles de la apolipoproteína B, apolipoproteína principal de LDL, están aumentados (Vaziri and Norris, 2011).

Por lo tanto los pacientes con ERC son susceptibles a los trastornos en el metabolismo de los lípidos y por lo tanto un perfil lipídico aterogénico. El desarrollo de la aterosclerosis se ha relacionado con el aumento de la peroxidación lipídica en los pacientes con ERC. Estos cambios oxidativos reducen HDL, aumentan LDL y además producen la oxidación de LDL, la LDL oxidada parece ser un factor importante para el desarrollo de lesiones ateroscleróticas mediante la promoción de los daños y la destrucción directa de la célula endotelial (Negamma *et al.*, 2014).

El colesterol es un buen marcador del estado nutricional y por tanto, cifras aparentemente normales o bajas, como las que suelen presentar los pacientes en hemodiálisis a diferencia de las que presentan en la ERC en estadios previos, pueden representar un estado de desnutrición, más que una normalidad del metabolismo lipídico. El descenso del colesterol plasmático, que probablemente está vinculado a un déficit nutricional energético, se asocia a una mayor mortalidad en los pacientes en hemodiálisis (Kilpatrick *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2004) y se considera marcador de nutrición deficiente cuando sus valores son inferiores a 150 mg/dL. La causa de este fenómeno de epidemiología inversa, es más la inflamación, malnutrición y otras comorbilidades, como causantes de la hipocolesterolemia de los pacientes en diálisis y en última instancia del aumento de su mortalidad (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2003). M. Palomares Bayo *et al.*, 2008, encontraron en su estudio que casi el 40% de los pacientes en hemodiálisis analizados presentaron valores bajos de colesterol total, resultados similares a los de nuestro trabajo, sobre todo en

el grupo en HDF-OL, quienes hasta casi el 50% presentaron valores inferiores a 150 mg/dL en la mayoría de las determinaciones, en el grupo en HD-HF fue en torno al 25%, referente a este dato debemos tener en cuenta que el 47.3% de los pacientes del grupo en HDF-OL estaban en tratamiento con estatinas, frente a un 30.4% de los pacientes en HD-HF, lo cual puede justificar nuestros resultados, ya que estos niveles bajos de colesterol pueden estar condicionados por el tratamiento hipolipemiante y no por malnutrición/inflamación. Algunos estudios que han valorado la evolución del colesterol total con el tiempo de tratamiento en hemodiálisis (Kalantar *et al.*, 1998; Iseki *et al.*, 1993) y encontraron un descenso del colesterol en los pacientes tras un año de seguimiento nutricional, pero sin cambios significativos. En este sentido, a diferencia de estos estudios en nuestro trabajo encontramos que en el grupo de HD-HF que partía de cifras medias límites de 155 mg/dL, experimentaron una ligera mejoría a lo largo del estudio hasta cifras de 161 mg/dL, pero fue el grupo en HDF-OL donde se observó un incremento mayor de 141 mg/dL a 157 mg/dL, superando así el valor límite de la malnutrición. Estos resultados sugieren que los pacientes en HDF-OL presentaron una mejora de su perfil nutricional a diferencia de los pacientes en HD-HF quienes únicamente lo mantuvieron prácticamente estable. Al igual que Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, y otros grandes estudios como los analizados en el metaanálisis de Susantitaphongen *et al.*, 2013, no encontramos diferencias significativas entre ambas técnicas.

Los pacientes en hemodiálisis suelen tener un valor normal o casi normal de LDL colesterol (Prichard, 1999), a diferencia del que presentan en la ERC en estadios previos, y aproximadamente de un 20% a un 40% de los pacientes de hemodiálisis se estiman que tienen niveles elevados de triglicéridos y HDL colesterol reducido (Avram *et al.*, 1992; Elisof *et al.*, 1996). Ramos *et al.*, 2008, no observaron variación significativa en el LDL o HDL colesterol, ni para triglicéridos después de 12 meses en pacientes en hemodiálisis convencional. En nuestro trabajo, a diferencia de estos autores, encontramos un aumento en los niveles promedio de LDL, HDL y triglicéridos, a lo largo del año de seguimiento en el grupo de HDF-OL, que fue más llamativo en el caso del LDL colesterol, donde los pacientes pasaron de cifras de LDL medias de 66 mg/dL a

82 mg/dL, estos hallazgos sugieren ingestas proteico-calóricas más adecuadas y una mejor situación nutricional. Sin embargo, en el grupo en HD-HF, aunque también encontramos un discreto aumento en los niveles promedio de LDL y HDL, los triglicéridos se redujeron a lo largo del año de seguimiento. Susantiphongen *et al.*, 2013, en el metaanálisis que realizaron, al igual que en nuestro trabajo, no encontraron diferencias significativas en los niveles de LDL colesterol entre las técnicas convectivas y la HD-LF, pero a diferencia de nuestros resultados, si encontraron un aumento significativo del HDL colesterol y un descenso significativo en los niveles de triglicéridos en los pacientes en HDF, en nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre ambas técnicas para estas determinaciones.

La PCR es un marcador muy sensible, aunque inespecífico, de inflamación y daño tisular. En los pacientes en diálisis parece ser reflejo de los niveles de IL-6, que es una citoquina liberada por los monocitos que está elevada con frecuencia en los pacientes en hemodiálisis. Entre sus efectos se encuentran la degradación de proteínas musculares, la inducción de reactantes de fase aguda y la participación en la respuesta inmune y la eritropoyesis. La PCR es un fuerte predictor de mortalidad, especialmente mortalidad cardiovascular en los pacientes en HD (Pecoits-Filho *et al.*, 2002). Se ha demostrado que la PCR estimula la síntesis de monocitos quimiotácticos proteína-1 y moléculas de adhesión celular en la superficie de la célula endotelial (Chait *et al.*, 2005). Estos procesos conducen a la migración de los monocitos a la capa subendotelial. Los monocitos se diferencian en macrófagos y captan a las LDL oxidadas. En consecuencia, los macrófagos se convierten en células espumosas y el resultado en arterosclerosis (Chait *et al.*, 2005; de Winther *et al.*, 2005). Por lo tanto, los marcadores de inflamación vascular tienen un papel central en la patogénesis y progresión de la aterosclerosis y están asociados con un aumento de la mortalidad cardiovascular (Blankenberg *et al.*, 2001; Stenvinkel *et al.*, 2000). Claire *et al.*, 2014, haciendo un seguimiento a largo plazo durante 7 años de 714 pacientes en hemodiálisis, randomizados a HDF-OL y HD-LF, encontraron que las mediciones de la PCR e IL-6 aumentaban con el tiempo. En nuestro estudio encontramos que ambas poblaciones partían en su mayoría de niveles de PCR elevados, de media en el grupo de HD- HF

19,1 mg/l, mientras que en el grupo en HDF- OL 11,7 mg/l. En el grupo de HD-HF, la PCR descendió ligeramente a lo largo del año de seguimiento hasta un 14,76 mg/l. En el grupo en HDF-OL observamos un descenso más pronunciado durante los 9 primeros meses, para finalmente elevarse en la última determinación a los 12 meses hasta cifras iniciales. Susantitaphongen *et al.*, 2013, en el metaanálisis que realizaron, no encontraron diferencias significativas en los niveles de PCR entre las técnicas convectivas y la HD-LF. Vilar *et al.*, 2009, sin embargo, realizando una comparativa entre la HDF-OL y la HD-HF encontraron un descenso significativo de la PCR en los pacientes en HDF-OL durante el periodo de seguimiento. Ni Maduell *et al.*, 2013, ni Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, tampoco encontraron diferencias significativas entre ambas técnicas. Una correlación inversa, estadísticamente significativa, se observó en el grupo en HDF-OL entre PCR y creatinina ( $r=0,222$   $p=0.035$ ), transferrina ( $r=0,358$   $p=0.001$ ), colesterol total ( $r=0,334$   $p=0.001$ ), LDL ( $r=0,296$   $p=0.005$ ), y HDL ( $r=0,221$   $p=0.036$ ), es decir, que niveles bajos de PCR se correlacionan con niveles altos de creatinina, transferrina, colesterol total, LDL y HDL, lo que indica que los pacientes con menos inflamación están mejor nutridos y viceversa.

La inflamación contribuye a la hematopoyesis mediante la reducción de respuestas a la epoetina (EPO) y a un aumento en la mortalidad de los pacientes en hemodiálisis. Susantitaphongen *et al.*, 2012, en el metaanálisis que realizaron, no encontraron diferencias significativas en los niveles de hemoglobina entre las técnicas convectivas y la HD-LF, ni en ningún otro parámetro de la anemia. Ni Maduell *et al.*, 2013, ni Gallar-Ruiz *et al.*, 2012, encontraron diferencias significativas para los niveles de hemoglobina entre la HDF-OL y la HD convencional, en nuestro trabajo tampoco encontramos diferencias significativas en los valores medios de hemoglobina entre los pacientes en HDF-OL y en HD-HF.

## **5.2. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ESTADO OXIDATIVO ENTRE LOS PACIENTES CON ERC ESTADIO 5D EN HEMODIALISIS CONVENCIONAL DE ALTO FLUJO Y EN HEMODIAFILTRACIÓN ONLINE**

Con el objetivo de realizar un estudio completo y exhaustivo del estrés oxidativo, se ha determinado la capacidad antioxidante total, la evaluación del estado redox y el daño a biomoléculas, a través de la medida de diferentes parámetros. Para ello se han empleado los valores promedio resultantes de la medición de diferentes parámetros enmarcados en los siguientes tres grandes grupos, capacidad antioxidante total, estado redox y daño a biomoléculas. También se ha realizado la determinación de los niveles de quinurenina como indicador de la actividad indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), y en general el metabolismo del triptófano, que juega un papel importante en la regulación en la respuesta inmune, siendo en la patogénesis del síndrome urémico el principal estímulo para el aumento de su actividad la inflamación crónica que puede ser un factor clave en el desarrollo de la arterosclerosis y por tanto es posible que la activación de la IDO tenga relevancia en la elevada mortalidad cardiovascular que presentan estos pacientes, en relación a la inflamación.

La valoración de la capacidad antioxidante total (TAC) se considera la acción conjunta de todos los antioxidantes presentes en el plasma, aportando un dato integral frente a los datos de medidas individuales de antioxidantes. Por lo tanto, la acción sinérgica de los diferentes compuestos que tengan capacidad antioxidante (endógenos como exógenos) está asegurada y da una idea del desequilibrio entre antioxidantes y oxidantes. Los antioxidantes pueden ser endógenos, resultado del metabolismo como del ácido úrico, bilirrubina, albúmina, tioles, etc., o provenientes de fuentes exógenas introducidas en el organismo por una dieta rica en antioxidantes como las vitaminas y los polifenoles, que contribuyen al refuerzo de la capacidad antioxidante endógena. Son muchas las evidencias que muestran la importancia de la capacidad antioxidante total del plasma y sus modificaciones en situaciones de estrés oxidativo asociado a diferentes patologías. Por eso, en este estudio se ha abordado la determinación de la capacidad antioxidante total en plasma aplicando tres técnicas, la del ABTS como indicador de la capacidad

estabilizadora de radicales libres, el FRAP como indicador del poder reductor, y la cuantificación de polifenoles totales como indicador de la contribución de compuestos antioxidantes presentes en la dieta.

Los pacientes en hemodiálisis tienen los componentes presentes en plasma con capacidad antioxidante alterados, tanto los que constituyen la defensa endógena como son el ácido úrico, la bilirrubina, albúmina, etc., como la exógena (vitaminas y polifenoles). La asociación entre ácido úrico y enfermedad renal es muy estrecha, ya que el ácido úrico se elimina en sus 2/3 partes por el riñón, por lo que cuando cae el filtrado glomerular, los niveles de ácido úrico aumentan, los pacientes con ERC avanzada o estadio 5 generalmente muestran niveles de ácido úrico dos veces más alto que en los individuos sanos, si bien es cierto que una vez que los pacientes se realizan técnicas de depuración extrarrenal como la hemodiálisis los niveles en su mayoría son normales puesto que el ácido úrico se dializa. Los pacientes en hemodiálisis que tienen hipoalbuminemia, la mayor incidencia de enfermedad cardiovascular podría relacionarse con un descenso de la capacidad antioxidante, dado que la albúmina es un antioxidante plasmático, con efecto antioxidante-vasculoprotector (Lim *et al.*, 2007). Otra biomolécula relacionada con la capacidad antioxidante del plasma es la bilirrubina, principal pigmento biliar y producto final del catabolismo del hemo que exhibe potentes propiedades antioxidantes, previniendo el daño oxidativo desencadenado por un amplio rango de estímulos oxidantes (Vitek and Schwertner, 2007). Además de estas moléculas también participan en la capacidad antioxidante del plasma los antioxidantes de la dieta, los cuales se ven disminuidos en los enfermos con ERC avanzada o estadio 5 como consecuencia de la restricción de potasio a la que se les somete con la consiguiente baja ingesta de frutas y verduras frescas (Vaziri, 2004) y las pérdidas durante la sesión de hemodiálisis de vitaminas hidrosolubles (B y C). Por lo tanto es de esperar que la capacidad antioxidante total se vea alterada en estos enfermos y que sus niveles afectados por el tipo de diálisis a la que se ven sometidos.

Aunque en la actualidad se acepta que un incremento en la TAC es un incremento en la capacidad protectora del organismo frente al estrés oxidativo,

en patologías como la ERC algunos estudios sugieren que quizás no sea así, debido a que en ese incremento contribuyen metabolitos como el ácido úrico o la bilirrubina cuyo aumento no es necesariamente una situación deseable. Estudios basados en hallazgos epidemiológicos muestran el papel del ácido úrico como factor de riesgo cardiovascular, o su papel como causa o factor de progresión de la insuficiencia renal e incluso su correlación con la proteína C reactiva en pacientes con ERC (Zoppini *et al.*, 2012; Ben-Dov and Kark, 2011; Wen *et al.*, 2010; Gagliardi *et al.*, 2009; Madero *et al.*, 2009; Mitsuhashi *et al.*, 2009; Edwards, 2008; Chonchol *et al.*, 2007; Caravaca *et al.*, 2005). Estos resultados sugieren que el incremento observado en la TAC depende del incremento de los niveles de ácido úrico y posiblemente no induce una protección eficaz in vivo frente al estrés oxidativo.

En los pacientes en diálisis las defensas antioxidantes pueden disminuir, no sólo por el aumento de especies reactivas de oxígeno, sino también por la pérdida o lavado de antioxidantes debido a la diálisis. Este hecho depende fundamentalmente de su tamaño molecular, que condiciona el aclaramiento menor o mayor de la sustancia, y de si el paso de sangre por la membrana de diálisis hace que aumente su producción. González-Díez *et al.*, 2008, observaron que la TAC en plasma en pacientes dializados disminuía significativamente en pacientes en hemodiálisis independientemente de la técnica aplicada, pero no se observaban diferencias significativas entre las técnicas de hemodiálisis a lo largo del año de estudio (González-Díez *et al.*, 2012). Sin embargo, Rysz *et al.*, 2010, demostraron que los niveles de TAC están constantemente elevados en los pacientes con ERC en diálisis peritoneal, hemodiálisis y hemodiafiltración, comparado con controles sanos, sin embargo, no observaron diferencias en el aumento de niveles de TAC entre los pacientes tratados con las diferentes modalidades de diálisis. En este sentido en nuestro estudio, para ABTS no se encontraron diferencias significativas entre ambas técnicas, pero al año de seguimiento, esta diferencia fue favorable para el grupo en HDF-OL, para FRAP que al contrario que con ABTS el valor promedio fue incrementándose a lo largo de año de seguimiento en ambas técnicas. Los niveles medios de las determinaciones de polifenoles

son superiores, prácticamente a lo largo del año de seguimiento, en el grupo en HDF-OL, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Distintos autores asocian la disminución del ácido úrico u otros antioxidantes plasmáticos como el ascorbato, el tocoferol o GSH durante el proceso de diálisis con una disminución de la capacidad antioxidante (González-Díez *et al.*, 2008; Ujhelyi *et al.*, 2006; Jackson *et al.*, 1995). Sin embargo otros autores sugieren un aumento tras la diálisis de componentes con capacidad antioxidante como los grupos tiólicos proteicos (Przemyslaw *et al.*, 2006; Himmelfarb *et al.*, 2002) que posiblemente contribuyan compensando la capacidad antioxidante del plasma.

En este sentido en nuestro estudio se observó que la TAC del plasma varía en función de la metodología aplica. Se observó una disminución en la TAC resultado de la sesión de diálisis cuando se evalúa la capacidad reductora a través del método FRAP, significativa para las dos técnicas aplicadas. Sin embargo, cuando se evalúa la capacidad antioxidante a través del método ABTS la sesión de diálisis resulta en un aumento del TAC, siendo este aumento estadísticamente significativo para las dos técnicas. La capacidad antioxidante de la plasma evaluada a través del método de polifenoles, muestra niveles estadísticamente significativos más altos en los pacientes en HDF-OL, y esta técnica resultó en una reducción estadísticamente significativa más alta de los niveles plasmáticos de polifenoles en relación a una sesión de diálisis, que en los pacientes en HD-HF. El resultado para FRAP y para Polifenoles coincide con los resultados observados por Malliaraki N. *et al.*, 2003, y por Rysz *et al.*, 2010, en este último en las dos sesiones de HD y HDF, la TAC se redujo significativamente por debajo de los niveles de control, mientras que en los pacientes en diálisis peritoneal se mantuvo en el mismo nivel. En el curso de una sesión de HDF, la disminución de la TAC fue menor que en una sesión de HD, siendo este último resultado discordante con los nuestros, ya que hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las dos técnicas en cuanto al descenso de TAC, mayor en Polifenoles, en la técnica HDF-OL, debido a su mayor eficacia depurativa de moléculas.

Por lo tanto, en nuestro estudio en relación a la TAC encontramos, unos niveles medios superiores en los pacientes en HDF-OL, en general, sobre todo en el caso de polifenoles, donde si es significativa, y algo más discreto para ABTS. Estos datos sugieren que en general, los pacientes en HDF-OL presentan una capacidad antioxidante mayor que los pacientes en HD-HF.

Además de los componentes con actividad antioxidante del plasma las células sanguíneas disponen de un mecanismo de defensa endógeno constituido por un mecanismo de defensa no enzimático formado por el GSH. Las alteraciones de los sistemas que regulan los niveles de GSH ocurren desde las etapas más tempranas de la ERC y aumentan de forma gradual con el grado de disfunción renal (Khazim *et al.*, 2013; El-Far *et al.*, 2005; Mimic-Oka *et al.*, 1999; Ceballos-Picot *et al.*, 1996) lo que hace que estos enfermos sean más susceptibles al daño oxidativo por los radicales libres.

El glutatión es un tiol tripeptídico que se encuentra en el interior de todas las células animales y que es probablemente el antioxidante celular más importante. El glutatión oxidado (GSSG) es muy tóxico para las células por lo que el organismo tiende a la reducción del GSSG a GSH mediante la glutatión-reductasa. Así, la medida del cociente GSSG/GSH se considera un estimador fiable del grado de estrés oxidativo celular (Schaffer *et al.*, 2001; Ceballos-Picot *et al.*, 1996).

Los estudios de los efectos de la sesión de diálisis sobre parámetros indicadores del estrés oxidativo resultan contradictorios. Algunos estudios sostienen que como resultado del proceso dialítico, debido a la biocompatibilidad de la membrana, o a las cualidades del agua de diálisis o por la presencia de contaminantes, puede incrementar el déficit de antioxidantes en estos enfermos con ERC contribuyendo a un incremento en el estrés oxidativo (Gonzalez Rico *et al.*, 2006; Dursun *et al.*, 2005; Dursun *et al.*, 2002). Por otro lado, se encuentran aquellos trabajos cuyos resultados muestran que la defensa enzimática frente a los ROS está inducida en la sangre de los pacientes sometidos a diálisis regular (Schettler *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 1998) o en linfocitos de pacientes con ERC sometidos a tratamiento de hemodiálisis (Gonzalez Rico *et al.*, 2006), aunque sus niveles permanecían por debajo del

grupo control de individuos sanos, y este incremento va acompañado de la disminución del daño oxidativo. Estos autores sostienen que la diálisis puede ser un mecanismo de defensa al corregir el estado oxidativo de estos pacientes. Los resultados también resultan contradictorios cuando se analiza el antioxidante no enzimático GSH. González-Díez *et al.*, 2012; Alhamdani *et al.*, 2005, y Mimic-Oka *et al.*, 1998, observaron que no se encontraba comprometido este tripéptido como resultado de la diálisis, sin embargo otros autores han observado un incremento del mismo derivado del tratamiento con diálisis (Wlodek *et al.*, 2006; Golubev *et al.*, 2005; Alhamdani, 2005; Schettler *et al.*, 1998; Ceballos-Picot *et al.*, 1996). En este sentido nosotros encontramos en nuestro trabajo que los valores promedios del glutatión reducido (GSH), pre y post una sesión de diálisis con ambas técnicas, no se vieron modificados, sin existir diferencias estadísticamente significativas para ambas técnicas, únicamente encontramos unos niveles posthemodiálisis significativamente más altos para GSH en el grupo en HDF-OL. GSH experimentó a lo largo del año de seguimiento un aumento, hasta más del doble de los valores basales en el grupo en HDF-OL y más del triple de los valores en el grupo en HD-HF, similar a estos últimos autores, la media de las determinaciones fue superior en el grupo en HDF-OL, prácticamente en todas las determinaciones, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa salvo en la determinación de los 9 meses. En cuanto al cociente GSSG/GSH, encontramos que los pacientes en HD-HF presentaron valores significativamente superiores a los de los pacientes en HDF-OL, indicando un mayor estrés oxidativo en los pacientes en HD-HF, no encontramos diferencias significativas sin embargo en cuanto a los valores pre y posthemodiálisis entre ambas técnicas, siendo similar su eficacia en la reducción de los niveles plasmáticos de GSSG/GSH. Se observan grandes oscilaciones a lo largo del año de estudio en la relación GSSG/GSH, posiblemente se deba a lo sensible de este parámetro a cambios en el estrés oxidativo. El resultado del año de diálisis en ambas técnicas no resulta en un cambio significativo, a pesar de que el valor medio en el grupo en HD-HF desciende hasta casi la mitad, mientras que los del grupo en HDF-OL presentan un valor ligeramente inferior al del inicio, e inferior a los del grupo en HD-HF. En lo que se refiere a los cambios producidos en una única sesión de

diálisis para GSH y GSSG/GSH, en general, no se encontraron diferencias significativas en los valores de las determinaciones para ninguna de las dos técnicas. En cuanto a la influencia en la modalidad de hemodiálisis en estos parámetros, Calo *et al.*, 2007, encontraron que los pacientes en HDF pero en la modalidad HFR tenían menos estrés oxidativo comparado con la diálisis convencional, en este sentido en nuestro trabajo de nuevo encontramos unos niveles más bajos de GSSG/GSH a lo largo del año de seguimiento en el grupo en HDF-OL, indicando menor estrés oxidativo y menor estado inflamatorio en el grupo en HDF-OL.

Torregrosa *et al.*, 2007, encontraron que los pacientes afectos de enfermedad renal crónica terminal que reciben tratamiento sustitutivo se encuentran sometidos a un estrés oxidativo adicional, como muestra el incremento en los ratios GSSG/GSH. Sin embargo los pacientes en el grupo HDF-OL diaria presentan cocientes GSSG/GSH post-hemodiálisis y valores de PCR inferiores. González *et al.*, 2012, encontraron que comparando la HDF pero en su modalidad HFR con la diálisis convencional, en los pacientes dializados con HFR los niveles de antioxidantes y biomarcadores de daño oxidativo fueron en general más bajos y experimentaban menos fluctuaciones. En nuestro trabajo las medias de las determinaciones para GSH, en general, son superiores en el grupo en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis, en el caso de la relación GSSG/GSH es el grupo en HD-HF, el que parte con unas medias mayores tanto en las determinaciones pre como posthemodiálisis, a lo largo del año de seguimiento esta diferencia se mantiene, esto sugiere como en caso de los anteriores autores que los pacientes en HDF-OL presentan una mejor actividad antioxidante del plasma.

El sistema antioxidante tioredoxina (Trx) es uno de los mayores sistemas de control redox que existe tanto a nivel de citoplasma celular como a nivel mitocondrial. Es sabido que la Trx se libera desde las células en respuesta al estrés oxidativo y juega un papel protector importante contra el daño oxidativo (Tanaka *et al.*, 2001). Niveles altos de Trx se encuentran en diferentes enfermedades y está asociado con la severidad de la enfermedad (Bell *et al.*,

2011; Maulik *et al.*, 2008) lo que sugiere que los niveles de Trx en plasma son un biomarcador de respuesta al estrés oxidativo (Mahmood *et al.*, 2013).

En nuestro estudio los valores promedio de Trx experimentan un descenso significativo en relación a la realización de una sesión de diálisis en ambas técnicas. En cuanto a las diferencias entre las técnicas, encontramos que las medias de las determinaciones, son significativamente mayores en el grupo de los pacientes en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis, resultados que son concordantes con los de los anteriores autores en los que se encontraba una mejor actividad antioxidante en la modalidad de diálisis HDF, la HDF-OL realiza una reducción significativamente mayor de los niveles plasmáticos de Trx, en relación a la realización de una sesión de diálisis, que la HD-HF. Aunque resultado de ambas técnicas se observa una disminución significativa a lo largo del año de estudio, lo cual indica un menor estrés oxidativo.

Por lo tanto, en nuestro estudio en cuanto a la valoración en general del estado redox, encontramos que los pacientes en HDF-OL tienen niveles más altos de antioxidantes y en general, una mejora significativa de la actividad antioxidante comparados con los pacientes en HD-HF, y que esta actividad no se modifica en la sesión de diálisis en términos de GSH y GSSG/GSH, pero si para tiorredoxina, que desciende significativamente en ambas técnicas, pero esta reducción es significativamente mayor en los pacientes en HDF-OL. Los pacientes en HD-HF presentaron unos valores significativamente mayores que los pacientes en HDF-OL, tanto pre como posthemodiálisis, para el cociente GSSG/GSH, y los pacientes en HDF-OL presentaron unos niveles significativamente mayores para Trx, tanto pre como posthemodiálisis, así como para los niveles posthemodiálisis de GSH, lo que indica un mayor estrés oxidativo en los pacientes en HD-HF. Estos hallazgos podrían justificarse por el hecho de que los pacientes en HDF-OL presentan mejores dosis de diálisis, mejor depuración de moléculas de mediano peso molecular y en general una disminución del estado inflamatorio crónico.

Como ya hemos comentado previamente, la enfermedad renal crónica es un estado pro-oxidante, que se caracteriza por el aumento de los niveles de radicales libres oxidantes relativos a los antioxidantes (Tuker *et al.*, 2015).

Cuando la producción de radicales libres supera las defensas antioxidantes disponibles, el exceso de radicales reaccionan con todas las clases de moléculas biológicas tales como, lípidos, polipéptidos y ácidos nucleicos, causando peroxidación lipídica, desnaturalización de las proteínas y lesiones vasculares (Sies, 2015; Lushchak, 2014).

De particular relevancia para el daño tisular es la alteración oxidativa de los ácidos grasos por los radicales libres, lo que se conoce como peroxidación lipídica. Los hidroperóxidos tienen efectos tóxicos sobre las células endoteliales y pueden reaccionar también con metales de transición para formar aldehidos estables, como el malondialdehido (MDA), marcador más utilizado para la peroxidación lipídica. Como se comentó previamente, las complicaciones vasculares son la principal causa de morbimortalidad en pacientes con ERC. Un aumento de la peroxidación lipídica ha sido asociado con la ERC (Miler *et al.*, 2006; Mimic-Oka *et al.*, 1999) y con los procesos de diálisis y es posible que juegue un papel importante en el desarrollo de la disfunción endotelial arterial en esta patología (Dursun *et al.*, 2005).

Las proteínas también son excelentes dianas para el ataque de radicales libres bajo condiciones de estrés oxidativo. Tanto la oxidación directa como la reacción secundaria con productos de oxidación de lípidos o carbohidratos distorsionan la estructura y propiedades de las proteínas y consecuentemente su funcionalidad. Entre las modificaciones covalentes originadas por la oxidación directa o indirecta de las proteínas, una de la más comunes es la aparición de grupos carbonilo (aldehídos y cetonas) en aminoácidos como prolina, arginina, lisina o treonina (Lushchak, 2007; Levine *et al.*, 1990; Baynes *et al.*, 1989; Davies, 1987). La acumulación de los grupos carbonilo proteicos es considerado como un marcador del daño oxidativo a las proteínas en distintas patologías como en la enfermedad renal. La uremia y el tratamiento dialítico están asociados con un estrés oxidativo y carbonilo y con un estado de microinflamación. La elevación de los productos avanzados del estrés oxidativo y carbonilo, productos proteicos de la oxidación avanzada (AOPP), productos finales de la glicación avanzada (AGEs), y productos finales de la lipoperoxidación (ALEs), autoanticuerpos frente a las estructuras biológicas

modificadas, y reactantes de fase aguda (proteína C reactiva [PCR], fibrinogeno), se sabe toman parte en el desarrollo de varias complicaciones, entre ellas la aterosclerosis acelerada (Kalousova *et al.*, 2003). Evidencias de los últimos años sugieren que en la uremia el aumento de los compuestos carbonilos, derivados tanto de los carbohidratos como de los lípidos, modifica las proteínas tanto por las reacciones de glicoxilación (lo que da lugar a un aumento de la producción de AGES) como por las de lipoxidación (que se sigue de un aumento de los productos finales de lipoxidación avanzada, (ALE). Por tanto la uremia puede ser un estado de sobrecarga de carbonilos con un potencial daño proteico, “carbonil estrés”. El carbonil estrés en la uremia parece ser relevante en las complicaciones a largo plazo asociadas a la ERC y la diálisis (Miyata *et al.*, 2000).

Nosotros hemos determinado los niveles de MDA para valorar el grado de peroxidación lipídica y los niveles de grupos carbonilo como marcador del daño oxidativo a proteínas en plasma.

Aunque la presencia de estrés oxidativo en pacientes con ERC en diálisis está ampliamente aceptada (González-Díez *et al.*, 2008; Himmelfarb *et al.*, 2002; Descamps-Latscha *et al.*, 2001; Clermont *et al.*, 2000; Canaud *et al.*, 1999; Ceballos-Picot *et al.*, 1996), todavía existe debate acerca de los niveles en la peroxidación lipídica y los niveles de grupos carbonilo en los pacientes en HD y sus variaciones intradiálisis.

Capusa *et al.*, 2012, Khedidja *et al.*, 2010 y González-Díez *et al.*, 2008, encontraron aumento significativo de la peroxidación de lípidos en plasma en los pacientes en diálisis en comparación a los pacientes sanos, lo que indica un empeoramiento progresivo de estrés oxidativo a medida que disminuye la función renal y el aumento de la peroxidación de lípidos en la enfermedad renal crónica avanzada en diálisis. Erdogan *et al.*, 2002, al analizar parámetros de oxidación lipídica y proteica en un grupo de pacientes con ERC en diálisis, no encontraron diferencias con respecto a un grupo control sano.

Los efectos que una sesión de HD pueda producir sobre el estrés oxidativo (EO) es tema de controversia. Para algunos autores la HD agravaría el EO

debido a la activación de células inflamatorias causada por el uso de membranas bioincompatibles y por pérdidas netas de antioxidantes solubles en agua como vitaminas hidrosolubles, oligoelementos y enzimas antioxidantes de bajo peso molecular (Hegbrant and Hultkvist Bengtsson, 1999; Bohm *et al.*, 1997) o por una generación de radicales libres (Wratten *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 1985). Y la influencia del tipo de técnica y membrana utilizada, ha sido ampliamente estudiada y es un factor determinante en la generación de estrés oxidativo (Gonzalez-Diez *et al.*, 2012; Floccari *et al.*, 2005; Odetti *et al.*, 1996; Cheung, 1990). Los resultados obtenidos son contradictorios en cuanto a biomarcadores de estrés oxidativo. Hay trabajos en los que los hallazgos obtenidos indican que la peroxidación lipídica está aumentada en los pacientes como resultado de la diálisis (Durak *et al.*, 2004; Ozden *et al.*, 2002; Chugh *et al.*, 2000; Westhuyzen *et al.*, 1995), por lo que concluyeron que el EO de los pacientes con ERC es exacerbado por la HD. En sentido contrario Samouilidou and Grapsa, 2003, y Steghens *et al.*, 2005, observaron que tras la HD, disminuían significativamente los biomarcadores de estrés oxidativo lo que les permitía considerar la hemodiálisis como técnica correctora del estrés oxidativo. En este sentido en nuestro trabajo encontramos diferencias significativas en las determinaciones de MDA pre y post sesión de diálisis para ambas técnicas, HDF-OL resultó en una mayor reducción de los niveles plasmáticos, en relación a la realización de una sesión de diálisis, de MDA estadísticamente significativa, y esta reducción fue significativamente superior cuando se compara con HD-HF, lo cual sugiere, como veníamos observando, que la HDF-OL reduce la actividad inflamatoria. Nuestros resultados muestran que el comportamiento del biomarcador de daño oxidativo a lípidos fue muy similar con ambas técnicas, a lo largo del año de seguimiento, los valores promedio de MDA en el grupo en HD-HF se mantuvieron estables, para terminar con un valor no significativamente superior al inicial, ocurre lo mismo para los del grupo en HDF-OL, aunque este incremento no fue significativo estos resultados confirman lo observado por otros autores (Miller M *et al.*, 2006; Diepeveen *et al.*, 2005; Koken *et al.*, 2004) que afirman que la hemodiálisis crónica incrementa el estrés oxidativo.

Por otro lado, estudiamos el daño oxidativo sobre las proteínas. Witko-Sarsat *et al.*, 1998, identificaron lo que llamaron productos finales de la oxidación proteica avanzada (AOPPs) en virtud de su analogía con los productos finales de la glucosidación avanzada (AGE) en pacientes con ERC en diferentes situaciones: en prediálisis, hemodiálisis y diálisis peritoneal. Los pacientes en prediálisis tenían los niveles más bajos entre los tres grupos, aunque significativamente más elevados que el grupo control de pacientes sanos (Puchades *et al.*, 2009). En nuestro estudio, la valoración de la oxidación proteica la realizamos con la medición de los grupos carbonilos (GC).

Los grupos carbonilo son un importante marcador de la oxidación proteica y reflejo de la formación de grupos aldehído. La producción de estos grupos carbonilo puede ser directamente por oxidación de las cadenas laterales de los aminoácidos, a través de la escisión oxidativa de proteínas o debido a productos de las peroxidación lipídica (Dalle-Donne *et al.*, 2003; Heinecke *et al.*, 1999). La presencia de grupos carbonilo está asociada a diferentes enfermedades (Dalle-Donne *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2001; Daugherty *et al.*, 1994). Otros autores sí que han demostrado correlación de productos derivados de la oxidación proteica con el declive de la función renal, siempre con un elevado número de pacientes y considerando todos los estadios de enfermedad renal (Dalle-Donne *et al.*, 2003; Himmelfarb *et al.*; 2000; Witko-Sarsat *et al.*, 1998).

Este biomarcador puede verse afectado por la diálisis y los resultados en la bibliografía son contradictorios en lo que se refiere a la oxidación a proteínas plasmáticas. Ward *et al.*, 2003; mostraron que la producción de ROS por los neutrófilos se normaliza durante la diálisis de alto flujo a pesar de un aumento transitorio al inicio de la HD. Este descenso en la producción de ROS se asocia con una mejoría de algunos, aunque no de todos, los parámetros de oxidación proteica. Dursun *et al.*, 2005; observaron que los grupos carbonilos en los pacientes con ERC presentaban la concentración aumentada comparada con el grupo control. El efecto de la membrana polisulfona (PS) sobre los grupos carbonilo fue estudiado por Slowik-Zylka, 2004; observándose una menor concentración plasmática de la molécula pentosidina que deriva de precursores

que contienen una gran cantidad de grupos carbonilos. Himmelfarb *et al.*, 2000; examinaron el efecto del procedimiento dialítico usando membranas compatibles (PS) y bioincompatibles (cuprofán) y concluyeron que los pacientes con ERC y los que reciben hemodiálisis tienen un aumento de la oxidación proteica que se manifiesta por la oxidación de grupos tiol y la formación de grupos carbonilo, y que la HD con membranas compatibles y bioincompatibles restablecía los grupos tiol a niveles normales. Nuestros resultados muestran que la diferencia entre los valores promedio pre y post en una sesión de diálisis en las dos técnicas, no es estadísticamente significativa con excepción al inicio, en este caso el valor se reduce, mientras que no existen diferencias entre los valores pre y post en las otras determinaciones. En nuestro trabajo encontramos que el comportamiento del biomarcador del daño oxidativo a proteínas plasmáticas presenta pequeñas diferencias entre ambas técnicas, a lo largo del año de seguimiento, los niveles de grupos carbonilos (GC) experimentaron una progresiva reducción de los valores promedio, únicamente la determinación a los 12 meses en el grupo en HDF-OL fue más elevada de manera aislada, estos resultados coinciden con los obtenidos por Walker *et al.*, 2004; quienes observaron que la HD-PS de bajo flujo durante un año o más, puede disminuir el nivel de oxidación proteica y sugerían que podría estar relacionado con un descenso en el estrés oxidativo y una mayor biocompatibilidad de la membrana de PS.

Por lo tanto, nuestros resultados muestran que el comportamiento del biomarcador de daño a biomoléculas fue muy similar en ambas técnicas, únicamente los datos indican que la HDF-OL es más efectiva en la reducción de los niveles plasmáticos de MDA durante la sesión de diálisis, lo que en iguales condiciones y como se venía observando la HDF-OL parece que disminuye el estado inflamatorio crónico, bien por la mayor eliminación de moléculas mediadoras de la inflamación o por el descenso en la producción de las mismas.

La indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) es una enzima que cataliza la degradación de triptófano (Trp) por la vía de la quinurenina (Kyn). Esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en diversos tipos de células, incluyendo

las células presentadoras de antígeno (APC), monocitos, macrófagos y dendríticas las células. La expresión deIDO en APCs se acompaña de respuesta inmune adaptativa deteriorada (Schröcksnadel *et al.*, 2006). La indolamina 2,3-dioxigenasa es una enzima intracelular cuya expresión es inducible por citoquinas inflamatorias, particularmente interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Sakash *et al.*, 2002).

Diferentes estudios indican que en los pacientes en hemodiálisis los niveles plasmáticos de triptófano (Trp) se reducen mientras que los de quinurenina (Kyn) se incrementan cuando se comparan con sujetos sanos, quizás relacionados a una mayor actividad laIDO y se correlaciona con procesos inflamatorios y estrés oxidativos (Tanaka *et al.*, 2014; Kato *et al.*, 2010; Koenig *et al.*, 2010; Pawlak *et al.*, 2001). La acumulación de metabolitos de Trp en la sangre se cree que contribuyen tanto a los síntomas urémicos como al desarrollo de trastornos neurológicos, a un aumento de susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, hipertensión, alteraciones de los lípidos y anemia (Pawlak *et al.*, 2001). Un aumento en Kyn y en sus metabolitos también ha sido encontrado en el tejido cerebral de ratas urémicas (Topczewska-Brunns *et al.*, 2002). También se ha encontrado acúmulo de los metabolitos del Trp en los eritrocitos de los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada (Laurence *et al.*, 2007). La actividad de la indolamina 2,3-dioxigenasa también se ha asociado con la disminución de la supervivencia del injerto en pacientes trasplantados renales, la elevación del ratio kyn/trp de los pacientes en diálisis parece normalizarse después del trasplante renal pero en los episodios de rechazo aparece de nuevo elevación del ratio kyn/trp (Mulley and Nikolic-Paterson, 2008; Brandaocher *et al.*, 2007).

La actividad de la indolamina 2,3-dioxigenasa se considera un factor de riesgo de desarrollo de arteriosclerosis (Pertovaara *et al.* 2007). Parece existir una correlación positiva con el grosor de la íntima media de la arteria carótida en la población general (Niinisalo *et al.*, 2008; Pertovaara *et al.* 2007). También se ha correlacionado con otros factores de riesgo de la arteriosclerosis como la edad, el aumento de los niveles de LDL colesterol y de la PCR (Pertovaara *et al.* 2007) y un aumento de la actividad de laIDO también se ha encontrado en los

pacientes con enfermedad coronaria con y sin enfermedad renal crónica avanzada en hemodiálisis (Eleftheriadis *et al.*, 2012; Wirleitner *et al.*, 2003).

Kato *et al.*, 2010, encontraron que los en los pacientes en hemodiálisis la actividad de IDO estaba aumentada, también observaron en estos un aumento del grosor intima media de la carótida y un mayor tamaño de la placa arteriosclerótica, estos hallazgos apoyan los resultado de otros autores, en cuanto a la relación entre los niveles aumentados de IDO y el avanzada arterosclerosis de los pacientes en hemodiálisis (Kato *et al.*, 2010; Pawlak *et al.*, 2009).

En los pacientes en hemodiálisis encontramos varios candidatos para el mantenimiento de un estado de inflamación crónica, entre ellos los agentes infecciosos y la interacción de las células sanguíneas con los aparatos, tampones de diálisis, tubos y membranas durante el proceso de diálisis. La reducción del triptófano a través de la activación IDO se ha visto que puede disminuir la respuesta de células T (Munn *et al.*, 2002), y por lo tanto este mecanismo podría, al menos parcialmente, estar implicado en el estado inmunodeficiente (Sawitzki *et al.*, 2005) a menudo observado en pacientes en diálisis. Tanaka A *et al.*, 2014; estudiaron la correlación entre la actividad de la IDO y marcadores inmunológicos como recuento total de linfocitos y monocitos, la actividad de las células natural killer (NK) y sIL-2R en los pacientes en hemodiálisis, sus resultados sugieren que el aumento de la actividad de IDO podría estar asociado con la alteración de la función de las células NK. Se sabe que la IDO ejerce una acción supresora en la proliferación de las células NK, lo que se traduce en una mayor susceptibilidad a las infecciones y a procesos malignos (Lonnemann, 2008). También el incremento de la actividad de IDO se ha asociado con una inadecuada respuesta inmunológica a la vacuna de hepatitis B en los pacientes en hemodiálisis (Eleftheriadis *et al.*, 2011).

Schefold *et al.*, 2009, demostraron que existía un acúmulo de metabolitos de Trp en los pacientes con ERC, estos productos como ya hemos comentado, tienen un papel crucial en la patogénesis del síndrome urémico, y además sólo son parcialmente eliminados en la hemodiálisis convencional (HD-LF), este hecho se justifica ya que formarían parte del grupo de toxinas urémicas unidas

a proteínas, las cuales presentan bajos aclaramientos con la hemodiálisis convencional (Lesaffer *et al.*, 2000), con mejores resultados en las técnicas en la HD-HF y sobre todo en las convectivas como en la HDF-OL, no hemos encontrado literatura a este respecto para los metabolitos del Trp. Demostraron también que en los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), la actividad de IDO se correlaciona inversamente con el aclaramiento de creatinina, y que la HD-LF no influía en los niveles de IDO (Scheffold *et al.*, 2009). Estos resultados difieren de los obtenidos en nuestro trabajo, donde observamos que los niveles de quinurenina como indicador de la actividad IDO experimentaron una reducción significativa de los valores promedio pre y post realización de una sesión de diálisis en ambas técnicas, sin embargo cuando se comparan HDF-OL demostró una reducción significativamente mayor de los niveles plasmáticos de quinurenina durante la sesión diálisis que HD-HF, pero actualmente no existe bibliografía con la que comparar estos datos.

En los pacientes en HD, la actividad de la IDO aumenta con el tiempo en diálisis, estos hallazgos son concordantes con los encontrados en nuestro trabajo donde observamos un aumento en los valores promedio de quinurenina en ambas técnicas a lo largo del año de seguimiento, lo que se correlaciona con la inflamación, el estrés oxidativo y la arterosclerosis (Eleftheriadis *et al.*, 2012; Kato *et al.*, 2010; Scheffold *et al.*, 2009; Pawlak *et al.*, 2009).

En nuestro trabajo el comportamiento de la actividad de la IDO fue similar en ambas técnicas, únicamente de nuevo encontramos que la HDF-OL es más eficaz en la reducción de los niveles plasmáticos de la IDO, lo que implica una disminución del estado inflamatorio crónico, bien por la mayor eliminación de moléculas mediadoras de la inflamación o por la menor producción de las mismas.

## **CONCLUSIONES**



## 6. CONCLUSIONES

1. Los biomarcadores del estado nutricional indican que los pacientes dializados con HDF-OL tienen un menor riesgo de enfermedad cardiovascular resultado de:
  - La correlación positiva observada en los pacientes en HDF-OL, entre peso e IMC, con indicadores de masa magra, a diferencia de los pacientes dializados con HD-HF, que mostraron una correlación negativa.
  - Los niveles más altos de creatinina en los pacientes en HDF-OL a diferencia de los pacientes dializados con HD-HF se correlacionan con un menor daño oxidativo a lípidos, medido como MDA, biomarcador elevado en la enfermedad cardiovascular.
  - Los niveles más altos de albúmina y proteínas totales plasmáticas, en los pacientes en HDF-OL que en los pacientes dializados con HD-HF, lo que se traduce en un mejor perfil nutricional, menor estado inflamatorio y menor riesgo de mortalidad.
2. En ambas técnicas de diálisis, tiene lugar un aumento de la capacidad antioxidante evaluada como capacidad reductora del plasma y disminuye la capacidad estabilizadora de radicales. La técnica HDF-OL mostró una mayor capacidad reductora medida por el índice de polifenoles.
3. La ausencia de cambios en el tiempo del estado redox plasmático, medido como el cociente GSSG/GSH de los pacientes en HDF-OL y HD-HF, indica una adecuada biocompatibilidad de ambas técnicas. La mayor reducción de los niveles de tiorredoxina plasmática en la HDF-OL se debe a la mayor eliminación de moléculas que se realiza en esta técnica por los altos volúmenes convectivos a diferencia de la HD-HF.

4. Los biomarcadores de daño oxidativo a proteínas y a lípidos dependen de la técnica de diálisis. La técnica HD-HF muestra buena biocompatibilidad, al no observarse incrementos en daño oxidativo a proteínas y lípidos con el tiempo, y de la HDF-OL en la producción de daño oxidativo a lípidos.
  
5. La técnica HDF-OL reduce más eficazmente los niveles plasmáticos de la molécula inmunomoduladoraIDO frente a la HD-HF, disminuyendo así los riesgos inflamatorios implicados en el síndrome urémico.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abudu N, Miller JJ, Attaelmannan M, Levinson SS. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E Clin Chim Acta 2004; 339(1-2):11-25.

Ahrenholz P, Winkler RE, Ramlow W, et al. On-line hemodiafiltration with pre- and postdilution: a comparison of efficacy. Int J Artif Organs 1997; 20:81.

Akchurin OM., Kaskel F. Update on inflammation in chronic kidney disease. Blood Purif. 2015; 39(1-3):84-92.

Alani H, Tamimi A, Tamimi N. Cardiovascular co-morbidity in chronic kidney disease: Current knowledge and future research needs. World J Nephrol. 2014 November 6; 3(4): 156–168.

Alegre, E., López, A.S., González, A. Tryptophan metabolites interfere with the Ehrlich reaction used for the measurement of kynurenine. Anal. Biochem. 2005; 339: 188-189.

Alhamdani MS. Impairment of glutathione biosynthetic pathway in uraemia and dialysis. Nephrol Dial Transplant. 2005; 20(1): 124-8.

Altieri P, Sorba GB, Bolasco PG, et al. On-line predilution hemofiltration versus ultrapure high-flux hemodialysis: a multicenter prospective study in 23 patients. Sardinian Collaborative Study Group of On-Line Hemofiltration. Blood Purif 1997; 15:169.

Altieri P, Sorba G, Bolasco P, et al. Predilution haemofiltration--the Second Sardinian Multicentre Study: comparisons between haemofiltration and haemodialysis during identical Kt/V and session times in a long-term cross-over study. Nephrol Dial Transplant 2001; 16:1207.

Anders HJ, Andersen K, Stecher B: The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease. Kidney Int 2013; 83: 1010–1016.

Anderstam B, Mamoun A, Södersten P, Berström J: Middle-sized molecule fractions isolated from uremic ultrafiltrate and normal urine inhibit ingestive behavior in the rat. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7 (11):2453-2460.

Archiardo S. *et al.* Malnutrition as the main factor in morbidity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1983, 24, suppl. 16: S199-203.

Asuka Tanaka, Akihiko Kato, Yuzo Suzuki, Masako Suzuki, Hiromitsu Ohmori, Ryo Sumimoto and Hideki Ohdan. Association of Increased Indoleamine 2, 3-Dioxygenase with Impaired Natural Killer Cell Activity in Hemodialysis Patients. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2014; 18(1):19–23.

Aveles PR, Criminacio CR, Goncalves S, Bignelli AT, Claro LM, Siqueira SS, Nakao LS, Pecoits-Filho R: Association between biomarkers of carbonyl stress with increased systemic inflammatory response in different stages of chronic kidney disease and after renal transplantation. *Nephron Clin Pract* 2010; 116:c294–c299.

Avram MM, Goldwasser P, Burrell DE, Antignani A, Fein PA, Mittman N: The uremic dyslipidemia: A cross-sectional and longitudinal study. *Am J Kidney Dis* 1992; 20: 324–335.

Azak A, Akdogan MF, Denizli N, Huddam B, Kocak G, Gucun M, Tatlisu MA, Demirci R, Yilmaz B, Dikec M, Bakirtas M, Akdag I, Duranay M: Soluble TWEAK levels are independently associated with coronary artery disease severity in patients with stage 2–3 kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2014; 46: 411–415.

Baynes JW, Watkins NG, Fisher CI, Hull CJ, Patrick JS, Ahmed MU, Dunn JA, Thorpe SR. The Amadori product on protein: structure and reactions. *Prog Clin Biol Res.* 1989; 304:43-67.

Bazeley J, Bieber B, Li Y, Morgenstern H, de Sequera P, Combe C, Yamamoto H, Gallagher M, Port FK, Robinson BM: C-reactive protein and prediction of 1-year mortality in prevalent hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 2452–2461.

Beckman, K.B., and Ames, B.N. Oxidative decay of DNA. *The Journal of Biological Chemistry* 1997; 272, 19633-19636.

Bedard K. and Krause K.-H. The NOX family of ROS generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews* 2007; vol. 87, no. 1, pp. 245–313.

Beddhu S et al. Creatinine production, nutrition, and glomerular filtration rate estimation. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1000–1005.

Beddhu S et al. Effects of body size and body composition on survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2366–2372.

Beerenhout CH, Luik AJ, Jeuken-Mertens SG, et al. Pre-dilution on-line haemofiltration vs low-flux haemodialysis: a randomized prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:1155.

Bell KF, Hardingham GE. CNS peroxiredoxins and their regulation in health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Apr 15; 14(8):1467-77.

Belonogov, R.N., Titova, N.M., Lapeshin, P.V., Ivanova, Y.R., Shevtsova, A.O., and Pokrovskii, A.A. Changes in the content of protein and lipid oxidative modification products in tumor tissue at different stages of lung cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2009; 147, 630-631.

Bemelmans MH, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 1993; 150:2007.

Ben-Dov IZ, Kark JD. Serum uric acid is a GFR-independent long-term predictor of acute and chronic renal insufficiency: The Jerusalem Lipid Research Clinic cohort study. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26(8):2558-2566.

Benzie, I.F., and Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 1996; 239, 70-76.

Berlett, B.S., and Stadtman, E.R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry* 1997; 272, 20313-20316.

Bertazzo A, Punzi L, Bertazzolo N *et al.* Tryptophan catabolism in synovial fluid of various arthropathies and its relationship with inflammatory cytokines. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 565.

Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, *et al.* Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001; 104:1336–1342.

Blankenberg S., Rupprecht H. J., Bickel C., Torzewski M., Hafner G., Tiret L., Smieja M., Cambien F., Meyer J., Lackner K. J. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1605–1613.

Blankestijn PJ, Ledebro I, Canaud B. Hemodiafiltration: clinical evidence and remaining questions. *Kidney Int* 2010; 77:581-7.

Blumenkrantz MJ, Kopple JD, Gutman RA *et al.*: Methods for assessing nutritional status of patients with renal failure. *Am J Clin Nutr* 1980; 33:1567-1585.

Boaz M, Matas Z, Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M, Smetana S. Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney Int.* 1999; 56(3): 1078-83.

Bohm V, Tiroke K, Schneider S, Sperschneider H, Stein G, Bitsch R: Vitamin C status of patients with chronic renal failure, dialysis patients and patients after renal transplantation. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67: 262-266.

Brandaocher G, Cakar F, Winkler C *et al.* Non-invasive monitoring of kidney allograft rejection through IDO metabolism evaluation. *Kidney Int* 2007; 71:60–7.

Brigelius, R., Muckel, C., Akerboom, T.P., and Sies, H. Identification and quantitation of glutathione in hepatic protein mixed disulfides and its relationship to glutathione disulfide. *Biochemical Pharmacology* 1983; 32, 2529-2534.

Burrowes JD et al. Cross-sectional relationship between dietary protein and energy intake, nutritional status, functional status, and comorbidity in older versus younger hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2002; 12: 87–95.

Cadenas E, Davies KJA. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Rad Biol Med.* 2000; 29: 222–230.

Caimi G., Carollo C., Montana M. Nitric oxide metabolites, leukocyte activation markers and oxidative status in dialyzed subjects. *Blood Purification* 2009; vol. 27, no. 2, pp. 194–198.

Calado IL, França AKTC, Santos AM, Salgado Filho N. Nutritional assessment of renal patients on hemodialysis at a University Hospital in São Luís, Maranhão. *J Bras Nefrol* 2007; 29 (4).

Calò LA, Naso A, Carraro G, et al. Effect of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate on oxidative stress in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:1413.

Canaud B, Cristol J-P, Morena M, Leray- Moragues H, Bosc J-Y, Vaussenat F: Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif* 1999; 17: 99–106.

Canaud B, Bosc JY, Leray-Moragues H et al. On-line haemodiafiltration. Safety and efficacy in long-term clinical practice. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(Suppl 1): 60–67.

Canaud B, Bragg-Gresham JL, Marshall MR, Desmeules S, Gillespie BW, Depner T, et al. Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis: European results from the DOPPS. *Kidney Int* 2006; 69:2087-93.

Cano N, Di Costanzo-Dufetel J, Calaf R, et al. Prealbumin-retinol-binding-protein-retinol complex in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 1988; 47:664.

Cappelli G, Tetta C, Canaud B. Is biofilm a cause of silent chronic inflammation in haemodialysis patients? A fascinating working hypothesis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:266.

Caravaca F, Martin MV, Barroso S, Cancho B, Arrobas M, Luna E, Sanchez-Casado E. Serum uric acid and C-reactive protein levels in patients with chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2005; 25(6): 645-54.

Carr A, Frei B. The role of natural antioxidants in preserving the biological activity of endothelium-derived nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2000; 15 28(12):1806-14.

Carracedo J, Merino A, Nogueras S, Carretero D, Berdud I, Ramírez R, Tetta C, Rodríguez M, Martín-Malo A, Aljama P. On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD14+CD16+ monocyte-derived dendritic cells: A prospective, crossover study. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17(8):2315-21.

Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC, Zingraff J, Verger C, Jungers P, Descamps-Latscha B. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med* 1996; 21:845–853.

Chait A, Han CY, Oram JF, Heinecke JW. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Lipoprotein-associated inflammatory proteins: Markers or mediators of cardiovascular disease. *J Lipid Res*. 2005; 46:389–403.

Chang JJ. Removal of lipopolysaccharide and reactive oxygen species using sialic acid immobilized polysulfone dialyzer. *Polym Adv Technol* 2009; 33:52-7.

Chen J, Muntner P, Hamm LL, et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. *Ann Intern Med* 2004; 140:167.

Chen J.-L., Huang Y.-J., Pan C.-H., Hu C.-W., and Chao M.-R. Determination of urinary malondialdehyde by isotope dilution LC-MS/MS with automated solid-phase extraction: a cautionary note on derivatization optimization. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; vol. 51, no. 9, pp. 1823–1829.

Chen MF, Chang CL, Liou SY. Increase in resting levels of superoxide anion in the whole blood of uremic patients on chronic hemodialysis. *Blood Purif.* 1998; 16(5): 290-300.

Chertow GM, Goldstein-Fuchs DJ, Lazarus JM, Kaysen GA. Prealbumin, mortality, and cause-specific hospitalization in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2005; 68:2794.

Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Berkoben M, Heyka R, Kaufman A, et al. Cardiac diseases in maintenance hemodialysis patients: results of the HEMO Study. *Kidney Int* 2004; 65:2380-9.

Cheung AK. Biocompatibility of hemodialysis membranes. *J Am Soc Nephrol.* 1990; 1:150–160.

Choi M. H., Lee I. K., Kim G. W., Kim B. U., Han Y. H., Yu D. Y., Park H. S., Kim K. Y., Lee J. S., Choi C., Bae Y. S., Lee B. I., Rhee S. G., Kang S. W. Regulation of PDGF signalling and vascular remodelling by peroxiredoxin II. *Nature.* 2005; 435:347–353.

Chonchol M, Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Newman AB, Siscovick DS et al. Relationship of uric acid with progression of kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2007, 50:239-247.

Chugh SN, Jain S, Agrawal N, Sharma A. Evaluation of oxidative stress before and after haemodialysis in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India.* 2000; 48(10): 981-4.

Chung SH, Heimbürger O, Stenvinkel P, et al. Association between inflammation and changes in residual renal function and peritoneal transport rate during the first year of dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:2240.

Claire H. den et al. Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney International* (2014) 86, 423–432; doi:10.1038/ki.2014.9.

Claire H. den Hoedt , Michiel L. Bots, Muriel P.C. Grooteman, Neelke C. van der Weerd, E. Lars Penne, Albert H.A. Mazairac , René Levesque, Peter J. Blankestijn, Menso J. Nube´, Piet M. ter Wee and Marinus A. van den Dorpel for the CONTRAST Investigators. Clinical Predictors of Decline in Nutritional Parameters over Time in ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9: 318–325.

Clark WR, Gao D. Low-molecular weight proteins in end-stage renal disease: potential toxicity and dialytic removal mechanism. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(Suppl 1):S41-S47.

Clermont G, Lecour S, Lahet J-J, Siohan P, Vergely C, Chevet D, et al: Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 618–623.

Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 2000; 35:S1-140.

Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. KDIGO 2012. *Kidney International Supplements* 2013; volume 3.

Colussi G, Frattini G. Quantitative analysis of convective dose in hemofiltration and hemodiafiltration: "predilution" vs. "postdilution" reinfusion. *Hemodial Int* 2007; 11:76.

Comhair S., Erzurum S. Redox Control of Asthma: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities *Antioxid Redox Signal* 2010 January 1; 12(1): 93–124.

Conner EM, Grishman MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996; 12:271-277.

Cordeiro AC, Queshri AR, Stenvinkel P, Heimbürger O, Axelsson J, Bárány P, et al. Abdominal fat deposition is associated with increased inflammation, protein-energy wasting and worse outcome in patients undergoing haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:562-8.

Craig RG, Kotanko P, Kamer AR, Levin NW. Periodontal diseases--a modifiable source of systemic inflammation for the end-stage renal disease patient on haemodialysis therapy? *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:312.

Cristina Capusa, Irina Stoian, Elvira Rus, Dana Lixandru, Carmen Barbulescu, Gabriel Mircescu. Does Dialysis Modality Influence the Oxidative Stress of Uremic Patients? *Kidney Blood Press Res* 2012; 35:220–225.

Dalle-Donne, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003 Mar; 329(1-2):23-38.

Daschner M, Lenhartz H, Bötticher D, Schaefer F, Wollschläger M, Mehls O, et al. Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidant levels. *Kidney Int*. 1996; 50:1268–72.

Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heninecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1994; 94:437-44.

Davenport A, Gardner C, Delaney M, Pan Thames Renal Audit Group. The effect of dialysis modality on phosphate control: haemodialysis compared to haemodiafiltration. The Pan Thames Renal Audit. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:897.

Davies KJA. Protein damage and degradation by oxygen radicals. Part 1. General-aspects. *J Biol Chem*. 1987; 262: 9895–9901.

De Francisco ALM. Sostenibilidad y equidad del tratamiento sustitutivo de la función renal en España. *Nefrología* 2011; 31:241-6.

De Mutsert R, Grootendorst DC, Indemans F, Boeschoten EW, Krediet RT, Dekker FW: Association between serum albumin and mortality in dialysis patients is partly explained by inflammation, and not by malnutrition. *J Ren Nutr* 2009; 19: 127–135.

De Nicola L, Minutolo R, Chiodini P, Borrelli S, Zoccali C, Postorino M, Iodice C, Nappi F, Fuiano G, Gallo C, Conte G, Italian Society of Nephrology Study Group Target Blood pressure Levels (TABLE) in CKD. The effect of increasing age on the prognosis of non-dialysis patients with chronic kidney disease receiving stable nephrology care. *Kidney Int.* 2012; 82(4):482.

De Oreo PB. Hemodialysis patient-assessed functional health status predicts continued survival, hospitalization, and dialysis-attendance compliance. *Am J Kidney Dis* 1997; 30:204.

De Winther MP, Kanters E, Kraal G, Hofker MH. Nuclear factor kappa B signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:904–914.

Degoulet P, Legrain M, Réach I, et al. Mortality risk factors in patients treated by chronic hemodialysis. Report of the Diaphane collaborative study. *Nephron* 1982; 31:103.

Deicher R, Ziai F, Bieglmayer C, et al. Low total vitamin C plasma level is a risk factor for cardiovascular morbidity and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1811.

Depner TA. Uraemic toxicity: urea and beyond. *Semin Dial* 2001; 14:246-51.

Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V: Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 2001; 14: 193–199.

Devine P., Perreault S., Luderer U. Roles of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Ovarian Toxicity. *Biol Reprod* 2012 February; 86(2): 27.

Diepeveen SH, Verhoeven GH, van der Palen J, Dikkeschei BL, van Tits BL, Kolsters G, Offerman JJ, Bilo HJ, Stalenhoef AF. The effect of the initiation of renal replacement therapy on lipid profile and oxidative stress during the first 6 months of treatment. *Clin Chim Acta.* 2005; 361(1-2): 112-8.

Durak I, Kacmaz M, Elgun S, Ozturk HS Oxidative stress in patients with chronic renal failure: effects of hemodialysis. *Med Princ Pract.* 2004; 13(2): 84-7.

Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G. Effect of hemodialysis on the oxidative stress and antioxidants. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:1009–1013

Dursun E, Dursun B, Suleymanlar G, Ozben T. Carbonyl stress in chronic renal failure: the effect of haemodialysis. *Ann Clin Biochem.* 2005; 42(Pt 1): 64-6.

Dursun E, Dursun B, Suleymanlar G, Ozben T. Effect of haemodialysis on the oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2005 Oct; 42(3):123-8.

Dursun B., Dursun E., Suleymanlar G. et al. Carotid artery intima-media thickness correlates with oxidative stress in chronic haemodialysis patients with accelerated atherosclerosis. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2008; vol. 23, no. 5, pp. 1697– 1703.

Dwyer JT et al. Are nutritional status indicators associated with mortality in the Hemodialysis (HEMO) Study? *Kidney Int* 2005; 68: 1766–1776.

E. Torregrosa, J. Hernández Jaras, J. Sastre, R. Pons, H. García Calvo, C. Calvo Gordo, M.<sup>a</sup> A. Fenollosa, A. Rius, J. J. Sánchez-Canel, M. Pin, E. Tamarit e I. Rico. Análisis del estrés oxidativo en pacientes en hemodiafiltración en línea. *NEFROLOGÍA.* Volumen 27. Número 5. 2007.

Edwards NL: The role of hyperuricemia and gout in kidney and cardiovascular disease. *Cleve Clin J Med* 2008; 75 (suppl 5): S13-S16.

Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, et al. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 2002; 347:2010.

Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Antoniadi G et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is increased in hemodialysis patients and affects immune response to hepatitis B vaccination. *Vaccine* 2011; 29:2242–7.

Eleftheriadis T., Antoniadi G., Liakopoulos V. et al. Plasma Indoleamine 2,3-Dioxygenase concentration is Increased in Hemodialysis Patients and May Contribute to the Pathogenesis of Coronary Heart Disease. *Renal Failure* 2012; 34(1): 68–72.

El-Far MA, Bakr MA, Farahat SE, Abd El-Fattah EA. Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders. *Clin Exp Nephrol.* 2005; 9 (2): 127-31.

Elisof M, Mikhailidis DP, Siampoulos KC: Dyslipidemia in patients with renal disease. *J Drug Dev Clin Pract* 1996; 17: 331–348.

Enric Vilar, Andrew C. Fry, David Wellsted, James E. Tattersall, Roger N. Greenwood and Ken Farrington. Long-Term Outcomes in Online Hemodiafiltration and High-Flux Hemodialysis: A Comparative Analysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1944–1953.

Erdogan C, Unlucerci Y, Turkmen A, Kuru A, Cetin O, Bekpinar S The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta.* 2002; 322(1-2): 157-6.

Errakonda P., Paladugu R, Bitla A. et al. Effect of a single hemodialysis session on endothelial dysfunction. *Journal of Nephrology* 2011; vol. 24, no. 1, pp. 83–90.

Fang F. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nature Reviews Microbiology* 2, October 2004; 820-832.

Fallahzadeh MK, Roozbeh J, Geramizadeh B, Namazi MR: Interleukin-2 serum levels are elevated in patients with uremic pruritus: a novel finding with practical implications. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3338–3344.

Ferreira Filho-SR, Lemes HP, Araújo S, Fidale B. Body mass index-mortality paradox in hemodialysis: can it be explained by blood pressure? *Hipertensión.* 2012 Apr; 59 (4): e31.

Filiopoulos V, Hadjiyannakos D, Metaxaki P et al. Inflammation and oxidative stress in patients on hemodiafiltration. *Am J Nephrol* 2008; 28: 949–957.

Floccari F, Aloisi C, Crasci E, Sofi T, Campo S, Tripodo D, Criseo M, Frisina N, Buemi M. Oxidative stress and uremia. *Med Res Rev.* 2005; 25(4): 473-86.

Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 1998 Dec; 9(12 Suppl):S16-23.

Foley RN, Wang C, Collins AJ. Cardiovascular risk factor profiles and kidney function stage in the US general population: the NHANES III study. *Mayo Clin Proc* 2005; 80:1270.

Forgione M. A., Weiss N., Heydrick S., Cap A., Klings E. S., Bierl C., Eberhardt R. T., Farber H. W., Loscalzo J. Cellular glutathione peroxidase deficiency and endothelial dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002; 282:H1255–1261.

Forsblom C, Harjutsalo V, Thorn LM, Wadén J, Tolonen N, Saraheimo M, Gordin D, Moran JL, Thomas MC, Groop PH, FinnDiane Study Group. Competing-risk analysis of ESRD and death among patients with type 1 diabetes and macroalbuminuria. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22(3):537.

Fouque D, Vennegoor M, ter WP et al.: EBPG guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 Suppl 2:ii45-ii87.

Fouque D et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008; 73: 391–398.

Friedrich B, Alexander D, Janessa A, Haring HU, Lang F, Risler T: Acute effects of hemodialysis on cytokine transcription profiles: evidence for C-reactive protein-dependency of mediator induction. *Kidney Int* 2006; 70: 2124–2130.

Fuchs D, Forsman A, Hagberg L *et al.* Immune activation and decreased tryptophan in patients with HIV-1 infection. *J Interferon Res* 1990; 10: 599–603.

Gagliardi A, Miname M, Santos R: Uric acid: a marker of increased cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2009, 202:11-17.

Galati, G., and O'Brien, P.J. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine* 2004; 37, 287-303.

Gallar-Ruiz P et al. Body composition in patients on haemodialysis: relationship between the type of haemodialysis and inflammatory and nutritional parameters. *Nefrologia* 2012; 32(4):467-76.

Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2001; vol. 16, no. 11, pp. 2135–2137.

Garry H. Current studies on oxidative stress in dialysis. *Blood Purif* 2003; 21:46-50.

Golubev RV, Blashko EL, Dobronravov VA, Zhloba AA, Smirnov AV. Elevated plasma homocysteine and glutathione level in patients with renal failure. *Biomed Khim.* 2005; 51(5): 549-51.

Gonzalez Rico M, Puchades MJ, Garcia Ramon R, Saez G, Tormos MC, Miguel A. Effect of oxidative stress in patients with chronic renal failure *Nefrologia.* 2006; 26(2): 218-25.

González-Diez B, Cavia M, Torres G, Abaigar P, Camarero V, Muñoz P. The effects of 1-year treatment with a haemodiafiltration with on-line regeneration of ultrafiltrate (HFR) dialysis on biomarkers of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Mol Biol Rep.* 2012; 39:629–634.

González-Diez B, Cavia M, Torres G, Abaigar P, P. Muñoz. Efecto de una sesión de hemodiafiltración con la regeneración en línea del ultrafiltrado sobre el estrés oxidativo. Estudio comparativo con la hemodiálisis convencional con polisulfona. *Purif Sangre.* 2008; 26 (6): 505-10.

Grooteman MP, van den Dorpel MA, Bots ML, et al. Effect of Online Hemodiafiltration on All-Cause Mortality and Cardiovascular Outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23:1087.

Grotto, D., Santa Maria, L.D., Boeira, S., Valentini, J., Charao, M.F., Moro, A.M., Nascimento, P.C., Pomblum, V.J., and Garcia, S.C. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007; 43, 619-624.

Guo X., Yamada S., Tanimoto A., Ding Y., Wang K. Y., Shimajiri S., Murata Y., Kimura S., Tasaki T., Nabeshima A., Watanabe T., Kohno K., Sasaguri Y. Overexpression of peroxiredoxin 4 attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Antioxid. Redox Signal.* 2012; 17:1362–1375.

Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, Shah VO, Balakrishnan VS, Guzman NJ, Girndt M, Periera BG, Feldman HI, Kusek JW, Joffe MM, Raj DS: Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 1938–1946.

Gyebi L, Soltani Z, Reisin E. Lipid nephrotoxicity: new concept for an old disease. *Curr Hypertens Rep* 2012; 14: 177-181.

Halliwell, B. Antioxidants in human health and disease, *Ann Rev Nutr.*1996; 16: 33–50.

Halliwell, B, Gutteridge, JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed., 1999. Oxford University Press.

Hasper D, Hummel M, Kleber FX, et al. Systemic inflammation in patients with heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19:761.

Hegbrant J, Hultkvist Bengtsson U: Vitamin C and E as antioxidants in hemodialysis patients. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 69-73.

Heinecke JW. Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation products in protein: Insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. *FASEB J* 1999; 13:113-1120.

Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage by myeloperoxidase in atherosclerosis and other inflammatory disease. *J Lab Clin Med* 1999; 133:321-5.

Hemila, H., and Wikstrom, M. Retinoids activate superoxide production by polymorphonuclear leucocytes. *Scandinavian Journal of Immunology* 1985; 21, 227-234.

Henderson LW, Clark WR, Cheung AK. Quantification of middle molecular weight solute removal in dialysis. *Semin Dial* 2001; 14:294-9.

Hermans, N., Cos, P., Maes, L., De Bruyne, T., Vanden Berghe, D., Vlietinck, A.J., and Pieters, L. Challenges and pitfalls in antioxidant research. *Current Medicinal Chemistry* 2007; 14, 417-430.

Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int.* 2000; 58(6): 2571-8

Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62:1524.

Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Lindholm B: Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: 139–148.

Holmgren, A., and Bjornstedt, M. Thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods in Enzymology* 1995; 252, 199-20.

Huang A, Fuchs D, Widner B *et al.* Tryptophan decrease in advanced colorectal cancer correlates with immune activation and impaired quality of life. *Br J Cancer* 2002; 86: 1691–1696.

Huang, Z, Gao, D, Henderson, LW, Clark, WR. Hemofiltration and hemodiafiltration for end stage renal disease. In: *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation. Companion to Brenner and Rector's The Kidney,*

2nd edition, Pereira, BJB, Sayegh, MH, Blake, P, (Eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2006. p. 481.

Huang CX et al. Both low muscle mass and low fat are associated with higher all-cause mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2010; 77: 624–629.

Hulsewé KW, van Acker BA, von Meyenfeldt MF, Soeters PB. Nutritional depletion and dietary manipulation: effects on the immune response. *World J Surg* 1999; 23:536.

Iglesias P, Díez JJ: Adipose tissue in renal disease: clinical significance and prognostic implications. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2066–2077.

Ikizler TA, Wingard RL, Harvell J et al.: Association of morbidity with markers of nutrition and inflammation in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *Kidney Int* 1999; 55:1945-1951.

Il'yasova, D., Ivanova, A., Morrow, J.D., Cesari, M., and Pahor, M. Correlation between two markers of inflammation, serum C-reactive protein and interleukin 6, and indices of oxidative stress in patients with high risk of cardiovascular disease. *Biomarkers* 2008; 13, 41-51.

Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Aprk M, Kira Y, Imada I, Utsumi K. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr Med Chem*. 2003; 10, 2495-2505.

Iseki K., Kawazoe N., Osawa A. *et al.* Survival analysis of dialysis patients in Okinawa, Japan (1971-1990). *Kidney Int* 1993; 43:404-409.

Iseki K, Yamazato M, Tozawa M, Takishita S. Hypocholesterolemia is a significant predictor of death in a cohort of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61:1887.

Jaber BL, Pereira BJ. Pereira B, Sayegh M, Blake P, eds. Biocompatibility of hemodialysis membranes. In: *Chronic Kidney Disease, Dialysis and Transplantation: A Companion to Brenner and Rector's The Kidney*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2005. p. 363-87.

Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem*. 1995; 41(8 Pt 1): 1135-8.

Jackson P, Lougrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS. Effect of haemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Nephrol*. 1997; 44:1135–8.

Jirka T, Cesare S, Di Benedetto A, Perera Chang M, Ponce P, Richards N, et al. Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis. *Kidney Int* 2006; 70:1523-7.

Johnston A. and Ebert P. The Redox System in *C. elegans*, a Phylogenetic Approach. *Journal of Toxicology*, Article ID 546915. Volume 2012.

Kalantar ZK, Kleiner M, Dunn E *et al.* Total iron-binding capacity-estimated transferrin correlates with the nutritional subjective global assessment in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31(2):263-272.

Kalantar ZK, Block G, Humphreys MH *et al.* Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63:793-808.

Kalantar-Zadeh K, Don BR, Rodriguez RA, Humphreys MH. Serum ferritin is a marker of morbidity and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 37:564.

Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Block G, Humphreys MH: A malnutrition-inflammation score is correlated with morbidity and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:1251-1263.

Kalantar-Zadeh K, Kopple JD. Relative contributions of nutrition and inflammation to clinical outcome in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:1343.

Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH et al. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63: 793–808

Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G et al.: Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:864-881.

Kalantar-Zadeh K et al. Survival advantages of obesity in dialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 543–554.

Kalantar-Zadeh K: Recent advances in understanding the malnutrition-inflammation-cachexia syndrome in chronic kidney disease patients: what is next? *Semin Dial* 2005; 18:365–369.

Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, Kuwae N, McAllister CJ, Alcorn H Jr, Kopple JD, Greenland S: Revisiting mortality predictability of serum albumin in the dialysis population: time dependency, longitudinal changes and population-attributable fraction. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1880–1888.

Kalantar-Zadeh K. Inflammatory marker mania in chronic kidney disease: pentraxins at the crossroad of universal soldiers of inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:872.

Kalantar-Zadeh K et al. Racial and survival paradoxes in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007; 3: 493–506.

Kalousova M, Zima T, Tesar V, Sulkova S, Fialova L. Relationship between advanced glycoxidation end products, inflammatory markers acute-phase reactants, and some autoantibodies in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl.* 2003; (84): S62-4.

Kang D. H. and Kang S. W. Targeting Cellular Antioxidant Enzymes for Treating Atherosclerotic Vascular Disease. *Biomol Ther.* 2013; 21(2), 89-96.

Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, Danesh J. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 2010; 375(9709):132.

Kato A., Suzuki Y., Suda T. et al. Relationship between an increased serumkynurenine/tryptophan ratio and atherosclerotic parameters in hemodialysis patients. *Hemodialysis International* 2010; 14:418–424.

Kaysen GA, Rathore V, Shearer GC, Depner TA. Mechanisms of hypoalbuminemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1995; 48:510.

Kaysen GA, Dublin JA, Muller HG *et al.* The acute phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58:346-352.

Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, et al. Relationships among inflammation nutrition and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61:2240.

Kaysen GA, Eiserich JP. The role of oxidative stress-altered lipoprotein structure and function and microinflammation on cardiovascular risk in patients with minor renal dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:538.

Kazumasa A, Satoshi T. Artificial kidney for treatment of redox state abnormality in renal failure. *J Artif Organ* 2001; 4:1-2.

Khazim K, Giustarini D, Rossi R, Verkaik D, Cornell JE, Cunningham SE, Mohammad M, Trochta K, Lorenzo C, Folli F, Bansal S, Fanti P. Glutathione redox potential is low and glutathionylated and cysteinylated hemoglobin levels are elevated in maintenance hemodialysis patients. *Transl Res.* 2013 Jul; 162(1):16-25.

Khedidja Mekki, Warda Taleb, Nassima Bouzidi, Abbou Kaddous, Malika Bouchenak. Effect of hemodialysis and peritoneal dialysis on redox status in

chronic renal failure patients: a comparative study. *Lipids in Health and Disease* 2010, 9:93.

Kilpatrick RD, McAllister CJ, Kovesdy CP et al. Association between serum lipids and survival in hemodialysis patients and impact of race. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 293–303.

Kisucka J., Chauhan A. K., Patten I. S., Yesilaltay A., Neumann C., Van Etten R. A., Krieger M., Wagner D. D. Peroxiredoxin1 prevents excessive endothelial activation and early atherosclerosis. *Circ. Res.* 2008; 103:598–605.

Koenig P., Nagl C., Neurauter G., Schennach H., Brandacher G. and Fuchs D. Enhanced degradation of tryptophan in patients on hemodialysis. *Clinical Nephrology* 2010; Vol. 74 – No. 6 (465-470).

Kogaki, H., Fujiwara, Y., Yoshiki, A., Kitajima, S., Tanimoto, T., Mitsui, A., Shimamura, T., Hamuro, J., and Ashihara, Y. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for adult T-cell leukemia-derived factor and normal value measurement. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 1996; 10, 257-261.

Koken T, Serteser M, Kahraman A, Gokce C, Demir S. Changes in serum markers of oxidative stress with varying periods of haemodialysis. *Nephrology.* 2004; 9(2): 77-82.

Kopetz, S., Lesslie, D.P., Dallas, N.A., Park, S.I., Johnson, M., Parikh, N.U., Kim, M.P., Abbruzzese, J.L., Ellis, L.M., Chandra, J., *et al.* Synergistic activity of the SRC family kinase inhibitor dasatinib and oxaliplatin in colon carcinoma cells is mediated by oxidative stress. *Cancer Research* 2009; 69, 3842-3849.

Kopple JD. Nutritional status as a predictor of morbidity and mortality in maintenance dialysis patients. *ASAIO J* 1997; 43:246.

Kopple JD: National kidney foundation K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2001; 37:S66-S70.

Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A et al. Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 212–218.

Kuo HL, Chou CY, Liu YL et al. Reduction of pro-inflammatory cytokines through hemodiafiltration. *Ren Fail* 2008; 30: 796–800.

Langlois M, Duprez D, Delanghe J, et al. Serum vitamin C concentration is low in peripheral arterial disease and is associated with inflammation and severity of atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103:1863.

Laurence A, Edbury SM, Marinaki AM, et al. 4-Pyridone- 3-carboxamide ribonucleoside triphosphate accumulating in erythrocytes in end stage renal failure originates from tryptophan metabolism. *Clin Exp Med*. 2007; 7:135–141.

Laurinavicius AG, Salem RD. Dyslipidemia, statins and chronic renal failure. *Rev Bras Hipertens* 2008; 15 (3): 156-161.

Ledebo I. On-line hemodiafiltration: technique and therapy. *Adv Ren Replace Ther* 1999; 6:195.

Ledebo I, Blankestijn PJ. Haemodiafiltration – optimal efficiency and safety. *NDT Plus* 2010; 3:8-16.

Ledebo I. On-line preparation of solutions for dialysis: practical aspects versus safety and regulations. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 Suppl 1:S78.

Leopold JA., Loscalzo J. Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2009 Dec 15; 47(12):1673-706.

Lesaffer G, De Smet R, Lameire N et al. Intradialytic removal of protein-bound uraemic toxins: role of solute characteristics and of dialyser membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 50–57.

Levey AS, Atkins R, Coresh J et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2007; 72: 247-259.

Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., and Stadtman, E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 1990; 186, 464-478.

Li CY, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Cell Physiol*. 2002; 282: 227-241.

Li C., Hossieny P., Wu B. J., Qawasmeh A., Beck K., Stocker R. Pharmacologic induction of heme oxygenase-1. *Antioxid. Redox Signal*. 2007;9:2227–2239.

Lim PS, Cheng YM, Yang SM. Impairments of the biological properties of serum albumin in patients on haemodialysis. *Nephrology*. 2007; 12(1):18-24.

Lima de Castro L. et al. Hypoalbuminemia and oxidative stress in patients on renal hemodialysis program. *Nutr Hosp*. 2014; 30(4):952-959.

Liu Y, Coresh J, Eustace JA, et al. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA* 2004; 291:451.

Locatelli F, Fouque D, Heimbürger O et al. Nutritional status in dialysis: a European consensus. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:563-572.

Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, et al. The importance of diabetic nephropathy in current nephrological practice. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1716.

Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: An emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1272-80.

Lonnemann G. Impaired NK cell function in ESRD patients. *Blood Purif* 2008; 26:315–6.

Lopes A. et al. Independent and Joint Associations of Nutritional Status Indicators With Mortality Risk Among Chronic Hemodialysis Patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Journal of Renal Nutrition*, Vol 20, No 4 (July), 2010: pp 224–234.

López-Gómez JM, Pérez-Flores I, Jofré R, et al. Presence of a failed kidney transplant in patients who are on hemodialysis is associated with chronic inflammatory state and erythropoietin resistance. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2494.

Lorenzo V: Trastornos de la nutrición en la insuficiencia renal crónica. En: Hernando Avendaño L (Ed): *Nefrología Clínica (3ª Edición)* Editorial Medica Panamericana, Madrid Pp 816-823, 2009, 2012.

Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15:458–482.

Lushchak, VI. Free radical oxidation of proteins and its relationship with functional state of organisms. *Biochemistry* 2007; Aug; 72(8):809-27.

Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.* 2014; Oct 28; 224C:164-175.

Macdonald JH et al. The relationship between estimated glomerular filtration rate, demographic and anthropometric variables is mediated by muscle mass in non-diabetic patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3488–3494.

Machlin, L.J., and Bendich, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal* 1987; 1, 441-445.

Madero M, Sarnak MJ, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Menon V: Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am J kidney Dis* 2009, 53:796-803.

Maduell F, Navarro V, Cruz MC, et al. Osteocalcin and myoglobin removal in on-line hemodiafiltration versus low- and high-flux hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40:582.

Maduell F, Sánchez-Canel JJ, Blasco JA, Navarro V, Ríus A, Torregrosa E, Pin MT, Cruz C, Ferrero JA: Middle molecules removal. Beyond  $\beta$  2 -microglobulin. *Nefrologia* 2006; 26: 469–475.

Maduell F. Convección versus difusión: ¿ha llegado el momento del cambio? *Nefrología* 2009; 29(6):589-593.

Maduell F., Moreso F., Pons M., Ramos R., Mora-Macià J., Carreras J., Soler J., Torres F., Campistol JM. and Martinez-Castelao for the ESHOL Study Group. High efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all causes mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2013; 24: 487–497.

Mahesh S, Kaskel F: Growth hormone axis in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 41–48.

Mahmood DF, Abderrazak A, El Hadri K, Simmet T, Rouis M. The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2013; Oct 10; 19(11):1266-303.

Malliaraki N, Mpliamplias D, Kampa M, Perakis K, Margioris AN, Castanas E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. *BMC Nephrol.* 2003; 1(4):4.

Maulik N, Das DK. Emerging potential of thioredoxin and thioredoxin interacting proteins in various disease conditions. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Nov; 1780(11):1368-82.

McBride D, Dohan D, HandLey M, Powe N, Tuot D. Developing a CKD Registry in Primary Care: Provider Attitudes and Input. *Am J Kidney Dis.* 2014 Apr; 63(4): 577–583.

McClellan WM, Anson C, Birkeli K, Tuttle E. Functional status and quality of life: predictors of early mortality among patients entering treatment for end stage renal disease. *J Clin Epidemiol* 1991; 44:83.

Meert N, Eloot S, Schepers E et al. Comparison of removal capacity of two consecutive generations of high-flux dialysers during different treatment modalities. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2624–2630.

Menon V, Greene T, Wang X, et al. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68:766.

Merabet E, Dagogo-Jack S, Coyne DW, Klein S, Santiago JV, Hmiel SP, Landt M: Increased plasma leptin concentrations in end stage renal disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:847-850.

Meuwese CL, Carrero JJ, Stenvinkel P: Recent insights in inflammation-associated wasting in patients with chronic kidney disease. *Contrib Nephrol* 2011; 171: 120–126.

Miller, N.J., and Rice-Evans, C.A. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS.+ radical cation assay. *Free Radical Research* 1997; 26, 195-199.

Miler M, Zamojska S, Fijalkowski P, Lobos M, Paradowski MT. Assessment of malonyldialdehyde concentration as a product of lipid peroxidation and lipid metabolism in patients on chronic dialysis. *Pol Merkur Lekarski*. 2006; 20(120): 664-7.

Mimica-Dukić N. *et al.* The Effect of Plant Secondary Metabolites on Lipid Peroxidation and Eicosanoid Pathway. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, Chapter 9, book edited by Angel Catala, ISBN 978-953-51-0716-3, Published: August 29, 2012.

Mimic-Oka J, Djukanovic L, Markovic B. Erythrocyte and plasma glutathione levels in patients with chronic renal insufficiency. *Biochem Med Metab Biol*. 1988; 39(1): 48-54.

Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L, Reljic Z, Davicevic Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol*. 1999; 51(4): 233-41.

Mitsuhashi H, Yatsuta H, Matsushita K, Zhang H, Otsuka R, Muramatsu T et al. Uric acid and left ventricular hypertrophy in Japanese men. *Circ J* 2009; 73:667-672.

Miyamoto S, Sharma K: Adipokines protecting CKD. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(suppl 4):iv15–iv22.

Miyata T, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Relevance of oxidative and carbonyl stress to long-term uremic complications. *Kidney Int* 2000; 58:120–125.

Moffett JR, Namboodiri MA. Tryptophan and the immune response. *Immunol Cell Biol* 2003; 81: 247–265.

Moreau-Gaudry X et al. Serum creatinine improves body mass index survival prediction in hemodialysis patients: A 1-Year Prospective Cohort Analysis from the ARNOS Study. *J Ren Nutr* septiembre 2011; 21 (5): 369-75.

Morena M., Delbosc S., Dupuy A.-M., Canaud B., and Cristol J.- P. Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodialysis International* 2005; vol. 9, no. 1, pp. 37–46.

Moronil F. Tryptophan metabolism and brain function: focus on kynurenine and other indole metabolites. *Eur J Pharm* 1999; 375:887.

Moshage, H., Kok, B., Huizenga, J.R., and Jansen, P.L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clinical Chemistry* 1995; 41, 892-896.

Mucsi I, Molnar MZ, Ambrus C, Szeifert L, Kovacs AZ, Zoller R, Barotfi S, Rempert A, Novak M: Restless legs syndrome, insomnia and quality of life in patients on maintenance dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:571-577.

Mulley WR, Nikolic-Paterson DJ. Indoleamine 2,3- dioxygenase in transplantation. *Nephrology*. 2008; 13: 204–211.

Munn DH, Sharma MD, Lee JR, Jhaver KG, Johnson TS, Keskin DB, Marshall B, Chandler P, Antonia SJ, Burgess R, Slingluff CL Jr, Mellor AL. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science*. 2002; 297: 1867-1870.

Muntner P, He J, Hamm L, et al. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:745.

Nakai S, Iseki K, Tabei K, Kubo K, Masakane I, Fushimi K, Kikuchi K, Shinzato T, Sanaka T, Akiba T. Outcomes of hemodiafiltration based on Japanese Dialysis patient registry. *Am J Kidney Dis* 2001; 38 (4, Suppl 1):S212-S216.

Nakamura, H., De Rosa, S., Roederer, M., Anderson, M.T., Dubs, J.G., Yodoi, J., Holmgren, A., Herzenberg, L.A., and Herzenberg, L.A. Elevation of plasma thioredoxin levels in HIV-infected individuals. *International Immunology* 1996; 8, 603-611.

Nakamura, H., Nakamura, K., and Yodoi, J. Redox regulation of cellular activation. *Annual Review of Immunology* 1997; 15, 351-369.

Nassar GM: Preventing and treating inflammation: role of dialysis access management. *Semin Dial* 2013; 26: 28–30.

Natarajan R, Pechenyak B, Vyas U, Ranganathan P, Weinberg A, Liang P, Mallappallil MC, Norin AJ, Friedman EA, Saggi SJ: Randomized controlled trial of strain-specific probiotic formulation (Renadyl) in dialysis patients. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 568571.

Negamma T, Ahmed S, Pai A, Mohan S, Chathuvedi A, Singh PP. Evaluation of oxidative stress and antioxidant activity in pre and post hemodialysis in chronic renal failure patients from Western region of Nepal. *Bangladesh J Med Sci* 2014; 13 (1): 40-44.

Neyra NR, Hakim RM, Shyr Y *et al*. Serum transferrin and serum prealbumin are early predictors of serum albumin in chronic hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2000; 10(4):184-90.

Nguyen AT, Lethias C, Zingraff J, Herbelin A, Naret C, Descamps-Latscha B: Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo and invitro with microamounts of whole blood. *Kidney Int.* 1985; 28: 158-167.

Niinisalo P, Raitala A, Pertovaara M, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity associates with cardiovascular risk factors: The Health 2000 study. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008; 68:767–770.

Nishimura S. 8-Hydroxyguanine: From its discovery in 1983 to the present status. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* May 2006; 82(4): 127–141.

Nissenson AR, Collins AJ, Hurley J, Petersen H, Pereira BJ, Steinberg EP. Opportunities for improving the care of patients with chronic renal insufficiency: current practice pattern. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12(8):1713.

Noori N et al. Novel equations to estimate lean body mass in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2011; 57: 130–139.

Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., and Wolff, S.P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Analytical Biochemistry* 1994; 220, 403-409.

Oates T, Pinney JH, Davenport A. Haemodiafiltration versus high-flux haemodialysis: effects on phosphate control and erythropoietin response. *Am J Nephrol* 2011; 33: 70–75.

Obrador GT, Pereira BJ, Kausz AT. Chronic kidney disease in the United States: an underrecognized problem. *Semin Nephrol* 2002; 22:441.

Odetti P, Garibaldi S, Gurreri G, et al. Protein oxidation in hemodialysis and kidney transplantation. *Metabolism* 1996; 45:1319–1322.

Ogunro P. S., Oluyombo R., Ajala M. O., Oshodi T. T. The Effect of a Membrane Dialyzer during Hemodialysis on the Antioxidant Status and Lipid

Peroxidation of Patients with End-Stage Renal Disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2014; 25(6):1186-1193.

Ok E, Asci G, Toz H, Ok ES, Kircelli F, Yilmaz M, Hur E, Demirci MS, Demirci C, Duman S, Basci A, Adam SM, Isik IO, Zengin M, Suleymanlar G, Yilmaz ME, Ozkahya M; Turkish Online Haemodiafiltration Study. Mortality and cardiovascular events in online haemodiafiltration (OL-HDF) compared with high-flux dialysis: results from the Turkish OL-HDF Study. *Nephrol Dial Transplant*. 2013; 28(1):192-202.

Okezie IA, Harparkash K, Haliwell B. Oxygen free radicals and human diseases. *J R Soc Health* 1991; 34:171-7.

Ori Y, Bergman M, Bessler H, Zingerman B, Levy-Drummer RS, Gafter U, Salman H: Cytokine secretion and markers of inflammation in relation to acidosis among chronic hemodialysis patients. *Blood Purif* 2013; 35: 181–186.

Ortuño-Sahagún D., Pallàs M., Rojas-Mayorquín A. Oxidative Stress in Aging: Advances in Proteomic Approaches. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 573208.

Otero A, de FA, Gayoso P, Garcia F. Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrologia* 2010; 30: 78-86.

Ozden M, Maral H, Akaydin D, Cetinalp P, Kalender B. Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clin Biochem*. 2002; 35(4): 269-73

Packer, L. Antioxidant properties of lipoic acid and its therapeutic effects in prevention of diabetes complications and cataracts. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1994; 738, 257-264.

Palleschi S., S. de Angelis, L. Diana et al. Reliability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients: a comparative study. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2007; vol. 45, no. 9, pp. 1211–1218.

Palomares Bayo M. et al. Evolución de parámetros bioquímicos nutricionales en pacientes de hemodiálisis durante un año de seguimiento. *Nutr Hosp.* 2008; 23(2):119-125.

Paniagua R, Amato D, Vonesh E, Correa-Rotter R, Ramos A, Moran J, Mujais S, Mexican Nephrology Collaborative Study Group. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(5):1307.

Panichi V, Migliori M, De Pietro S, et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Ren Fail* 2001; 23:551.

Panichi V, Manca-Rizza G, Paoletti S et al. Effects on inflammatory and nutritional markers of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate (HFR) vs online haemodiafiltration: a cross-over randomized multicentre trial. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 756–762.

Panichi V, Rizza GM, Paoletti S et al. Chronic inflammation and mortality in haemodialysis: effect of different renal replacement therapies. Results from the RISCAVID study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2337–2343.

Panichi V, Rizza GM, Paoletti S, Bigazzi R, Aloisi M, Barsotti G, et al.; RISCAVID Study Group. Chronic inflammation and mortality in haemodialysis: effect of different renal replacement therapies. Results from the RISCAVID study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(7):2337-43.

Panichi V, Scatena A, Rosati A, Giusti R, Ferro G, Malagnino E, Capitanini A, Piluso A, Conti P, Bernabini G, Migliori M, Caiani D, Tetta C, Casani A, Betti G, Pizzarelli F. High-volume online haemodiafiltration improves erythropoiesis-stimulating agent (ESA) resistance in comparison with low-flux bicarbonate dialysis: results of the REDERT study. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Apr; 30(4):682-9.

Park J, Yoo J, Jeong S, Choi J, Lee M, Lee M, Hwa L, Kim H, Jo H, Yu D, Kang S, Rhee S, Lee M, Oh G. Peroxiredoxin 2 deficiency exacerbates

atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ. Res.* 2011; 109:739–749.

Paweena Susantitaphong, Cristian Riella and Bertrand L. Jaber. Effect of ultrapure dialysate on markers of inflammation, oxidative stress, nutrition and anemia parameters: a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2013 28: 438–446.

Pawlak D, Pawlak K, Malyszko J, et al. Accumulation of toxic products degradation of kynurenine in hemodialyzed patients. *Int Urol Nephrol.* 2001; 33:399–404.

Pawlak D, Tankiewicz A, Buczko W. Kynurenine and its metabolites in the rat with experimental renal insufficiency. *J Physiol Pharmacol.* 2001; 52:755–766.

Pawlak K, Brzosko S, Mystliwiec M et al. Kynurenine, quinolinic acid—The new factors linked to carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis* 2009; 204:561–6.

Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome – The heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17(Suppl11):28–31.

Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Bárány P, et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 41:1212.

Pedrini LA, Cozzi G, Faranna P et al. Transmembrane pressure modulation in high-volume mixed hemodiafiltration to optimize efficiency and minimize protein loss. *Kidney Int* 2006; 69: 573–579.

Peng C, Wang X, Chen J et al. Biology of Ageing and Role of Dietary Antioxidants. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 831841.

Penne EL, van der Weerd NC, van den Dorpel MA, et al. Short-term effects of online hemodiafiltration on phosphate control: a result from the randomized

controlled Convective Transport Study (CONTRAST). *Am J Kidney Dis* 2010; 55:77.

Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 1999; 26, 1231-1237.

Pertovaara M, Raitala A, Juonala M, et al. Indoleamine 2,3- dioxygenase enzyme activity correlates with risk factors for atherosclerosis: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin Exp Immunol.* 2007; 148:106–111.

Poole S, Bird TA, Selkirk S, et al. Fate of injected interleukin 1 in rats: sequestration and degradation in the kidney. *Cytokine* 1990; 2:416.

Popolo A, Autore G, Pinto A, Marzocco S. Oxidative stress in patients with cardiovascular disease and chronic renal failure. *Free Radic Res.* 2013 May; 47(5):346-56.

Prichard S: Cardiac disease in dialysis patients: Dyslipidemia as a risk factor. *Semin Dial.* 1999; 12: 87–90.

Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Rad Biol Med* 2000; 28:141–164.

Przemyslaw JW, Olgierd BS, Grazyna Ch, Maagorzata BI, Andrzej M, Edward B, Lidia W. Disruption of thiol homeostasis in plasma of terminal renal failure patients. *Clinica Chimica Acta* 2006; 366: 137–145.

Puchades Montesa MJ, González Rico MA, MA Solís Salguero, Torregrosa Maicas I, Tormos Muñoz MC, Sáez Tormo G, Juan García I, Miguel Carrasco A. Estudio de oxidativo estrés en la enfermedad renal avanzada. *Nefrología* 2009; 29(5):464-473.

Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *Biomed Res Int* 2015; 2015:745613.

Quiroga B, Marin C, Goicoechea M, Reque J, Luño J. Inflammatory biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Recent Pat Biomark* 2012; 2:131-8.

Quiroga B, Villaverde M, Abad S, Vega A, Reque J, López-Gómez JM. Diastolic dysfunction and high levels of new cardiac biomarkers as risk factors for cardiovascular events and mortality in hemodialysis patients. *Blood Purif* 2013; 36:98-106.

Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, et al. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 Suppl 1:S28.

Ramakrishna P, Reddy EP, Suchitra MM, Bitla AR, Rao PV, Sivakumar V. Effect of reuse of polysulfone membrane on oxidative stress during hemodialysis. *Indian J Nephrol*. 2012 May-Jun; 22(3): 200–205.

Ramirez R, Carracedo J, Merino A, Noguerras S, Alvarez-Lara MA, Rodríguez M, Martin-Malo A, Tetta C, Aljama P. Microinflammation induces endothelial damage in hemodialysis patients: the role of convective transport. *Kidney Int*. 2007; 72(1):108-13.

Ramos R. and Martínez-Castelao A. Lipoperoxidation and hemodialysis. *Metabolism* 2008; vol. 57, no. 10, pp. 1369–1374.

Rao PV Srinivasa, Dakshinamurthy KV, Saibaba KS, Sheela RB, Venkataramana G, Sreekrishna V, et al. Oxidative stress in hemodialysis: Immediate changes caused by passage of blood through the dialyser. *Ann Clin Biochem*. 2001; 38:401–5.

Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356:930.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., and Paganga, G. (). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 1996; 20, 933-956.

Rivero, D., Perez-Magarino, S., Gonzalez-Sanjose, M.L., Valls-Belles, V., Codoner, P., and Muniz, P. Inhibition of induced DNA oxidative damage by beers: correlation with the content of polyphenols and melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53, 3637-3642.

Rocco MV, Paranandi L, Jerrilynn D *et al.* Nutritional Status in the HEMO Study Cohort at Baseline. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(2):245-256.

Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters* 2008; 582 (13): 1783-1787.

Roy LG, Shetty MS, Urooj A. Effect of nutritional intervention on malnutrition indicators in patients on haemodialysis. *J Ren Care.* 2013 Mar; 39(1):39-46.

Rudzite V, Jurika E. Kynurenine and lipid metabolism. *Adv Exp Med Biol* 1991; 294: 463–466.

Rufino M, Martin M, Lorenzo V: Aspectos nutricionales en Hemodiálisis. En: R Jofré, JM Lopez Gomez, J Luño, R Perez García, P Rodríguez Benitez (Editores) *Tratado de Hemodiálisis* Editorial Médica JIMS, SL, Segunda Edición Barcelona, pp 491-505, 2006.

Ruperto LM, Barril CG, Lorenzo S, V: [Nutrition guidelines for advanced chronic kidney disease (ACKD)]. *Nefrologia* 2008; 28 Suppl 3:79-86.

Rysz J, Stolarek RA, Pedzik A, Nowicki M, Nowak D. Serum Antioxidant Capacity is preserved in Peritoneal Dialysis Contrary to Its Robust Depletion after Hemodialysis and Hemodiafiltration Sessions. *Ther Apher Dial.* 2010 abril; 14 (2): 209-17.

Sakai N, Saito K, Kaufman S *et al.* Induction of neopterin synthesis is not required for cytokine-stimulated tryptophanmetabolism. *BiochemJ* 1993; 295: 543.

Sakash JB, Bryne GI, Lichtman A, Libby P. Cytokines induce indoleamine 2,3-dioxygenase expression in human atheroma-associated cells: Implications for

persistent *Chlamydia pneumoniae* infection. *Infect Immun.* 2002; 70:3959–3961.

Samouilidou E, Grapsa E. Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure. *Blood Purif.* 2003; 21(3): 209-12.

Santoro A, Mancini E: Is hemodiafiltration the technical solution to chronic inflammation affecting hemodialysis patients? *Kidney Int* 2014; 86: 235–237.

Santos NSJ, Draibe SA, Kamimura MA, Cuppari L. Serum albumin as nutritional marker of hemodialysis patients. *Rev Nutr* 2004; 17 (3): 339-349.

Sarnak MJ, Jaber BL. Mortality caused by sepsis in patients with end-stage renal disease compared with the general population. *Kidney Int* 2000; 58:1758.

Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108:2154.

Sato Y, Takatsu Y, Kataoka K, et al. Serial circulating concentrations of C-reactive protein, interleukin (IL)-4, and IL-6 in patients with acute left heart decompensation. *Clin Cardiol* 1999; 22:811.

Sauer, H., Shah, A. M. and Laurindo, F. R. M. *Studies on Cardiovascular Disorders, Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice.* Humana Press, New York. 2010.

Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension.* 2003; 42:1050–1065.

Sawitzki B, Kingsley CI, Oliveira V, Karim M, Herber M, Wood KJ. IFN-gamma production by alloantigen-reactive regulatory T cells is important for their regulatory function in vivo. *J Exp Med*. 2005; 201: 1925-1935.

Schafer F.Q. and Buettner G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide / glutathione couple. *Free Radic. Biol. Med*. 2001; 30, 1191–1212.

Schefold JC, Zeden JP, Fotopoulou C et al. Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease : a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:1901–8.

Schettler V, Wieland E, Methe H, Schuff-Werner P, Muller GA. Oxidative stress during dialysis: effect on free radical scavenging enzyme (FRSE) activities and glutathione (GSH) concentration in granulocytes. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13(10): 2588-93.

Schiff H. Prospective randomized cross-over long-term comparison of online haemodiafiltration and ultrapure high-flux haemodialysis. *Eur J Med Res* 2007; 12: 26–33.

Schmidt RJ, Pellegrino B, MacKay K, Parravani T, Mustafa R, Hobbs G. Prevalence and predictive value of hypoalbuminemia in Appalachians with chronic kidney disease. *World J Nephrol Uro* 2012; 1 (1): 8-15.

Schröcksnadel K, Wirleitner B, Winkler C et al. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta* 2006; 364:82–90.

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J.P., Williams, R.J., Cadenas, E., and Rice-Evans, C. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging* 2002; 23, 861-880.

Shankar A, Syamala S, Xiao J, Muntner P: Relationship between plasma leptin level and chronic kidney disease. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 269532.

Shi K, Wang F, Jiang H, Liu H, Wei M, Wang Z, Xie L: Gut bacterial translocation may aggravate microinflammation in hemodialysis patients. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 2109–2117.

Shinzato T et al. New method to calculate creatinine generation rate using pre- and postdialysis creatinine concentrations. *Artif Organs* 1997; 21: 864–872.

Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA* 2005; 293:1737.

Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* 1993; 15- 215(2): 213-9.

Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015; 4:180-3.

Singleton, V.L., and Esau, P. Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Advances in Food Research* 1969; 1, 1-261.

Sitter T, Bergner A, Schiffel H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1207.

Slater TF. Free radical mechanism in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222:1-15.

Slater TF. Mecanismo de radicales libres en la lesión tisular. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.

Slowik-Zylka D. Reduction of carbonyl stress with renal replacement therapy in chronic renal failure. *Ann Acad Med Stetin.* 2004; 50(2): 5-15.

Stadtman, E.R. Role of oxidant species in aging. *Current Medicinal Chemistry* 2004; 11, 1105-1112.

Steghens JP, Combarous F, Arkouche W, Flourie F, Hadj-Aissa A. Influence of hemodialysis on total and free malondialdehyde measured by a new HPLC method. *Nephrol Ther.* 2005; 1(2):121-5.

Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F et al.: Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55:1899-1911.

Stenvinkel P, Heimbürger O, Wang T, et al. High serum hyaluronan indicates poor survival in renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:1083.

Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, et al. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:953.

Stenvinkel P, Lindholm B, Heimbürger M, Heimbürger O. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in predialysis patients: Association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15:1624–1630.

Stenvinkel P, Heimbürger O, Jogestrand T. Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid artery atherosclerosis in dialysis patients: association with *Chlamydia pneumoniae* seropositivity. *Am J Kidney Dis* 2002; 39:274.

Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease--a fire that burns within. *Contrib Nephrol* 2005; 149:185.

Stone TW, Darlington LG. Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1: 609–620.

Stone TW. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 309.

Suliman ME, Heimbürger O, Bárány P, et al. Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:1614.

Sung C., Hsu Y., Chen C. et al. Oxidative Stress and Nucleic Acid Oxidation in Patients with Chronic Kidney Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2013.

Susantitaphong P., Siribamrungwong M., and Jaber B. Convective therapies versus low-flux hemodialysis for chronic kidney failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant* (2013) 28: 2859–2874.

Takura T, Kawanishi H, Minakuchi J, Nagake Y, Takahashi S. Cost-effectiveness analysis of on-line hemodiafiltration in Japan. *Blood Purif* 2013; 35 Suppl 1:85-9.

Tanaka T, Nakamura H, Nishiyama A Redox regulation will be needed to verify the influence of iron supplement by thioredoxin superfamily: Protection against oxidative stress and on oxidative stress aging. *Free Radic Res* 2001; 33:851–855.

Tanaka A, Kato A, Suzuki Y, Suzuki M, Ohmori H, Sumimoto R, Ohdan H. Association of increased indoleamine 2, 3-dioxygenase with impaired natural killer cell activity in hemodialysis patients. *Ther Apher Dial.* 2014 Feb; 18(1):19-23.

Taraz M, Taraz S, Dashti-Khavidaki S: Association between depression and inflammatory/anti-inflammatory cytokines in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients: a review of literature. *Hemodial Int.* 2015 Jan; 19(1):11-22.

Tattersall J, Martin-Malo A, Pedrini L, et al. European best practice guidelines on haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(Suppl 2):ii1.

Tayeb JS, Provenzano R, El-Ghoroury M, et al. Effect of biocompatibility of hemodialysis membranes on serum albumin levels. *Am J Kidney Dis* 2000; 35:606.

Terlecky SR, Terlecky LJ, Giordano CR. Peroxisomes, oxidative stress, and inflammation. *World J Biol Chem* 2012 May 26; 3(5):93-7.

Thunberg BJ, Swamy AP, Cestero RV. Cross-sectional and longitudinal nutritional measurements in maintenance hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 1981; 34:2005.

Tiranathanagul K, Praditpornsilpa K, Katavetin P et al. On-line hemodiafiltration in Southeast Asia: a three-year prospective study of a single center. *Ther Apher Dial* 2009; 13: 56–62.

Topczewska-Bruns J, Pawlak D, Chabielska E, et al. Increased levels of 3-hydroxykynurenine in different brain regions of rats with chronic renal insufficiency. *Brain Res Bull.* 2002; 58:423–428.

Topczewska-Bruns J, Pawlak D, Tankiewicz A *et al.* Kynurenine metabolism in central nervous system in experimental chronic renal failure. *Adv Exp Med Biol* 2003; 527: 177–182.

Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M.A., Nilsa, R.D., and Huang, P. Redox regulation of cell survival. *Antioxidants and Redox Signaling* 2008 10, 1343-1374.

Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C: Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:S83–S88.

Tsuzuki, T., Nakatsu, Y., and Nakabeppu, Y. Significance of error-avoiding mechanisms for oxidative DNA damage in carcinogenesis. *Cancer Science* 2007; 98, 465-470.

Tucker PS, Scanlan AT, Dalbo VJ. Chronic Kidney Disease Influences Multiple Systems: Describing the Relationship between Oxidative Stress, Inflammation, Kidney Damage, and Concomitant Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2015; 2015:806358.

Ujhelyi L, Balla G, Jeney V, Varga Z, Nagy E, Vercellotti GM, Agarwal A, Eaton JW, Balla J. Hemodialysis reduces inhibitory effect of plasma ultrafiltrate on LDL oxidation and subsequent endothelial reactions. *Kidney Int.* 2006; 69(1):144-51.

United States Renal Data System 2009 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. National

Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2009.

United States Renal Data System, USRDS 2010 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2010.

United States Renal Data System. USRDS 2013 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. National Institutes of Health. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD, 2013.

USRDS: The United States Renal Data System: Overall hospitalization and mortality. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(Suppl 1):S1.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Internat J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.

Van Empel. V. P., Bertrand A. T., van Oort. R. J., van der Nagel R., Engelen M., van Rijen H. V., Doevendans P. A., Crijns H. J., Ackerman S. L., Sluiter W., De Windt L. J. EUK-8, a superoxide dismutase and catalase mimetic, reduces cardiac oxidative stress and ameliorates pressure overload-induced heart failure in the harlequin mouse mutant. *J. Am. Coll. Cardiol.* (2006); 48:824–832.

Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003; 63:1934.

Vanholder R, Glorieux G, Lameire N, European Uremic Toxin Work Group. Uraemic toxins and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:463.

Vasdev S., Gill V., and Singal P. Modulation of oxidative stress-induced changes in hypertension and atherosclerosis by antioxidants. *Exp Clin Cardiol* 2006 Fall; 11(3): 206–216.

Vaslaki L, Karátson A, Vörös P, et al. Can sterile and pyrogen-free on-line substitution fluid be routinely delivered? A multicentric study on the microbiological safety of on-line haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 Suppl 1:74.

Vaslaki LR, Berta K, Major L et al. On-line hemodiafiltration does not induce inflammatory response in end-stage renal disease patients: results from a multicenter cross-over study. *Artif Organs* 2005; 29: 406–412.

Vaslaki L, Major L, Berta K et al. On-line haemodiafiltration versus haemodialysis: stable haematocrit with less erythropoietin and improvement of other relevant blood parameters. *Blood Purif* 2006; 24: 163–173.

Vaziri ND. Oxidative stress in uremia: nature, mechanisms, and potential consequences. *Semin Nephrol.* 2004; 24(5): 469-73.

Vaziri ND, Norris K. Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease. *Blood Purif* 2011; 31 (1): 189-196.

Vilar E, Fry AC, Wellsted D, Tattersall JE, Greenwood RN, Farrington K. Long-term outcomes in online hemodiafiltration and highflux hemodialysis: a comparative analysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(12):1944-53.

Vitek L, Schwertner HA. The heme catabolic pathway and its protective effects on oxidative stress-mediated diseases. *Adv Clin Chem.* 2007; 43:1-57.

Walker RJ, Sutherland WH, De Jong SA. Effect of changing from a cellulose acetate to a polysulphone dialysis membrane on protein oxidation and inflammation markers. *Clin Nephrol.* 2004; 61(3): 198-206.

Walther C. et al. Interdialytic creatinine change versus predialysis creatinine as indicators of nutritional status in maintenance hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* (2012) 27: 771–776.

Ward RA, McLeish KR. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? *Artif Organs*. 2003; 27(3): 230-6.

Wei Y., Liu X. M., Peyton K. J., Wang H., Johnson F. K., Johnson R. A., Durante W. Hypochlorous acid-induced heme oxygenase-1 gene expression promotes human endothelial cell survival. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2009; 297:C907–915.

Wen CP, Cheng TY, Chan HT et al. Is high serum uric acid a risk marker or a target for treatment? Examination of its independent effect in a large cohort with low cardiovascular risk. *Am J Kidney Dis* 2010, 56 (2): 273-288.

Westhuyzen J, Adams CE, Fleming SJ. Evidence for oxidative stress during in vitro dialysis. *Nephron* 1995; 70:49-54.

Widner B, Leblhuber F, Walli J *et al*. Degradation of tryptophan in neurodegenerative disorders. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 133.

Wirleitner B, Rudzite V, Neurauter G, et al. Immune activation and degradation of tryptophan in coronary artery disease. *Eur J Clin Invest*. 2003; 33:550–554.

Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, et al. Advanced Oxidation Protein Products as novel mediators of inflammation and Monocyte Activation in Chronic Renal Failure. *J Immunol* 1998; 161:2524-32.

Wizemann V, Lotz C, Techert F, Uthoff S. On-line haemodiafiltration versus low-flux haemodialysis. A prospective randomized study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 Suppl 1:43.

Wlodek PJ, Smolenski OB, Chwatko G, Iciek MB, Milkowski A, Bald E, Wlodek L. Disruption of thiol homeostasis in plasma of terminal renal failure patients. *Clin Chim Acta*. 2006; 366 (1-2): 137-45.

Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A: Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int*. 2000; (Supl. 76): S126-S132.

Yang H., Roberts L. J., Shi M. J., Zhou L. C., Ballard B. R., Richardson A., Guo Z. M. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E. *Circ. Res.* 2004 ;95:1075–1081.

Yavuz O, Bicik Z, Cinar Y, Guney Y, Guler S. El efecto de diferentes diálisis membranas sobre oxidativo estrés y selenio estado. *Clin Chim Acta* 16 de agosto 2004; 346 (2): 153-60.

Yavuz A, Tetta C, Ersoy FF, et al. Uremic toxins: a new focus on an old subject. *Semin Dial* 2005; 18:203.

Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-Reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35:469.

Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys.* 2001; 385 (1): 20-7.

Young JM, Terrin N, Wang X, et al. Asymmetric dimethylarginine and mortality in stages 3 to 4 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:1115.

Zastrow, L., Groth, N., Klein, F., Kockott, D., Lademann, J., and Ferrero, L. UV, visible and infrared light. Which wavelengths produce oxidative stress in human skin. *Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, and Verwandte Gebiete.* 2009; 60, 310-317.

Zhang R, Brennan ML, Fu X, Avilés RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001; 286:2136-42.

Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, et al. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55:648.

Zoppini G, Targher G, Chonchol M, Ortalda V, abaterusso C, Pichiri I et al. Serum uric acid levels and incident chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes and preserved kidney function. *Diabetes Care* 2012, 35:99-104.

## **ABREVIATURAS**



## **8. ABREVIATURAS**

8-OHdG: 8-hidroxi-desoxiguanina

ABTS: sal diamonio 2,2´azinobis-(6-ácido sulfónico 3-etilbenzoiazolina)

AGEs: Productos de la glicación avanzada

ALEs: Productos finales de la lipoperoxidación

AOPP: Productos proteicos de la oxidación avanzada

ARA II: Bloqueantes de los receptores de la angiotensina

BUN: Nitrógeno ureico en sangre

CAT: Catalasa

dG: 2-desoxiguanosina

DM: Diabetes Mellitus

ECV: Enfermedad cardiovascular

EO: Estrés oxidativo

ERC: Enfermedad Renal Crónica

ERN: Especies reactivas del nitrógeno

EROs: Especies reactivas oxigénicas o del oxígeno

FG: Filtrado glomerular

GC: Grupos carbonilo

GPx: Glutation peroxidasa

GR: Glutation reductasa

GSH: Glutation reducido

GSSG: Glutation disulfuro u oxidado

HD: Hemodiálisis

HDF: Hemodiafiltración

HDF-OL: Hemodiafiltración online

HD-HF: Hemodiálisis convencional con un filtro de alto flujo

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

HD-LF: Hemodiálisis convencional con un filtro de bajo flujo

HF: Hemofiltración

HFR: Hemodiafiltración on line con reinfusión endógena del ultrafiltrado

HTA: Hipertensión arterial

IDO: Indolamina 2,3-dioxigenasa

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

IECAS: Inhibidores del enzima conversor de la angiotensina

IL-6: Interleuquina 6  
IMC: Índice de masa corporal  
Kuf: Coeficiente de ultrafiltración (Kuf)  
Kyn: Quinurenina  
LDL: Lipoproteínas de baja densidad  
LDL: Lipoproteínas de baja densidad  
MDA: Malondialdehído  
MIA: Malnutrición-inflamación-aterosclerosis  
MPE: Malnutrición proteico energética  
NADPH: b-nicotinamina adenina dinucleótido fosfato, forma oxidada (NADPH)  
NO : Óxido nítrico  
O<sub>2</sub><sup>·-</sup>: Ión superóxido  
OH<sup>·</sup>: Radical hidroxilo (OH<sup>·</sup>)  
PCR: Proteína C reactiva  
PF: Polifenoles  
PM: Peso molecular  
PS: Polisulfona  
PTH: Hormona paratiroidea  
PTM: Presión transmembrana  
RO: Radical alcoxilo  
ROO<sup>·</sup>: Radical peroxilo  
ROS: Especies de oxígeno reactivas  
SEN: Sociedad Española de Nefrología  
SOD: Superóxido dismutasa  
TAC: Capacidad antioxidante total  
TBARS: Material reactivo con ácido tiobarbitúrico  
TFG: Tasa de filtrado glomerular  
TNF-alfa: Factor de necrosis tumoral alfa  
Trp: Triptófano  
Trx: Tiorredoxina  
UF: Ultrafiltración

