



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON
INSUFICIENCIA RENAL EN DISTINTAS MODALIDADES
DE TERAPIA SUSTITUTIVA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

CAMILO RODRIGUEZ LOPEZ

ASESORES:

**MC. ANA LAURA VAZQUEZ MARTINEZ
Dr. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA**

**CUAUTITLÁN IZCALLI,
ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO, 2010.**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
EXAMENES PROFESIONALES
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES
ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 26 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Estrés oxidativo en pacientes con insuficiencia renal en distintas modalidades de terapia sustitutiva.

que presenta el pasante: Camilo Rodríguez López

con número de cuenta: 40408897-0 para obtener el título de :
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Noviembre de 2009

PRESIDENTE	MC. Francisco López Mejía	
VOCAL	Q. Arcadia Hernández Beltrán	
SECRETARIO	MC. Ana Laura Vázquez Martínez	
PRIMER SUPLENTE	MC. Gloria Leticia Arellano Martínez	
SEGUNDO SUPLENTE	QFB. Ma. Lourdes Galván Ruiz	

Esta tesis se desarrollo íntegramente en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas (UIMEN), con la dirección del Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya y con el soporte económico del CONACYT (Sectorial en Salud 2009 No. 115403).

A la mujer de mi vida:

Lourdes Saucedo Bueno

A mi familia:

Mi Padre: Julián Rodríguez

Mi Madre: Emelia López

*Mis Hermanas: Maricela
Karina*

*Mis sobrinos: Andrea Carbajal
Néstor Valentín Carbajal
Erick Carbajal
Ernesto Morales*

Lourdes, gracias por estar en mi vida porque tú has sido mi fortaleza, mi refugio, mi consuelo, mi compañera, mi mejor amiga, la que me ayuda en los momentos de angustia, la que me enseña a ser mejor persona cada día, la que me anima, la que me quiere, la que me ama, gracias por ser “la mujer de mi vida”, te amo con todas mis fuerzas, con toda mi mente y con todo mi ser.

Gracias papá, gracias mamá, por apoyarme, por cuidarme, por amarme, por creer en mí, por darme la vida, por enseñarme a amar, a respetar, a ser sincero, y por enseñarme a conseguir lo que anhelo, los amo con todo mi corazón.

Hermanitas amadas, gracias por animarme, por ayudarme, por estar con migo, por darme a los sobrinos mas maravillosos que me motivan y me enseñan a ser como un niño.

Y a ti, el amor de mi vida, gracias por buscarme, por enamorarme, por estar en mí ser, por estar en quienes amo, gracias por todo, porque tú eres lo máximo, eres el único autor; mi único deseo es que seas mi universo, te amo Jesús.

Señor, tu me has examinado y me conoces;

*tú conoces todas mis acciones;
aun de lejos te das cuenta de lo que pienso.*

Sabes todas mis andanzas, ¡sabes todo lo que hago!

Aún no tengo la palabra en la lengua, y tú, Señor, ya la conoces.

Por todos lados me has rodeado; tienes puesta tu mano sobre mí.

*Sabiduría tan admirable está fuera de mi alcance;
¡es tan alta que no alcanzo a comprenderla!
¿A dónde podría ir, lejos de tu espíritu?
¿A dónde huiría, lejos de tu presencia?*

*Si yo subiera a las alturas de los cielos, allí estás tú;
y si bajara a las profundidades de la tierra, también estás allí;
si levantara el vuelo hacia el oriente,
o habitara en los límites del mar occidental,
aun allí me alcanzaría tu mano;
¡tu mano derecha no me soltaría!*

*Si pensara esconderme en la oscuridad,
o que convirtiera en noche la luz que me rodea,
la oscuridad no me ocultaría de ti,
y la noche sería tan brillante como el día.
¡La oscuridad y la luz son lo mismo para ti!*

*Tú fuiste quien me formó todo mi cuerpo;
tú me formaste en el vientre de mi madre.*

*Te alabo porque estoy maravillado,
porque es maravilloso lo que has hecho.
¡De ello estoy bien convencido!*

*No te fue oculto el desarrollo de mi cuerpo mientras yo era formado en lo
secreto, mientras era formado en lo más profundo de la tierra.*

*Tus ojos vieron mi cuerpo en formación;
todo eso estaba escrito en tu libro.*

*Habías señalado los días de mi vida
cuando aún no existía ninguno de ellos.*

*Oh Dios, qué profundos me son tus pensamientos;
¡infinito es el conjunto de ellos!*

*Si yo quisiera contarlos, serían más que la arena; y si acaso terminara,
aún estaría contigo. Sal.139, 1-18.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente a mi maestra Ana Laura Vázquez por presentarme en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas (UIMEN), al Dr. José Ramón Paniagua (jefe de la UIMEN) por darme la oportunidad de realizar mi servicio social y la presente tesis, se lo agradezco de todo corazón y al mismo tiempo reconozco su sabiduría y su sencillez, las cuales son cualidades que hace que merezca honra, gracias por ser un ejemplo de vida. A mi director de tesis Juan Manuel Gallardo le agradezco todas sus enseñanzas, atención y sobre todo el contagiarme el ánimo y el júbilo que pone en todo lo que emprende.

Puesto que una parte de mi trabajo requirió equipos para realizar las diferentes determinaciones de estrés oxidativo, reconozco el aporte de la unidad de investigación médica en enfermedades autoinmunes y en enfermedades neurológicas.

Deseo expresar mis sinceros reconocimientos a Ernesto Morales y Valentín Carvajal por facilitarme su equipo de cómputo, el cual fue necesario para hacer la redacción de este trabajo; también le agradezco a David Martínez y a Omar Martínez el haber compartido distintos programas de cómputo y haberme proporcionado diversidad de hardware.

Durante la realización de este trabajo conté con el apoyo económico de la UIMEN del IMSS. Los fondos económicos para la realización de este proyecto provinieron de donativos del IMSS y del CONACYT.

CONTENIDO

SIGLAS, ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	iv
RESUMEN.....	viii
CAPITULO UNO: ANTECEDENTES.....	1
1. Concepto de oxidación.....	1
2. Oxidación en sistemas biológicos.....	1
3. Oxígeno.....	3
4. Radicales libres.....	4
5. Estrés oxidativo (EO).....	6
6. Antioxidantes.....	8
6.1 Vitamina C (ascorbato).....	9
7. El radical anión superóxido y la superóxido dismutasa.....	11
8. Peróxido de hidrógeno.....	14
9. Metabolización del H ₂ O ₂ a oxígeno y agua, mediante la enzima catalasa.....	16
10. Grupos tiol (glutación).....	16
11. Radical hidroxilo y malondialdehído (MDA).....	19
12. Reacción de Fenton-Haber Weiss.....	21
13. Mieloperoxidasa y productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPPs).....	22
14. Óxido nítrico.....	24
14.1 Papel del óxido nítrico en la fisiología renal.....	26
15. Productos avanzados de la glicosilación (AGEs).....	27
15.1 Composición y propiedades de los AGEs.....	28
15.2 Mecanismo de los productos avanzados de la glicosilación.....	29
16. Carbonilos.....	31
17. Sistema urinario.....	32
17.1 Anatomía externa del riñón.....	34
17.2 Anatomía interna del riñón.....	35
17.3 Riego sanguíneo e inervación de los riñones.....	37
17.4 La nefrona.....	37
17.5 Partes de la nefrona.....	37
18. Insuficiencia renal.....	39
18.1 Insuficiencia renal aguda (IRA).....	40
18.2 Insuficiencia renal crónica (IRC).....	40
18.3 Cuadro clínico de la IRC.....	41
18.4 Sintomatología de la IRC.....	42
18.5 Diagnóstico de la IRC.....	43
18.6 Tratamiento.....	43
18.7 Otros medicamentos.....	44
18.8 Tratamientos sustitutivos de la función renal.....	45
18.8.1 Diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA).....	47
18.8.2 Diálisis peritoneal automatizada (DPA) ó mecánica.....	48

18.8.3 Hemodiálisis	49
18.9 Trasplante renal y terapéuticas a futuro	50
19. Estrés oxidativo en la IRC	52
19.1 Causas del estrés oxidativo en las personas con IRC	52
 CAPITULO DOS: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	 54
1. Hipótesis	54
2. Objetivos	54
2.1 Objetivo general	54
2.2 Objetivos particulares	54
 CAPITULO TRES POBLACIÓN MATERIALES Y MÉTODOS	 56
1. Población	56
2. Material	58
3. Reactivos	59
4. Equipo	60
5. Métodos bioquímicos	61
5.1 Desproteínización de la muestra	61
5.2 Determinación de malondialdehído (MDA)	61
5.3 Determinación de NO [•]	62
5.4 Determinación de peróxidos	63
5.5 Cuantificación de los productos avanzados de la glicosilación	64
5.6 Determinación de la vitamina C	64
5.7 Determinación de grupos tiol (glutatió) sulfhidrilos totales en suero	65
5.8 Determinación de productos avanzados de la oxidación de proteínas	66
5.9 Cinética de SOD por el método de pirogalol	66
5.10 Determinación de carbonilos totales (oxidación de proteínas)	67
5.11 Determinación de la actividad antioxidante total en suero	68
6. Análisis estadístico	69
 CAPITULO CUATRO: RESULTADOS	 70
1. Resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo en el tratamiento sustitutivo de la función renal (diálisis peritoneal: DPCA, DPA) y (hemodiálisis: HDi, HDs)	70
1.1 Productos avanzados de la glicosilación	71
1.2 Vitamina C	72
2. Resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo en los tratamientos de sustitución de la función renal (DPCA, DPA, HDi y HDs)	72
2.1 Productos avanzados de la glicosilación	74
2.2 Malondialdehído	75
2.3 Productos avanzados la oxidación de proteínas	76

2.4 Vitamina C	77
2.6 Grupos tiol	78
3. Resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo en los diferentes grupos de edad del paciente nefrótico	79
3.1 Productos avanzados de la glicosilación	80
3.2 Nitritos	81
3.3 Vitamina C	82
3.4 Actividad antioxidativa total	83
4. Resultados de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo en el género del paciente nefrótico	84
CAPITULO CINCO: DISCUSIÓN	85
CAPITULO SEIS: CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS	88
1. Conclusión	88
2. Perspectivas	88
REFERENCIAS	96

SIGLAS, ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Á	Amstroms
AAox ttal	Actividad antioxidativa total
AFGP	1-Alkil-2-formil-3,4-diglicosil pirrol
AGE-R2	Fosfoproteína 80L-H
AGE-R3	Galectina-3
AGE-RI	Oligosacaril-transferasa
AGEs	Productos avanzados de la glicosilación
AH ₂	Compuesto que contiene hidrógeno (metanol, fenol, etanol, etc.)
AOPPs	Productos avanzados de la oxidación de proteínas
Aox	Antioxidante
APD	Diálisis peritoneal automatizada (por sus siglas del inglés)
ATP	Trifosfato de adenosina
BD	Bidestilada
BH ₂	Dihidrobiopterina
BH ₄	Tetrahidrobiopterina
Ca ²⁺	Calcio
CAPD	Diálisis peritoneal continua ambulatoria (por sus siglas del inglés)
CAT	Enzima catalasa
Cl ⁻	Cloruro
CML	Carboximetil-lisina
C=O	Grupos carbonilo
DNA	Ácido Desorribonucleico
DNPH	2-4 Dinitrofenilhidrazina
DP	Diálisis Peritoneal
DPA	Diálisis peritoneal automatizada
DPCA	Diálisis peritoneal continua ambulatoria
DTNB	5' 5' Ditio-Bis 2-Nitro-ácido benzoico
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
EO	Estrés oxidativo
ER	Especie Reactiva
ERCT	Enfermedad Renal Crónica Terminal
ERN	Especie Reactiva de Nitrógeno
ERO	Especie Reactiva de Oxígeno
FAD	Flavín Adenina Dinucleótido
FADH ₂	Flavín Adenina Dinucleótido reducido
Fe ²⁺	Ión ferroso
Fe ³⁺	Ión férrico
FFI	2-(2-furonil)-4(5)-(2-furanil)-1H-imidazol
FMN	Mononucleotido flavina
FR	Filtrado Residual

g	Gramo, unidad de masa del Sistema Internacional de unidades
GPx	Enzima Glutación peroxidasa
GR	glutación reductasa
GSSG	glutación oxidado
GSH	Glutación reducido
GSSG/GSH	Cociente de glutación oxidado y reducido
h	Hora, unidad de tiempo igual a una veinticuatroava parte del día astronómico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorhídrico
HCO ₃ ⁻	Carbonato ácido
HD	Hemodiálisis
HDi	Hemodiálisis institucional (realizada en el IMMS)
HDs	Hemodiálisis subrogada (realizada fuera del IMSS)
H ₂ O	Molécula de agua
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
HNO ₂	Ácido nitroso
HO ₂	Hidroperoxilo
HOB _r	Ácido hipobromoso
HOCl	Ácido hipocloroso
HPO ₄ ²⁻	Fosfato ácido
HPTS	Hiperparatiroidismo secundario
IMMS	Instituto Mexicano del Seguro Social
iNOS	Oxido nítrico sintasa inducible
IR	Insuficiencia renal
IRA	Insuficiencia renal aguda
IRC	Insuficiencia renal crónica
K	Potasio
kDa	Kilodaltones
K-DOQI	Iniciativa de resultados de calidad en la enfermedad renal
KFκB	Factor de transcripción nuclear kappa β
K _m	Es la concentración de sustrato que da la mitad de la velocidad máxima de una reacción
KT/V	Depuración fraccionada de urea en función de su volumen de distribución
L	Litro, unidad de capacidad del Sistema Métrico Decimal
M	Concentración molar
m ²	Metro cuadrado
MAPK	Proteínas cinasas MAP
MDA	Malondialdehído
mg	Miligramo
min	Minuto
mL	Mililitro
M _m	Masa molecular
mM	Milimolar
mmol	Milimol
MPO	Enzima mieloperoxidasa

N_2O_3	Trióxido de dinitrógeno
N_2O_4	Tetraóxido de dinitrógeno
Na^+	Sodio
NAD	Nicotin-Adenin-Dinucleótido
NADH	Nicotin-Adenin-Dinucleótido reducido
NADPH	Nicotinamida Dinucleótido Fosfato
NADPH oxidasa	Enzima Nicotinamida Dinucleótido Fosfato Oxidasa
$NaNO_2$	Nitrito de sodio
NED	N-naftilendiamino
NFκB	Factor de transcripción
$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$	Sulfato de amonio ferroso
nm	Nanómetro
nmol	Nanomol
nNOS	Oxido nítrico sintasa neuronal
NO^-	Anión nitrosilo
NO.	Óxido nítrico
NO^+	Catión nitrosilo
NO^\bullet	Óxido nítrico (monóxido de nitrógeno)
NO_2^-	Nitrito
NO_2^+	Catión nitronio
NO_2^\bullet	Dióxido de nitrógeno
NO_3^-	Nitrato
NOS	Oxido nítrico sintasas por sus siglas en ingles (nitric oxide synthase)
O_2	Oxígeno molecular
O_3	Ozono
$^\circ C$	Grados Celsius
^-OH	Ión hidroxilo
$^\bullet O_2^-$	Anión superóxido
$^\bullet OH$	Radical hidroxilo
$^\bullet OOR$	Peroxilo
$^\bullet OR$	Alcoxilo
1O_2 forma $^1\Delta$	Oxígeno en singulete
$ONOO^-$	Anión peroxinitrito
ONOOH	Ácido peroxinitroso
OST-48	Oligosacaril-transferasa
pH	Potencial de hidrógeno
PKC	Proteína cinasa C
Q	Quinona
Q-	El intermediario inestable de quinona
RAGE	Receptores de membrana de AGEs
RL	Radical libre
RONOO	Alquilperoxinitritos
sem	Semana
SH	Grupo tiol
SOD	Superóxido dismutasa (enzima)
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico

TR	Trasplante renal
Tris	Buffer con formula química $C_4H_{11}NO_3$
UAF	Unidades Arbitrarias de Fluorescencia
UIMEN	Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas
US NKF	Fundación Nacional del Riñón de los Estados Unidos de Norteamérica
Vm	Velocidad media
Vmax	Velocidad máxima
xo	Naranja de xilenol
XO	Xantina Oxidasa
μM	Micromolar
μmol	Micromoles

RESUMEN

Está claramente constatado que los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) están expuestos a un mayor estrés oxidativo (EO) generado por las toxinas urémicas (urea, creatinina, ácido úrico, ácidos orgánicos, etc.), factores relacionados con la hemodiálisis (HD), incompatibilidad en los sistemas de diálisis (membranas sintéticas poco biocompatibles y no usar agua de diálisis ultrapura), un estado inflamatorio crónico, grado de insuficiencia renal crónica, desnutrición, hipoalbuminemia, introducción de altas concentraciones de glucosa en los fluidos de diálisis (74-214 mM), disponibilidad disminuida de grupos tiol, falta de vitaminas A, E, C y selenio, edad avanzada, la pérdida de sustancias antioxidantes a través de la diálisis, y administración parenteral de hierro sin agentes estimulantes de la eritropoyesis; de esta manera el sistema antioxidante es ineficiente, sin embargo, de todos los factores, la uremia es la que causa mayor estrés oxidativo en los pacientes que se encuentran en diálisis peritoneal (DP) y HD. Algunas condiciones que hacen que se aumente la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) son: diabetes, hipertensión no controlada, enfermedades autoinmunes e infecciones (Boulangier, et al, 2006; Stepniewska, et al, 2006; González, 2006; Agalou, S et al, 2003).

Se conoce que el tratamiento hemodialítico aumenta el EO, sin embargo, no existe información concluyente en la manera en que el EO es afectado por la DP, punto que es analizado en el presente trabajo.

El propósito de esta tesis es comparar el grado de EO en pacientes urémicos tratados con diferentes modalidades de diálisis [diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA), diálisis peritoneal automatizada (DPA), hemodiálisis institucional (HDi) y hemodiálisis subrogada (HDs)] para conocer cuál de ellas causa menor EO. Se toman en cuenta diferentes estudios:

- a) La DP elimina en mayor cantidad los productos avanzados de la glicosilación (AGEs) que la HD (Agalou et al, 2003).
- b) El nivel plasmático de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (AOPPs) en las personas con IRC es más alto en pacientes en HD, que los tratados con DPCA (Witko-Sarsat et al, 1996).

Se estudiaron 617 pacientes con enfermedad renal crónica terminal (ERCT), de los cuales 195 en DPCA, 114 en DPA, 233 en HDi, y 75 en HDs. Como marcadores de daño oxidativo se determinaron: malondialdehído (MDA), AGEs, AOPPs y carbonilos totales; como especies reactivas: óxido nítrico (NO[•]) y peróxidos. Como antioxidantes: superóxido dismutasa (SOD), grupos tiol, vitamina C, y actividad antioxidativa total.

Los AGEs se incrementan significativamente en la HD con respecto a la DP ($p < 0.001$).

Los pacientes en DP tienen mayor concentración de vitamina C que los pacientes en HD ($p < 0.001$). En la HDs hay mayor cantidad de MDA con respecto a la DPCA ($P < 0.05$).

En la DPCA los pacientes presentan niveles bajos de AGEs en comparación con la HDi ($P < 0.001$) y HDs ($P < 0.05$); además en la DPCA se tiene menor concentración de AOPPs comparada con la DPA ($P < 0.05$) y la HDi ($P < 0.05$).

Los pacientes en DPCA presenta mejor estado antioxidante por tener niveles altos de grupos tiol en comparación con los pacientes en DPA ($P < 0.001$) y HDs ($P < 0.001$); asimismo, la DPCA es la terapia de reemplazo renal en la que hay mayor concentración de vitamina C con respecto a la HDi ($P < 0.001$), HDs ($P < 0.01$) y DPA ($P < 0.001$).

No encontramos diferencias significativas con otros marcadores como: NO[•], carbonilos totales, peróxidos, actividad antioxidativa total y SOD.

Se concluye que los pacientes con ERCT sometidos a DP se encuentran con menor estrés oxidativo que los de HD-HDs, evidenciando a la DPCA como la terapia que causa menor EO, posiblemente por las condiciones de los pacientes en cada modalidad de diálisis.

El formato de esta tesis es el siguiente: en el capítulo uno se hace la descripción sobre el EO, la generación de especies reactivas y se define lo que son los antioxidantes; también se hace la descripción de lo que es la insuficiencia renal, las causas, y se describen los tratamientos sustitutivos de la función renal.

Una vez descrito el panorama, en el capítulo dos se puntualiza más detalladamente los objetivos. En el tercer capítulo se describe la población, materiales, métodos, reactivos, y equipos utilizados; en el cuarto se presentan los resultados; en el quinto se discuten, y finalmente en el capítulo seis se sintetizan las conclusiones y se presenta la perspectiva.

CAPITULO UNO: ANTECEDENTES

1. CONCEPTO DE OXIDACIÓN

La oxidación es un proceso en el cual una sustancia química pierde (cede) electrones, y la reducción es un proceso en el que la sustancia química gana (recibe) electrones. La oxidación y la reducción ocurren simultáneamente y el número total de electrones cedidos es igual a los ganados. La sustancia química que cede electrones es el agente reductor y la sustancia química que recibe electrones es el agente oxidante (Halliwell et al, 1992).

2. OXIDACIÓN EN SISTEMAS BIOLÓGICOS

En el ser humano la oxidación es un proceso dinámico que se lleva a cabo constantemente, de tal manera, que los agentes causantes de la oxidación son los llamados oxidantes, como oxidantes se encuentran las especies reactivas de oxígeno (ERO) y las especies reactivas de nitrógeno (ERN). Estas especies reactivas (ER) se generan principalmente dentro del organismo (intracelularmente y que actúan tanto dentro como fuera de la célula) y también son estimuladas por agentes del medio ambiente. Las ER que se producen en el organismo son causadas por: el metabolismo normal (en la cadena de respiración a nivel mitocondrial), por eventos de hipoxia, agentes biológicos, modificaciones inmunológicas, alteraciones genéticas. Las ER que se producen en el organismo por agentes externos son originadas por: agentes físicos y químicos, además de que algunos déficits nutritivos pueden ocasionar que se produzca mayor oxidación a nivel sistémico (cuadro 1).

Las especies reactivas que se producen en el ser humano, ERO y ERN pueden ser benéficas o tóxicas, dependiendo de la concentración y de la continuidad en que se produzcan; y se pueden clasificar como radicales y no radicales (cuadro 2).

Cuadro 1. Agentes causantes de la oxidación en humanos (Günthern y Morgado, 2007)

Hipoxia	<p>Especialmente en el período de reperfusión (paradoja del oxígeno)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Por isquemia o hipoperfusión sanguínea ○ Por bloqueo del transporte de oxígeno ○ Por interferencia en la cadena de transporte de electrones ○ Por disminución del transportador
Agentes biológicos	<p>La fagocitosis y la posterior destrucción del agente agresor se acompañan de la formación del radical superóxido, peróxido de hidrógeno y oxidantes halogenados como el hipoclorito por la acción de la mieloperoxidasa</p>
Modificaciones inmunológicas	<p>Destrucción de las propias células por ERO en las patologías por autoagresión</p>
Alteraciones genéticas	<p>Deficiencia de la oxidasa de la membrana del neutrófilo conduce a granulomatosis crónica; deficiencia de adenilato desaminasa; entre otras deficiencias</p>
Agentes físicos (radiación)	<p>Radiolisis del agua y la generación de radicales libres H[·] y [·]OH Transferencia de un electrón a la molécula de oxígeno y generación de O₂^{-·}</p>
Agentes químicos	<p>Ingesta de precursores de radicales libres (RL): Fármacos Aditivos químicos en alimentos procesados Inhalación voluntaria o accidental: Tetracloruro de carbono Tabaco</p>
Déficits nutritivos	<p>Sustancias que colaboran con la eliminación de RL</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Vitamina C ○ Glutación reducido ○ Vitamina E ○ Vitamina A ○ Flavonoides ○ Aminoácido (histidina, triptofano, cisteína, tirosina)

Cuadro 2. Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. (Halliwell y Gutteridge, 1989).

	ERO	ERN
RADICALES	Anión superóxido $\cdot\text{O}_2^-$ Hidroxilo $\cdot\text{OH}$ Peroxilo $\cdot\text{OOR}$ Hidroperoxilo HO_2 Alcoxilo $\cdot\text{OR}$	Óxido nítrico $\text{NO}\cdot$ (monóxido de nitrógeno) Dióxido de nitrógeno $\text{NO}_2\cdot$
NO RADICALES	Peróxido de hidrógeno H_2O_2 Ácido hipocloroso HOCl Ozono O_3 Oxígeno en singulete $^1\text{O}_2$ forma $^1\Delta$ Ácido hipobromoso (HOBr)	Ácido nitroso HNO_2 Ácido peroxinitroso (ONOOH) Alquilperoxinitritos (RONOO) Cation nitrosilo NO^+ Cation nitronio NO_2^+ Anión nitrosilo NO^- Tetraóxido de dinitrógeno N_2O_4 Trióxido de dinitrógeno N_2O_3 Anión peroxinitrito ONOO^- Nitrito NO_2^- Nitrato NO_3^-

3. OXÍGENO

Joseph Priestley descubrió que el oxígeno era un gas producido por las plantas, y el químico francés Antoine Laurent Lavoisier fue el que le dio nombre (del griego “formador de ácidos”) (Vásquez y Tuena, 2002). En 1779 Lavoisier demostró que era un “gas esencialmente respirable”, capaz de combinarse con el carbón en el cuerpo y producir “calor animal”, y era imprescindible para mantener la vida, la salud física y el vigor mental. Sin embargo, en 1878, Paul Bert demostró que el oxígeno a alta concentración o a presiones mayores que la atmosférica podía dañar el encéfalo, los pulmones y otros órganos en animales experimentales (Günther y Mogado, 2007).

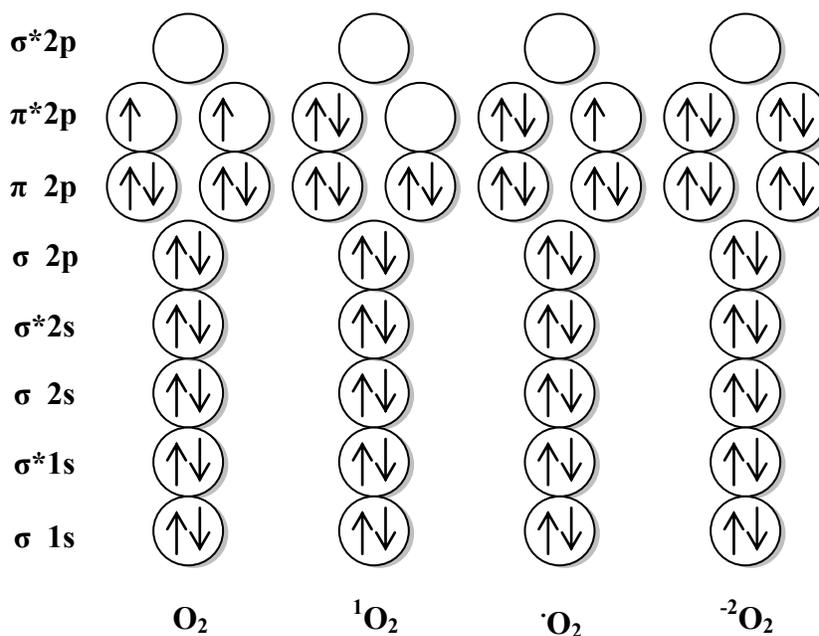
El oxígeno molecular (O_2) es un dirradical debido a que posee dos electrones desapareados en su órbita externa (estado triplete). Debido a que los dos electrones tienen el mismo

espín, el dióxígeno solo puede reaccionar con un electrón, y esto lo hace poco reactivo (Esquema 1) (Mckee y James, 2003).

La toxicidad del O₂ se explica debido a la formación de las especies reactivas del oxígeno (ERO).

4. RADICALES LIBRES

Gomberg (1900) y de Paneth (1923) dieron el nombre de radicales libres (RL) y demostraron la existencia de los mismos.



Esquema 1. Configuración electrónica del O₂ y algunas ERO (Carrillo y Valle, 2002).

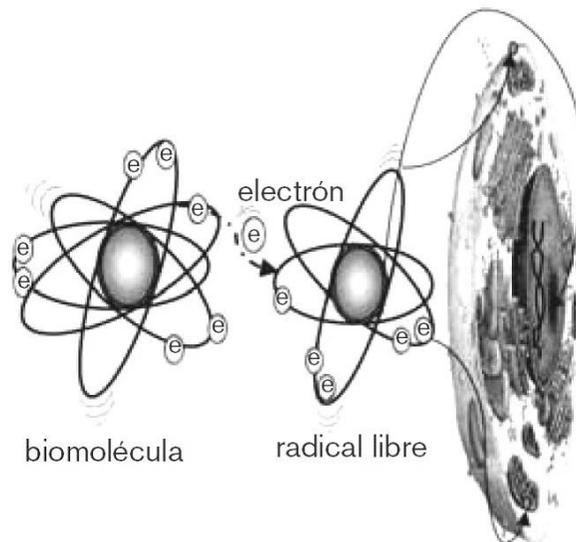
Las ERO son generadas por la utilización del oxígeno en las células. Un radical libre se define como un átomo o molécula que posee uno o más electrones desapareados (o sea, un número impar) en su orbital más externo y es capaz de existir independientemente (Halliwell y Gutteridge, 1989). Además por su configuración química tienen corta vida.

De acuerdo con la definición, son radicales libres el hidrógeno atómico y todos los átomos de número atómico impar en su estado elemental. También las combinaciones de átomos pares e impares, como el óxido nítrico NO[·] (Günthern y Mogado, 2007).

Un radical libre se puede formar por la ganancia o pérdida de un solo electrón de cualquier molécula. La reactividad es una característica intrínseca de cada especie de oxígeno que no tiene nada que ver con que la especie sea o no un radical. (Konigsberg, 2008).

La reactividad de los RL está dada por la tendencia a llenar el orbital que posee el electrón desapareado. Son capaces de reaccionar con otros radicales libres o con moléculas estables con muy baja energía de activación.

Los blancos de los radicales libres son, en general moléculas con alta densidad electrónica, como anillos aromáticos, dobles enlaces, etc. Estos sitios de ataque se encuentran en moléculas de gran importancia biológica, como ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos y algunos lípidos (esquema 2) (Günthern y Mogado, 2007).



Esquema 2. Interacción de radicales libres con biomoléculas de la célula (Velázquez, Prieto y Contreras, 2004).

Cuando un RL reacciona con una molécula no radical puede ceder o captar electrones, o simplemente puede unirse a ella. En cualquiera de estos casos la molécula no radical se

convierte en un RL y se desata una reacción en cadena: un RL genera a otro RL. Sólo cuando se encuentran dos RL la reacción en cadena se detiene. (Halliwell y Chirico, 1993; Halliwell y Gutteridge, 1992).

Las ERO y ERN son esenciales para muchos procesos biológicos normales, como son la activación de fagocitos, el metabolismo de eicosanoides, o bien, formando parte de una serie de eventos en respuesta a una invasión de microorganismos y material extraño, generando factores quimiotácticos, entre otros. También están implicados en la señalización celular, sin embargo, juegan un papel importante en la generación de daño celular, iniciando una gran variedad de reacciones oxidativas tóxicas, como son la iniciación de la peroxidación lipídica, inhibición de la respiración mitocondrial, inhibición de la actividad de la bomba Na^+/K^+ , inactivación de los canales de sodio y otras reacciones oxidativas de proteínas.

En condiciones fisiológicas existe un balance entre la formación de ERO, ERN y antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, así como de sistemas de reparación, sin embargo cuando se rompe este equilibrio se produce el llamado estrés oxidativo. (Flohé et al, 1985; Hurst y Barrette, 1989; Rice-Evans et al, 1993; Cuzzocrea et al, 2000).

5. ESTRÉS OXIDATIVO (EO)

Rebeca Gerschman, entre las décadas de los cincuenta y los sesenta postuló la teoría del daño celular por la toxicidad del oxígeno y la disminución de antioxidantes; con base en esta teoría en 1985 Helmut Sies elaboró el concepto de EO como una situación de desequilibrio con un aumento de oxidantes o con una disminución de antioxidantes (Konigsberg, 2008).

El EO es el aumento en la producción de ERO y de ERN o bien, una disminución en los sistemas antioxidantes o de reparación, o una combinación de estos factores.

El EO lleva a lesiones bioquímicas y fisiológicas las cuales pueden deteriorar el metabolismo, causando daño oxidativo a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, lo que finalmente resulta en muerte celular y posteriormente daño a tejidos (Cuadro 3) (Heinonen et al, 1998; Rice-Evans y Millar, 1996; Satue-Gracia et al, 1997; Chance et al, 1979; Fridovich, 1975, 1978; Tang et al, 2004).

El estrés oxidativo está asociado con el envejecimiento, ejercicio, ingesta de etanol, tabaquismo y numerosas enfermedades humanas, como: isquemia, reperfusión, aterosclerosis, hipertensión aguda, shock hemorrágico, diabetes mellitus, cáncer, inflamación, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Wilson, ataxia de Friedreich y esclerosis múltiple, nefrotoxicidad, insuficiencia renal aguda, insuficiencia renal crónica, entre otras enfermedades (Flohé et al, 1985; Hurst y Barrette, 1989; Rice-Evans y Burdon, 1993; Cuzzocrea et al, 2000; Yoshikawa et al, 1983; Halliwell y Gutteridge 1984; Yuda et al, 1991; Bodamyali et al, 2000).

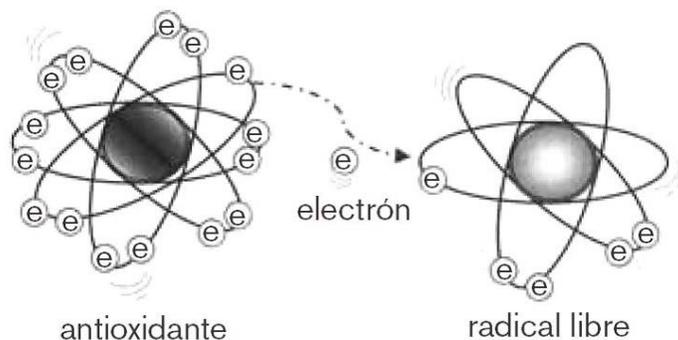
Hasta este momento se han mencionado diversas ERO y ERN que producen normalmente en los sistemas vivos, y en condiciones de estrés oxidativo, sin embargo, para evitar la oxidación de las biomoléculas existen sustancias antioxidantes.

Cuadro 3. Blancos celulares de las ERO y ERN (Günthern y Mogado, 2007)

BLANCO	EFFECTOS
○ Aminoácidos no-saturados y con grupos tiol	<ul style="list-style-type: none"> ○ Desnaturalización proteica ○ Ruptura de uniones covalentes ○ Inhibición en la permeabilidad celular y en los organelos
○ Bases nitrogenadas	<ul style="list-style-type: none"> ○ Alteraciones en el ciclo celular ○ Mutaciones
○ Carbohidratos	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cambios en la porción protoplasmática de la membrana celular
○ Lípidos insaturados	<ul style="list-style-type: none"> ○ Oxidación de colesterol y ácidos grasos ○ Formación de enlaces covalentes entre lípidos ○ Alteraciones de la permeabilidad de las membranas biológicas
○ Cofactores vitamínicos	Baja disponibilidad de los cofactores de oxidorreducción derivados de la nicotinamida y la flavina
○ Neurotransmisores	Disminución de la disponibilidad de neurotransmisores como catecolaminas y serotonina
○ Antioxidantes	Disminución de la disponibilidad de los antioxidantes, incluyendo alfa-tocoferol y betacaroteno
○ Proteínas	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ruptura de cadenas peptídicas ○ Desnaturalización
○ DNA	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ruptura de cadenas ○ Modificación de bases
○ Ácido hialurónico	Cambio en la viscosidad del líquido sinovial

6. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias que, presentes en bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), retardan o previenen la oxidación (Velásquez et al, 2004), mediante la donación de un electrón con el fin de que la ER sea más estable (Esquema 3).



Esquema 3. Interacción de radicales libres con antioxidantes (Velásquez et al, 2004).

Las defensas químicas capaces de mantener el equilibrio oxidante / antioxidante del organismo se pueden clasificar en antioxidantes enzimáticos, no enzimáticos y en mecanismos de reparación.

Como agentes antioxidantes enzimáticos está: la enzima superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión transferasa, la glutatión reductasa (GR) y la paraoxonasa (PON1).

Los antioxidantes no enzimáticos se dividen en los que se obtienen a través de la dieta (exógenos) y los que son sintetizados en nuestro organismo (endógenos). Ambos se clasifican en: antioxidantes hidrosolubles y liposolubles (Cuadro 4).

Los sistemas enzimáticos de reparación: resarcan DNA y proteínas oxidadas (Hermes-Lima, 2004). Entre las enzimas reparadoras de DNA están las endonucleasas, exonucleasas y la metionina sulfóxido reductasa (Velásquez et al, 2004).

6.1. VITAMINA C (ASCORBATO Ó ÁCIDO ASCÓRBICO)

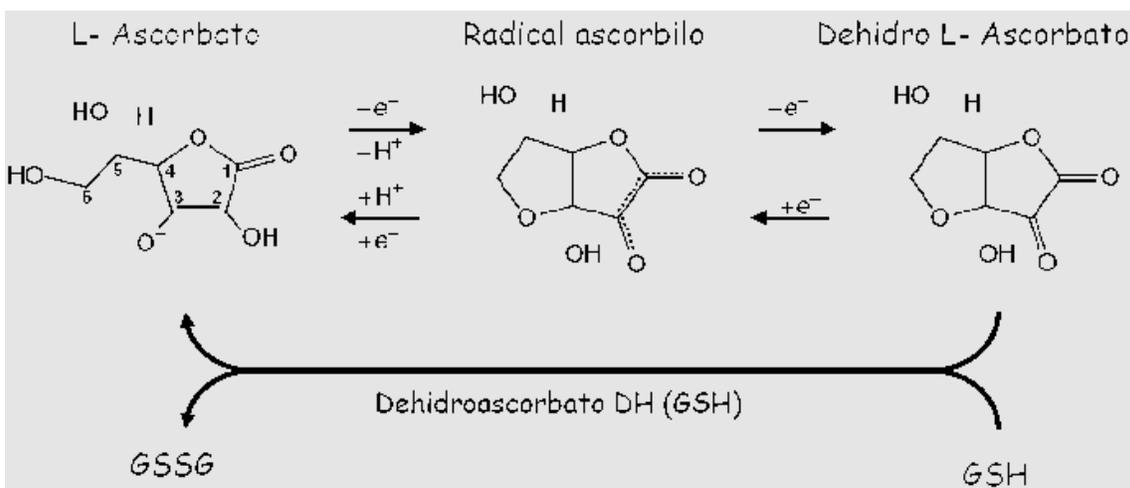
El ascorbato puede existir en tres estados redox: L-Ascorbato, radical ascorbilo y ácido dehidroascórbico. Puede eliminar el $\cdot O_2^-$, $\cdot OH$, H_2O_2 , $ROO\cdot$, $NOO\cdot$ y también extinguir el 1O_2 . (García, 2008) (Locatelli et al, 2003).

La mayor parte de los animales pueden sintetizar ascorbato a partir de la glucosa, pero algunos primates y el hombre perdieron la enzima para el último paso de la biosíntesis (gulonolactona oxidasa).

Cuadro 4. Clasificación de algunos antioxidantes no enzimáticos.

	Exógenos	Endógenos
Hidrosolubles	Flavonoides y polifenoles	Ácido úrico
	Vitamina C	Bilirrubina
Liposolubles	Vitamina E	Coenzima Q10
	Carotenoides	

El ascorbato es cofactor para gran cantidad de enzimas participantes en reacciones de hidroxilación. Es necesario para la biosíntesis de colágeno a través de la prolina y lisina hidroxilasas, en su ausencia el colágeno formado está insuficientemente hidroxilado, dando lugar a vasos sanguíneos frágiles.



Esquema 4. El ascorbato se regenera por el poder reductor del glutatión

El ascorbato en el plasma es considerado el antioxidante hidrosoluble más efectivo (Frei et al, 1990). Su acción antioxidante se basa en la anulación de radicales libres a través de la donación de un electrón seguido de un protón, para dar lugar a un producto no radical reducido, y por otra parte radical ascorbilo, que rápidamente se convierte en ascorbato y ácido dehidroascórbico. Ambos son reducidos vía glutathione para mantener la biodisponibilidad de la vitamina C (May et al, 1997; Mendiratta et al, 1998), que a su vez mantiene la forma reducida protectora GSH (acción sinérgica) (Esquema 4) (Tamba y O'Neill, 1991).

El ascorbato protege a las membranas celulares mediante dos mecanismos. En primer lugar, el ascorbato reacciona con los radicales peroxilo que se forman en el citosplasma antes de que puedan alcanzar la membrana, evitando de esta manera la peroxidación lipídica. En segundo lugar, el ascorbato potencia la actividad antioxidante de la vitamina E regenerando el β -tocoferol, a partir del radical α -tocoferilo. Luego se regenera el ascorbato por su reacción con el GSH (Mckee et al, 2003).

La vitamina C es una molécula hidrosoluble, la cual interacciona prácticamente con los mismos oxiradicales que la vitamina E, pero con la ventaja adicional de su capacidad para regenerar la variante reducida (antioxidante) de la vitamina E al interactuar con el radical tocoferilo para regenerar el α -tocoferol a su estado activo. Sin embargo, es importante considerar que en presencia de metales de transición, como por ejemplo en la hemólisis, la vitamina C es capaz de facilitar la producción de radicales libres al parecer sin vinculación con un aumento en la lipoperoxidación (Hicks, 2001).

El ácido ascórbico a una concentración de 50 mM es capaz de prevenir la peroxidación de lípidos del plasma.

7. EL RADICAL ANIÓN SUPERÓXIDO Y LA SUPERÓXIDO DISMUTASA

La enzima superóxido dismutasa (SOD) descubierta por McCord y Fridovich, es el primer antioxidante que protege contra el daño oxidativo, debido a que acelera la transformación de el radical anión superóxido en peróxido de hidrógeno (Mckee, 2003).



En la reacción anterior, una molécula de superóxido se oxida dando lugar a O_2 , mientras que otra se reduce para dar lugar a H_2O_2 . La reacción está limitada por la difusión debido a la constante de la reacción ($2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

La superóxido dismutasa es una metaloenzima, y existen tres isoformas en el humano:

Cuadro 5. Isoformas de la SOD (Fridovich, 1995; Vaziri et al, 2003).

SOD	Localización		Mm (kDa)
Cobre-Zinc	Citoplasma, lisosomas, núcleo y espacio intermembranoso mitocondrial	Dimérica	30
Manganeso	Matriz mitocondrial	Tetramérica	80
Extracelular	Intersticio, plasma, linfa y líquido sinovial	Dimérica	

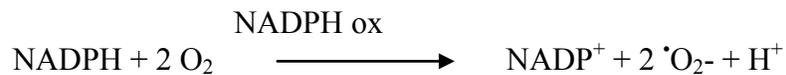
Cuando el O_2 capta un electrón éste se aparea con uno de los dos electrones libres de los orbitales π^* y forma así el $\cdot\text{O}_2^-$, que es a la vez un anión y un radical.

Las fuentes principales del superóxido son: enzimática y no enzimática; de manera enzimática solamente es en las mitocondrias.

Las mitocondrias, son las responsables de más del 90% del consumo de oxígeno celular, y en ellas encontramos la vía monovalente de reducción del oxígeno. Las zonas de formación de $\cdot\text{O}_2^-$ se dan en la membrana externa de la mitocondria, en la matriz y en ambos lados de la membrana mitocondrial interna (Turnes, 2003). Del 2-5% del flujo de electrones a través de la cadena respiratoria escapan para producir $\cdot\text{O}_2^-$. La velocidad de producción de $\cdot\text{O}_2^-$ de la mitocondria se ha estimado en aproximadamente 1.2 nmol/min/mg. El complejo III de la cadena respiratoria es la mayor fuente de producción de ERO. Los electrones provenientes

de NADH del complejo I (NADH-Q reductasa) y los provenientes de FADH₂ del complejo II se transfieren hasta la Q (quinona); el anillo quinona de la coenzima Q se puede reducir a quinol (ubiquinol) con 2 electrones en el ciclo de Q, donde se forma el intermediario inestable (Q⁻), quien puede formar superóxido al transferir un electrón al oxígeno molecular. (Finkel et al, 2000).

En los fagocitos del sistema inmune (neutrófilos activados, eosinófilos y macrófagos) (Weiss, 1989): ante un estímulo, experimentan un aumento del consumo de oxígeno, principalmente en la membrana plasmática, donde la enzima NADPH oxidasa (Babior y cols 2002; Vignais 2002) produce, a expensas de electrones de la vía de las pentosas y oxígeno basal, radicales libres de oxígeno. La producción extracelular de O₂⁻ representa más del 90 % del consumo del oxígeno de la célula activada (Grisham y Granger 1988; Weiss, 1989).

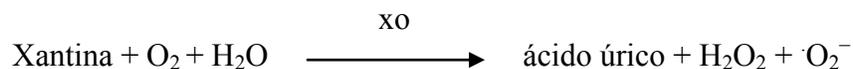
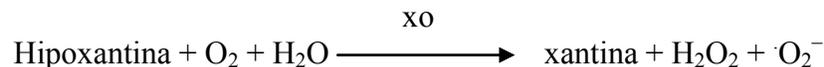


En el endotelio vascular: mediante la NADPH oxidasa del endotelio (Babior, 2000).



Las oxigenasas citocromo P450 dependientes (Coon et al, 1992).

Otras fuentes adicionales de $\cdot\text{O}_2^-$ y H₂O₂ son la xantina oxidasa (xo), aldehído oxidasa, monoamino oxidasa, urato oxidasa y la L- y D-aminoacil oxidasa.

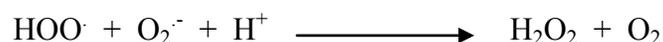


8. PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

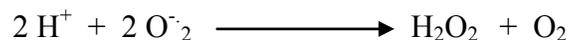
El H_2O_2 es una ERO (no es un radical) ya que no tiene electrones desapareados. Es un agente oxidante y reductor débil, por lo tanto poco reactivo. La reactividad limitada del H_2O_2 le permite cruzar las membranas y dispersarse generalizadamente (Mckee, 2003).

El peróxido de hidrógeno tiene varias posibilidades de formación:

1. Una de ellas en la reacción ya descrita de la xantino-oxidasa. Otra posibilidad es la reacción de terminación de RL en que reaccionan los radicales superóxido e hidroperóxido (Günther y Mojado, 2007):



2. Otra es cuando se genera en un ambiente acuoso, el $\cdot\text{O}_2^-$ reacciona consigo mismo para dar lugar a H_2O_2 y O_2 (Mckee, 2003):



3. El H_2O_2 es formado en los organismos durante las reacciones de oxidación de quinonas, por la oxidación de compuestos que contienen grupos sulfhidrilos, por la dismutación del $\text{O}_2^{\cdot-}$ o bien, por acción de la SOD.
4. Los peroxisomas que contienen acil coA oxidasa, dopamina b-hidroxilasa, urato oxidasa y otras generan peróxido de hidrógeno como producto intermedio.

En presencia de Fe^{3+} , el H_2O_2 puede participar en la reacción de Fenton para formar $\cdot\text{OH}$ (Deby & Goutier, 1990; Halliwell y Gutteridge, 1990,1992; Chance et al, 1979; Liu et al, 2007).



La velocidad de producción de H_2O_2 es relativamente alta en todas las células representando alrededor de 1–3 % del consumo total de O_2 , principalmente como una ERO secundaria debido a la dismutación de $\text{O}_2^{\cdot-}$; (Halliwell y Gutteridge, 1999). Sin embargo, la reacción de Fenton en células normales es mínima porque los sistemas que disponen H_2O_2 , catalasa y glutatión peroxidasa, lo conservan en concentración muy baja en el rango de nanomolar y porque las concentraciones de metales de transición como los iones libres son incluso bajas.

Normalmente, las proteínas forman complejos con los metales de transición, para limitar su reactividad.

El peróxido de hidrógeno es depurado por las reacciones de la catalasa y de las peroxidasa, siendo la glutatión peroxidasa la más conocida de ellas.

La glutatión-peroxidasa cataliza:



GHS es glutatión reducido y G-S-S-G es glutatión oxidado (Günther, 2007).

Las células expuestas al peróxido de hidrógeno provocan una serie de eventos bioquímicos que conducen al daño, a través de una reducción en los niveles de ATP, inhibir la función de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenada, por medio del rompimiento de la cadena de DNA siguiendo a la depleción de NAD (nicotin-adenin-dinucleótido) y alteraciones en el citoesqueleto. La exposición de muchos modelos celulares a concentraciones mayores de (1 nM) de peróxido de hidrógeno resulta en muerte celular con un patrón consistente de necrosis; a concentraciones menores (1 nM), las células presentan un patrón de tipo apoptosis (Lelli, 1998).

Una vez formado el H_2O_2 , por la SOD, y mediante otras reacciones, esta molécula oxidante, puede encaminarse hacia cuatro senderos:

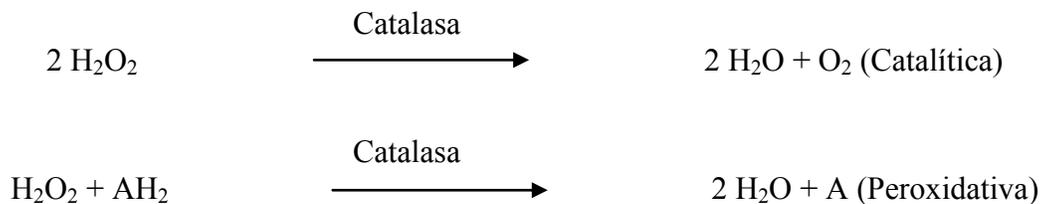
1. Dar origen a oxígeno y agua, mediante la enzima catalasa (CAT).
2. Vía Glutatión.

3. Generación de $\cdot\text{OH}$ a través de la reacción de Fenton/Haber-Weiss, en presencia de hierro.
4. Vía mieloperoxidasa

9. METABOLIZACIÓN DEL H_2O_2 A OXÍGENO Y AGUA, MEDIANTE LA ENZIMA CATALASA

La enzima catalasa es una hemoenzima tetramérica y contiene 4 grupos ferroprotoporfirínicos por molécula, que realizan el intercambio redox (Matés et al, 1999). Se encuentra en los peroxisomas de todas las células, y sólo está presente en las mitocondrias cardíacas (Turnes, 2003).

La CAT es la enzima más detoxificante para la eliminación de peróxido de hidrógeno cuando la concentración está aumentada, debido a que no se satura a ninguna concentración por tener su K_m y V_m muy altas para el H_2O_2 . Interviene en dos tipos de reacciones: una catalítica, en la que una molécula de H_2O_2 se oxida a oxígeno, y la otra se reduce a dos moléculas de agua; y otra peroxidativa, en la que una molécula de H_2O_2 se convierte en agua valiéndose de un substrato no específico portador de H como reductor (metanol, etanol, fenol, ácido fórmico, etc.) (Matés et al, 1999).



10. GRUPOS TIOL (GLUTATIÓN)

El glutatión es un tripéptido de γ -ácido glutámico, γ -cisteína y γ -glicina que constituye el principal tiol no proteico celular más abundante; se mantiene a una concentración milimolar. Se encuentra en forma reducida (GSH) y en forma oxidada (GSSG). El glutatión tiene varias funciones, entre ellas; participa en la formación y ruptura de los puentes disulfuro de las proteínas y su actividad antioxidante se debe a la capacidad reductora del grupo tiólico de la cisteína.

Puede actuar como antioxidante en reacciones enzimáticas (como con la glutatión peroxidasa). Protege a la oxidación de los grupos SH esenciales de las proteínas. Es uno de los antioxidantes no enzimáticos más activos y atrapador directamente de H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$, oxidantes clorados, también se ha descrito la capacidad del GSH para realizar reacciones de extinción del $^1\text{O}_2$ singulete, devolviéndolo a su estado basal no reactivo (triplete) (Locatelli, 2003; García, 2008).

Al reaccionar con oxidantes el GSH se oxida a GSSG, que es tóxico para las células, por lo que éstas tienden a mantener una relación GSSG/GSH baja, mediante la reducción del GSSG a GSH con la glutatión reductasa (García, 2008; Hicks, 2001).

Dentro del grupo de las enzimas peroxidadas selenio-dependientes, el ejemplo más importante es la glutatión peroxidasa (GPx). Dicha enzima cataliza la reducción de gran cantidad de hidroperóxidos (ROOH) y H_2O_2 usando glutatión reducido (GSH) (Matés et al, 1999).

Se describen cuatro isoenzimas de GPx que comparten características comunes (Rotruck et al, 1973):

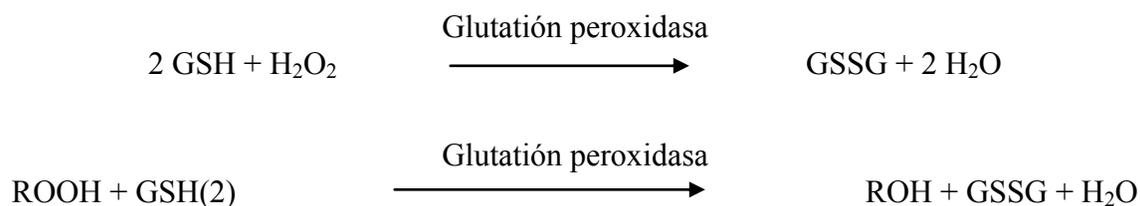
- ✓ Oxidación de selenio seguida de una reducción mediada por el glutatión.
- ✓ Residuo de selenocisteína que se inserta durante la traslación proteínica y que da lugar a la actividad enzimática.
- ✓ Actividad enzimática dependiente de selenio.
- ✓ Reacción enzimática en la que el selenio (que compone la selenocisteína) reduce los peróxidos.

La GPx utiliza como sustrato al H_2O_2 , pero además del peróxido, actúa con lípidos y otros hidroperóxidos orgánicos.

El ciclo de la GPx es una gran fuente de protección contra niveles de estrés oxidativo, mientras la catalasa protege en mayor grado frente a daño oxidativo severo (Yan y Harding, 1997). La enzima catalasa tiene mucha menor afinidad por el peróxido de hidrógeno que la GPx (Izawa et al, 1996). La GPx presenta K_m y V_{max} bajas para el H_2O_2 , por lo que son adecuadas para eliminar concentraciones pequeñas de esta molécula.

Cuadro 6. Isoenzimas de la glutatión peroxidasa (Matés et al, 1999; Ursini et al, 1985, 1999; Whitin et al, 2002; Chu y Esworthy, 1995).

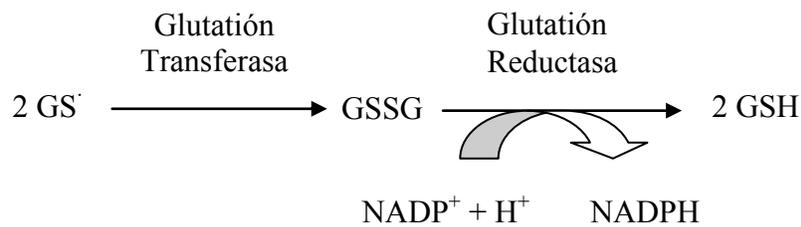
Glutation peroxidasa (GPx)	Localización	Efecto
Citosólica y mitocondrial (cGPx)	Todos los tejidos, pero predomina en eritrocitos, riñón e hígado	Reduce H ₂ O ₂ y peróxidos orgánicos (derivados de ácidos grasos)
GPx fosfolipídica (PLGPx)	Membrana y el citosol. Se expresa en mayor cantidad en células epiteliales renales.	Reduce hidroperóxidos fosfolipídicos
Extracelular (eGPx)	Plasma sanguíneo, leche materna, en lavado alveolar	Reduce hidroperóxidos orgánicos, hidroperóxidos fosfolipídicos y H ₂ O ₂ .
Gastrointestinal (giGPx)	Células epiteliales del tracto gastrointestinal,	Reduce H ₂ O ₂ y peróxidos orgánicos (derivados de ácidos grasos)



Por otra parte GPx, y otras selenoproteínas que contienen selenocisteína o selenometionina, pueden actuar como peroxinitrito - reductasas en la línea de oxidación mediada por peroxinitritos (Sies et al, 1997).

La glutatión reductasa (GR) cataliza la reducción de glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (2 GSH) utilizando NADPH procedente de la vía de las pentosas (López Barea et al, 1990). Esta enzima es importante para mantener la eliminación de peróxido de hidrógeno a través de la GPx, y evita que el cociente GSSG/GSH, se eleve.

Se encuentra en el citosol y la mitocondria, y utilizan flavín adenina dinucleótido (FAD) que actúa como coenzima.

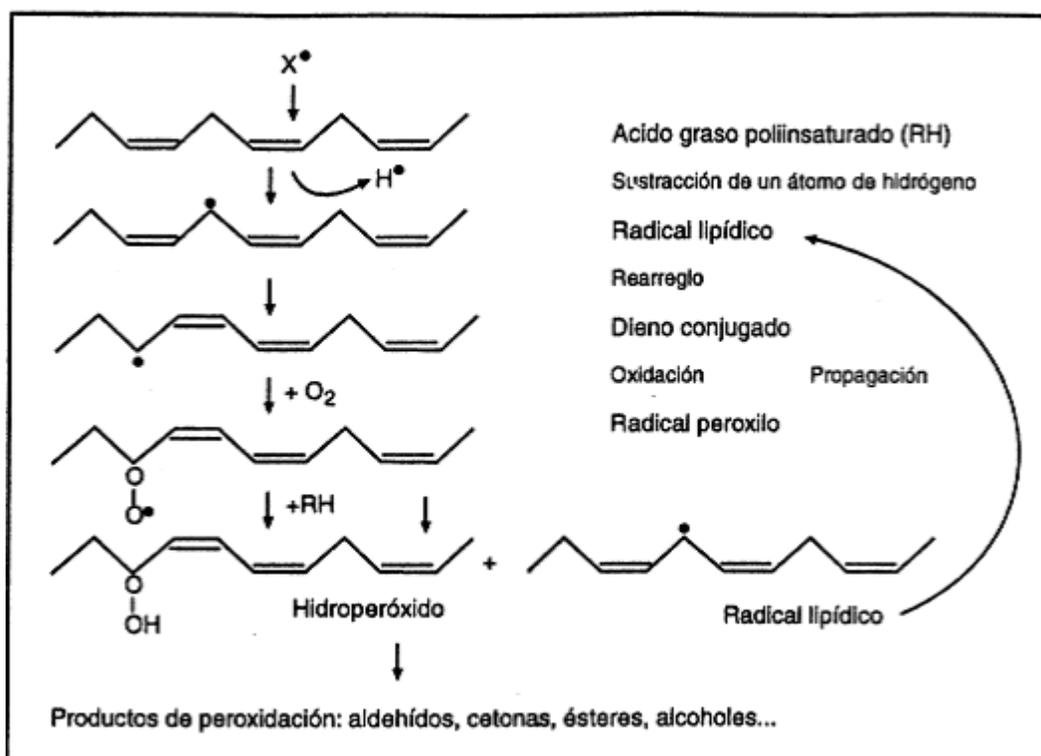


11. RADICAL HIDROXILO Y MALONDIALDEHÍDO (MDA)

El malondialdehído es un producto de la peroxidación de los lípidos. La peroxidación de los lípidos en los sistemas biológicos puede ocurrir bajo control enzimático o no enzimático, sin embargo, esta última forma es la que se relaciona con el estrés oxidativo y el daño celular (Romero et al, 1998).

La peroxidación lipídica se desarrolla como una reacción en cadena autopropagante, por el radical hidroxilo, que tiene una vida media muy corta (unos pocos microsegundos) y alcanza concentraciones muy bajas (10^{-4} a 10^{-9} M). Su radio de acción es muy pequeño, cerca de 30 Å (Günther, 2007).

La lipoperoxidación se inicia cuando el hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), ataca un ácido graso, constituyente de triacilglicérolos o fosfoacilglicérolos. La interacción del radical libre va dirigida al carbono adyacente, a un doble enlace, ocasionando un rompimiento homolítico al sustraer un hidrógeno que forma agua al unirse al radical, mientras que el ácido graso presenta un radical libre (electrón) en el carbono afectado por el hidroxilo. Una vez que a un fosfolípido se le extrae un electrón, éste busca estabilizar su estructura química y toma el electrón de la molécula próxima, generándose así una reacción en cadena (Esquema 5) (Velásquez et al, 2004; Stocker y Keaney, 2004).

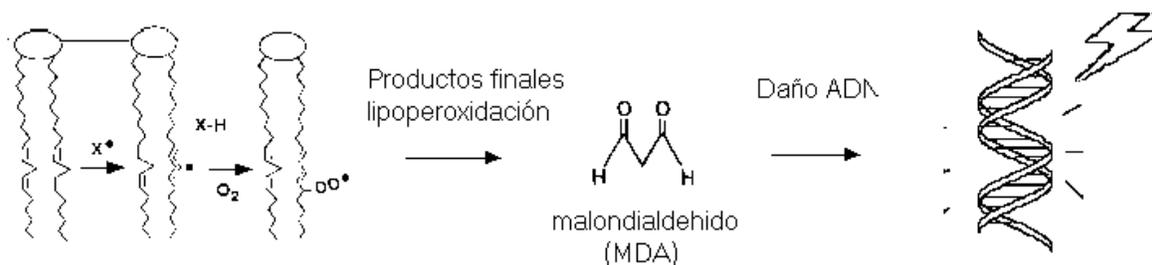


Esquema 5. Cadena de eventos en la peroxidación de lípidos X[·] representa un radical libre con energía suficiente para extraer un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado (Hicks, 2001).

Los productos de la lipoperoxidación son aldehídos, entre ellos 4-hidroxinonenal (4-HNE) y malondialdehído (MDA), hexanal, cetonas, esterés, alcoholes. Este mecanismo se facilita con la presencia de iones de metales de transición (Halliwell et al, 1992; Morrissey y O'Brien, 1998) y por los dobles enlaces contenidos en la cadena ácido graso insaturado.

Las consecuencias del daño en la estructura molecular del ácido graso son más evidentes cuando estos lípidos forman parte de las membranas celulares o subcelulares, ya que se altera su cohesión, fluidez, permeabilidad y función metabólica (Yu, 1994; Bandyopadhyay et al, 1999).

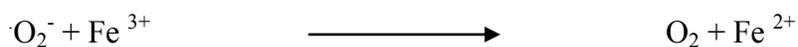
El malondialdehído (MDA), es mutagénico y carcinógeno, porque pueden formar aductos con la adenina, la guanina y la citosina (Esquema 6) (Marnett MJ, 1999).



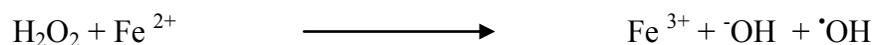
Esquema 6. Lipoperoxidación.

12. REACCIÓN DE FENTON-HABER WEISS

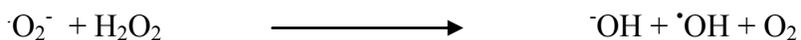
En esta vía el hierro va a ser el catalizador del proceso seguido por el H₂O₂. Una molécula de hierro en forma férrica (Fe³⁺) se reduce a forma ferrosa (Fe²⁺) mediante el $\cdot\text{O}_2^-$.



La forma ferrosa a su vez reduce al H₂O₂ dando lugar al radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), radical libre altamente reactivo.



Al mismo tiempo, peróxido de hidrógeno y anión superóxido reaccionan, obteniendo como resultado también radical hidroxilo.



El hierro puede ser sustituido por el cobre cambiando entre valencias 2+ y 1+.

13. MIELOPEROXIDASA Y PRODUCTOS AVANZADOS DE LA OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS (AOPPs)

La enzima mieloperoxidasa (MPO) es una hemoproteína de unos 150 kDa, tetramérica, glicosilada. Está compuesta por dos protómeros, cada uno de los cuales posee una subunidad pesada protoporfirínica de 59-64 kDa, y otra ligera de 14 kDa (Nauseef y Malech, 1986). Está presente en neutrófilos y macrófagos. Se almacena en gránulos azurófilos primarios de leucocitos y se secreta en espacio extracelular y en fagolisosomas tras la activación de los fagocitos (Klebanoff y Clark, 1978).

La activación fagocitaria y la secreción de MPO se acompaña de un aumento en la formación de anión superóxido, a partir de la NADPH oxidasa, y del siguiente paso en la reducción univalente del oxígeno, el peróxido de hidrógeno. La MPO amplifica el potencial oxidante del H_2O_2 y lo utiliza como cosustrato en la formación de oxidantes a través de un ciclo peroxidasa (Babior, 1978).

La actividad de la MPO está regulada por:

- ✓ la tasa de producción de anión superóxido
- ✓ la disponibilidad de H_2O_2 y otros co-sustratos (Klebanoff y Clark 1978; Kettle y Winterbourn, 1997)
- ✓ concentración de antioxidantes (Kettle y Winterbourn 1997; Márquez et al, 1990)
- ✓ presencia de óxido nítrico ($NO\cdot$) (Abu-Soud y Hazen, 2000), participante en la cadena de procesos inflamatorios, en especial en la regulación de las propiedades proinflamatorias del endotelio y en estados precoces de la migración de la célula inflamatoria a los lugares de inflamación, y se entrelaza con el efecto oxidativo, siendo intermediario en el mismo como se verá posteriormente.

La MPO presenta gran cantidad de estados intermedios, influidos por la disponibilidad para reducir anión superóxido, peróxido de hidrógeno y óxido nítrico (Abu-Soud y Hazen, 2000). Su estado basal es la forma férrica, y dependiendo del sustrato cambiará su estado iónico. El sustrato más importante es el cloro, dando lugar a ácido hipocloroso ($HOCl$) (Foote et al, 1983; Weiss et al, 1982). Esta capacidad de producir oxidantes derivados del cloro es única de MPO en mamíferos.



La reactividad de oxidantes clorinados como el ácido hipocloroso (HOCl) provoca modificación en determinadas moléculas susceptibles, y así encontramos:

- ✓ Oxidación de grupos tiol y ésteres de tiol (Kettle y Winterbourn, 1994)
- ✓ Oxidación de grupos hemo y grupos hierro-sulfurados (Albrich et al, ,1981)
- ✓ La interacción con peróxido de hidrógeno da lugar a oxígeno singlete (Krinsky, 1974)
- ✓ La actuación sobre $\text{O}_2^{\cdot-}$ desemboca en liberación de $\cdot\text{OH}$ (Candeias et al, 1993)
- ✓ La cloración de lípidos insaturados (Winterbourn et al, 1992)
- ✓ Cloración de aminas (R-NH_2) dando lugar a cloraminas (Thomas et al, 1982)

Los AOPPs son los productos de la oxidación de proteínas en el plasma de pacientes con IRC, esta oxidación es causada por el HOCl producido por neutrofilos, el cual, modifica la estructura de las proteínas (Yasunori et al, 2006).

La interacción de las ERO con las proteínas da lugar a una oxidación de los restos laterales de aminoácidos, lo cual puede traducirse en una pérdida o modificación de la función biológica que desempeñan. Mediante reacciones de agregación, entrecruzamiento y fragmentación, las proteínas atacadas por radicales dan lugar a los AOPPs. Aunque no tan utilizado en los estudios relacionados con el estrés oxidativo como la lipoperoxidación, investigadores como Witko-Sarsat y Descamps-Latscha aseguran que constituye un marcador de valor predictivo en la IRC (Betancourt et al, 2007; Zalba et al, 2006; Witko-Sarsat et al, 1996).

El nombre de AOPPs fue usado en analogía a los productos avanzados de la glicosilación (AGEs), que comparten varios homologías, estrechamente relacionadas con los biomarcadores de activación de los monocitos, y que pueden servir como mediadores de la inflamación y correlacionar positivamente con ditirosina y pentosidina (AGEs) en concentraciones plasmáticas, que indican daño oxidativo (Locatelli et al, 2003).

Las proteínas oxidadas por HOCl son eliminadas por el hígado y el bazo (Iwao et al, 2006).

Las cloraminas por oxidación producen alteraciones en los hematíes formándose metahemoglobina y formación de cuerpos de Heinz, dando lugar a una menor resistencia de los hematíes y por tanto una anemia hemolítica.

La etiología de la anemia en los pacientes con IRC en hemodiálisis es multifactorial. Una de las causas que pueden contribuir a aumentar el grado de anemia, es la elevación de la tasa de cloraminas en el agua.

El ácido ascórbico añadido al líquido de diálisis parece ser efectivo como neutralizante de las cloraminas, este efecto es debido a su acción reductora. Sin embargo, cantidades suficientes de carbón activado para el tratamiento del agua son aun más efectivas que el ácido ascórbico (vitamina C) como tratamiento de la anemia por cloraminas, aunque no se sabe si el carbón activado implica una mayor contaminación bacteriana en los sistemas de depuración del agua (Simón et al, SNHPDM).

14. ÓXIDO NÍTRICO

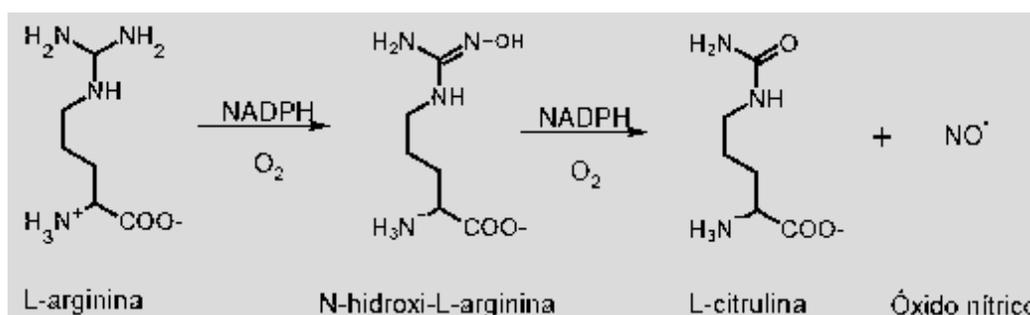
El óxido nítrico (NO \cdot), también es conocido como monóxido de nitrógeno, es un gas incoloro relativamente soluble en agua, intermediario obligado del ciclo del nitrógeno. El NO \cdot es un radical libre lipofílico. No es muy reactivo y se difunde a través de la membrana y el citoplasma. Reacciona lentamente con los grupos tiol o con los sulfhidrilos de algunas proteínas.

El NO \cdot puede formar otras ERN, como el nitrato al reaccionar con el O $_2$ y el peroxinitrito (ONOO \cdot) al reaccionar con el O $_2^{\cdot-}$, el catión nitrosonio (NO $^+$), el anión nitroxilo (NO $^-$) (Hansberg, 2002; Gómez-Fernández et al, 2005; Günthern et al, 2007).

El NO \cdot es una molécula de gran importancia en los sistemas biológicos, participa en sistemas de señalización. A concentraciones de 10 $^{-7}$ M funciona como un mensajero en el sistema nervioso central y periférico, además, ejerce múltiples efectos antiaterogénicos: vasodilatación, inhibición de agregación plaquetaria, inhibición de la proliferación de la fibra muscular lisa y disminución de la producción de proteína quimiotáctica de monocitos (MCP), entre otros.

El NO[•] es formado por el sistema inmune e inhibe enzimas indispensables como las oxidasas terminales y otras hemoproteínas que unen oxígeno y enzimas con centros Fe-S como las aconitasas (Poole, 2005), y junto con las ERO influyen en efectos múltiples de inflamación y respuesta inmune.

El óxido nítrico se sintetiza de forma enzimática por un grupo de enzimas denominadas NO sintasas (NOS por sus siglas en inglés nitric oxide synthase) que cataliza el paso de L-arginina a L-citrulina mediante un proceso oxidativo de la terminal nitrógeno-guanidino de la L-arginina, para el cual utiliza oxígeno molecular y NAD(P)H, y en el que se libera NO[•] (Chirino et al, 2006).



Esquema 7. Generación del NO[•], por la oxidación del átomo nitrógeno guanidino terminal de la L-arginina empleando oxígeno molecular (O₂) como sustrato y NADPH como cofactor (Domínguez, 2007).

Existen tres isoformas de NOS: Neuronal (nNOS), endotelial (eNOS), ambas constitutivas, y la inducible (iNOS) (Cuadro 7). Son flavoproteínas que contienen tetrahidrobiopterina (BH₄) como cofactor, y grupo hemo (Michel y Feron, 1997). En ausencia de BH₄ o de sustrato, además de NO[•], producen anión superóxido, sobre todo eNOS. El anión superóxido es generado por el dominio oxigenasa de la enzima a través de la disociación de un complejo dioxígeno-ferroso que en condiciones habituales es estabilizado por la BH₄ (Vasquez-Vivar et al, 1998). El aumento de ERO, favorece la conversión de BH₄ en dihidrobiopterina (BH₂).

Cuadro 7. Isoformas de la NOS

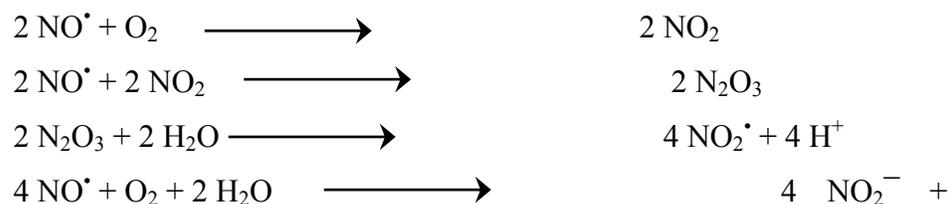
Nombre	Abreviatura	Descripción
Enzima constitutiva neuronal	nNOS ó NOS I	Su actividad está regulada por Ca^{2+} intracelular. La nNOS se caracteriza por su baja producción de NO^\bullet .
Enzima inducida por citocinas	iNOS ó NOS II	Su actividad es independiente de Ca^{2+} intracelular. La iNOS se expresa prototípicamente por macrófagos murinos y se caracteriza por su alta producción de NO^\bullet .
Enzima constitutiva endotelial	eNOS ó NOS III	Su actividad es regulada por Ca^{2+} intracelular y se caracteriza por su baja producción de NO^\bullet .

14.1 PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA FISIOLÓGÍA RENAL

Las eNOS son expresadas principalmente en la microvasculatura renal, células endoteliales glomerulares, células del tubulo proximal, en la parte gruesa ascendente del asa de Henle y en el túbulo colector. La isoforma nNOS se expresa en la mácula densa, en las células principales de los túbulos colectores y en la pelvis renal.

Se ha propuesto que la iNOS se encuentra en el túbulo proximal y estudios *in vitro* en cultivos celulares indican la presencia de iNOS en células mesangiales o en el interior de los tubulos colectores (Prabhakar, 2004).

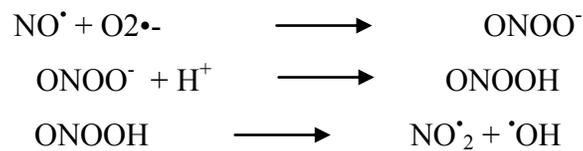
Una de las reacciones importantes del NO^\bullet es su oxidación, en donde el producto final es el ion nitrito el cual puede ser cuantificado por el método de Griess y así de forma indirecta determinar el NO^\bullet (Williams, 2004).



4H^+

Esquema 8. Reacciones del óxido nítrico (Williams, 2004).

El NO• interactúa con el anión radical $\cdot\text{O}_2^-$, generando anión peroxinitrito (ONOO^-), un potente agente oxidante que a su vez reacciona con un gran número de moléculas blanco, como son los grupos sulfidrilos generando daño celular, median efectos tóxicos como daño al DNA, oxidación de LDL, formación de isoprostanos, formación de nitrotirosina, y en la respiración mitocondrial (Williams, 2004). Se sabe también que este anión es un potente proinflamatorio y citotóxico (Beckman et al, 1990), a pH fisiológico sufre protonación formando ácido peroxinitroso (ONOOH), molécula termodinámicamente inestable que se descompone espontáneamente para producir dióxido de nitrógeno (NO_2) y una fuente de radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) independiente de la catálisis por hierro (Beckman et al, 1987; Williams, 2004):



15. PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN (AGEs)

La glicosilación no enzimática de proteínas, también es denominada glicatación o reacción de Maillard.

Los AGEs (del inglés; advanced glycosilation end products) incrementan la formación de ERO ya que son compuestos desconocidos para las células efectoras de la respuesta inmune por lo que propicia su activación y la producción de RL

Los AGEs se generan mediante la reacción entre un carbohidrato (monosacárido) y una proteína o lípido. Estos compuestos se forman en la cocción de alimentos y también en el organismo conforme se incrementa la edad o en estados patológicos como la hiperglucemia.

A principios del siglo XX Louis Camille Maillard (1872-1936) estudió la combinación de los azúcares con las demás biomoléculas y describió las bases moleculares de estas reacciones, que luego tomaron su nombre. Una década más tarde, en 1922, el químico italiano Mario Amadori (1886-1941) determinó el arreglo que lleva su nombre y que

describe los primeros estadios de la combinación de los azúcares reductores con los grupos amino primarios pertenecientes a distintas moléculas (Rossi, 2007).

La reacción entre un grupo aldehído de un monosacárido y un grupo amino libre (los grupos amino reactivos pueden ser el grupo α -NH₂ de la proteína N-terminal o el grupo ϵ -NH₂ de los residuo de lisina dependiendo de su disponibilidad y condiciones del medio) se produce un ordenamiento molecular conocido como base de Schiff. Estas bases son inestables y experimentan un reordenamiento intramolecular lento que forma cetoaminas o fructosaminas (compuestos de Amadori), esta reacción es reversible; la persistencia de las condiciones que dan origen a los compuestos de Amadori, favorecen que éstos se acumulen y se transformen, por reacciones no enzimáticas e irreversibles, en productos avanzados de la glicosilación (AGEs). Estos últimos son moléculas químicamente estables (complejos covalentes), por tanto, no se degradan.

15.1 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DE LOS AGES

Los AGES pueden clasificarse en 2 grupos, según predominen en su estructura molecular los anillos imidazólicos o los pirrólicos.

Moléculas con estructura de anillo imidazol

- * 2-(2-Furonil)-4(5)-(2-furanil)-1H-imidazol (FFI)
- * 1-Alkil-2-formil-3,4-diglicosil pirrol (AFGP)

Moléculas con estructura de anillo pirrol

- * 5 Hidroximetil-1-alkilpirrol-2-carbaldehído (pirralina)
- * Carboximetil-lisina (CML)
- * Pentosidina

Estas moléculas aportan un color amarillo marrón a las proteínas que la contienen y pueden fluorecer al ser estimuladas con luz de 370 nm de longitud de onda y emitir luz entre los 440 y 460nm (Ayra y Díaz, 1999; Selvaraj et al, 2008).

15.2 MECANISMO DE LOS PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN

En condiciones de hiperglucemia los AGEs pueden aparecer en el transcurso de una semana. La glicosilación no enzimática de las proteínas puede ser llevada a cabo en el espacio extracelular o en el intracelular. Cuando sucede en el espacio extracelular los AGEs se unen a receptores específicos de la membrana conocidos como RAGE que son capaces de activar las vías de señalización de PKC, MAPK y $\text{NF}\kappa\text{B}$ (factor de transcripción nuclear, relacionado con el crecimiento celular y la estimulación de la expresión de genes que codifican distintas moléculas proinflamatorias relacionadas con estadios tempranos de aterosclerosis). Los AGEs extracelulares pueden también inducir de forma directa disfunción de las proteína del espacio intercelular. Los AGEs formados en el interior de la célula provocan daño a través de tres mecanismos (Lizcano, 2005; Peiró, 2003):

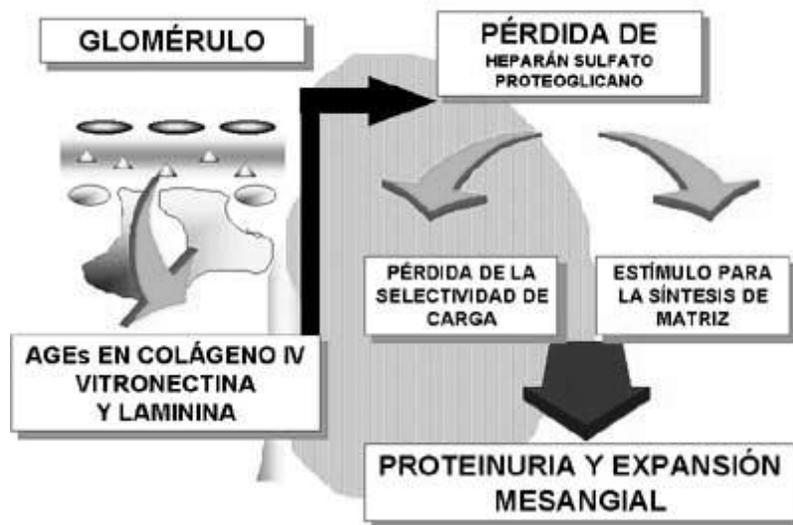
1. Las proteínas modificadas por los AGEs tiene una función claramente alterada.
2. Los precursores de los AGEs (glioxal, 3-deoxiglucosona y metilglioxal) al interactuar con las proteínas de la matriz extracelular inducen cambios en los patrones de unión ente estas y sus receptores, que en el caso del colágeno tipo I disminuyen la elasticidad de las arterias y favorecen la filtración de otras proteínas a través de su pared.
3. Los AGEs intracelulares tienen la posibilidad de activar el factor de transcripción $\text{NF}\kappa\text{B}$ y producir expresión patológica de genes.

La glicosilación no enzimática es estimulada por el oxígeno y por catalizadores de reacciones de oxidación, tales como metales de transición (hierro y cobre). Todo ello confirma una estrecha relación entre la glicosilación no enzimática de proteínas y el estrés oxidativo, así como la posibilidad de que conjuntamente expliquen algunos aspectos de la patogenia de la vasculopatía diabética (Vlassara, 1997).

La generación de AGEs, ocurre fundamentalmente en proteínas de vida media prolongada, formando puentes intercatenarios entre las proteínas, que alteran sus funciones biológicas. Algunos ejemplos de estas alteraciones están: como el colágeno, la elastina, la mioglobina; también puede detectarse en proteínas de la sangre como la hemoglobina, la albúmina, las

inmunoglobulinas y en otros compuestos aminados como la fosfatidiletanolamina, que es un lípido presente en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), proteínas del cristalino, y en la membrana basal del glomérulo en el que los puentes intercatenarios modifican su flexibilidad, carga eléctrica y permeabilidad capilar, causan daño renal en pacientes diabético, lo que se manifiesta clínicamente por proteinuria (esquema 8) (Ayra y Díaz, 1999).

Los AGEs no sólo se acumulan en tejidos, sino que también sus concentraciones plasmáticas son mayores en pacientes con IRC. Los AGEs podrían causar su efecto por varios mecanismos distintos como la producción de alteraciones estructurales en proteínas de la matriz extracelular o la interacción con un receptor específico (RAGE), localizado en células musculares lisas, hígado, endotelio, macrófagos, monocitos y mesangio, induciendo la liberación de factores procoagulantes. Se ha descrito que los AGEs aumentan el estrés oxidativo, inactivan el NO[•] endotelial e interfieren con las respuestas dilatadoras dependientes de endotelio (Vlassara, 1997; Ayra y Díaz, 1999).



Esquema 8. Productos de glicosilación avanzada en la nefropatía (Rossi, 2007).

Los AGEs se acumulan en el plasma de los sujetos con insuficiencia renal; la hemodiálisis es la modalidad que resulta menos eficaz para eliminar los AGEs circulantes en plasma ya

que después del tratamiento las concentraciones en el plasma de los pacientes son significativamente mayores (el doble) respecto a los pacientes tratados con diálisis peritoneal (Agalou et al, 2003).

16. CARBONILOS

Los grupos carbonilo (C=O) se originan por la acción de las ERO sobre las proteínas, convirtiendo algunos grupos hidroxilo de aminoácidos (leucina, valina, lisina, arginina, prolina, treonina e isoleucina) en derivados carbonilo. Además, los grupos carbonilo también se producen por reacciones de rompimiento de enlaces peptídicos, y por la interacción de los residuos de aminoácidos con productos de lipoperoxidación como el 4-hidroxinonenal o el MDA.

La presencia de grupos carbonilos se considera una evidencia indirecta de que las proteínas estuvieron expuestas a radicales libres. La reactividad de los grupos carbonilos, promueve el entrecruzamiento proteico, y por ende, la pérdida de función de las proteínas implicadas en estas reacciones. Esto se da en la fracción mitocondrial (Vásquez y Tuena, 2002).

El daño en las proteínas es generado principalmente por el $\cdot\text{OH}$. Puede provocar la oxidación de los grupos sulfhidrilo, reducción de los puentes disulfuro, oxidación de los aminoácidos (en particular los residuos de arginina, prolina o lisina, los cuales forman carbonilos) cercanos al sitio de unión del metal a través de la oxidación catalizada por un metal, reaccionar con aldehídos, modificar los grupos prostéticos o grupos metales, interacción proteína-proteína y fragmentación de péptidos.

Todos los aminoácidos pueden servir como blancos del ataque oxidativo de las ERO, aunque algunos aminoácidos son más susceptibles como la metionina, el triptófano, la fenilalanina, la tirosina, la cisteína y la histidina (Davies y Lin, 1987).

La modificación de las cadenas laterales de estos, puede conducir a la alteración directa de la estructura y la función de las proteínas (Silvestre et al, 1998; Ortega-Camarillo) a la fragmentación química o al incremento en la susceptibilidad a proteolisis (Stadyman, 1986).

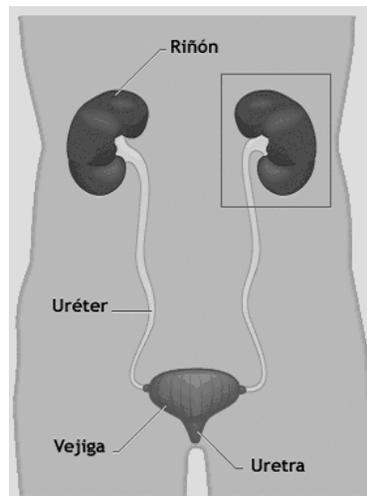
Uno de los radicales más reactivos a la estructura de proteínas es el óxido nítrico (NO). Además, se ha sugerido que las proteínas pueden actuar como “atrapadoras” de la energía

química liberada por los radicales libres, y transferirla a otra molécula (Velásquez et al, 2004).

Las proteínas pueden ser atacadas incluso a nivel de estructura primaria. Muchos estudios han dado lugar a la conclusión de que el peróxido de hidrógeno y las formas reducidas del hierro y el cobre, generados por oxidasas de función mixta, interaccionan en los sitios de unión de estos metales a las proteínas, produciendo RL que oxidan inmediatamente a los residuos de aminoácidos vecinos. Este proceso se considera específico del sitio de unión del metal. Como consecuencia se forman grupos carbonilo o se producen conversiones de unos aminoácidos en otros (García, 2008).

17. SISTEMA URINARIO

El sistema urinario consta de dos riñones, dos uréteres, una vejiga urinaria y una uretra. (Esquema 9). Sin embargo los riñones realizan el trabajo más importante en el sistema urinario, puesto que las otras partes son prácticamente vías de paso y áreas de almacenamiento.



Esquema 9. Componentes del sistema urinario. (Microsoft Encarta, 2009).

Al filtrar la sangre y formar la orina, los riñones contribuyen a la homeostasis de varias maneras. Las funciones renales incluyen (Tortora y Reynolds, 2002):

- ✓ Regulación de la composición iónica de la sangre. Los riñones ayudan a regular la concentración de distintos iones en la sangre, principalmente los iones sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}), cloruro (Cl^-) y fosfato (PO_4^{2-}).
- ✓ Mantenimiento de la osmolaridad de la sangre. Regulando por separado la pérdida de agua y la de solutos en la orina.
- ✓ Regulación del pH sanguíneo. Los riñones excretan una cantidad variable de H^+ en la orina y retienen iones bicarbonato (HCO_3^-), un importante amortiguador de H^+ . Éstas son dos actividades que contribuyen a regular el pH sanguíneo.
- ✓ Liberación de hormonas. Los riñones liberan dos hormonas: calcitriol, la forma activa de la vitamina D, que ayuda a regular la homeostasis de calcio y la eritropoyetina, que estimula la producción de eritrocitos.
- ✓ Regulación de la concentración de glucosa en sangre. Los riñones pueden desaminar el aminoácido glutamina, emplearlo para la glucogénesis (síntesis de nuevas moléculas de glucosa) y liberar glucosa en la sangre.
- ✓ Excreción de deshechos y sustancias extrañas. Mediante la formación de orina los riñones ayudan a eliminar deshechos, sustancias sin función útil alguna en el cuerpo. Parte de los deshechos excretados en la orina son resultado de reacciones metabólicas en el cuerpo, por ejemplo amoníaco y urea de la desaminación de aminoácidos; bilirrubina del catabolismo de la hemoglobina; creatinina del desdoblamiento de fosfato de creatina en las fibras musculares; y ácido úrico del catabolismo de ácidos nucleicos. Otros deshechos excretados en la orina son sustancias extrañas como fármacos o toxinas del medio ambiente.

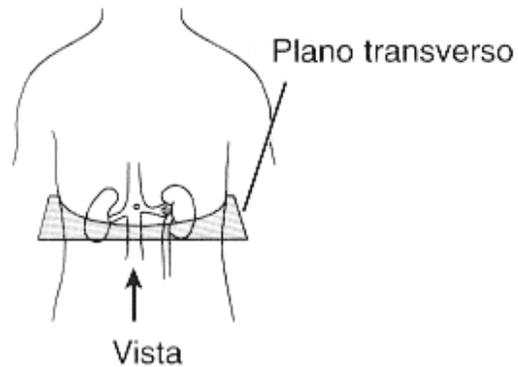
Los riñones son órganos pares rojizos, en forma de frijol, localizados justo arriba de la cintura entre el peritoneo y la pared posterior del abdomen. Debido a su posición por detrás del peritoneo en la cavidad abdominal se dice que son órganos retroperitoneales (Esquema 10 y 11).

Los riñones se localizan entre la última vértebra torácica y la tercera vértebra lumbar, posición en la cual están protegidos en parte por los pares de costillas undécimo y

duodécimo. El riñón derecho está un poco más abajo que el izquierdo debido a que el hígado ocupa un espacio considerable arriba del riñón derecho (Esquema 11).



Esquema 10. Riñones en la cavidad abdominal (Magaz, 2003).



Esquema 11. Vista de los riñones en plano transverso (Tortora y Reynolds, 2002).

17.1 ANATOMÍA EXTERNA DEL RIÑÓN

En el adulto un riñón normal mide de 10 a 12 cm de largo, de 5 a 7 cm de ancho y 3 cm de espesor; es casi del tamaño de una barra de jabón de baño, y tiene una masa de 135 a 150 g. El borde medial cóncavo de cada riñón está enfrente de la columna vertebral.

Cerca del centro del borde cóncavo se encuentra una fisura vertical profunda llamada hilio renal a través del cual sale el uréter del riñón, así como los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios.

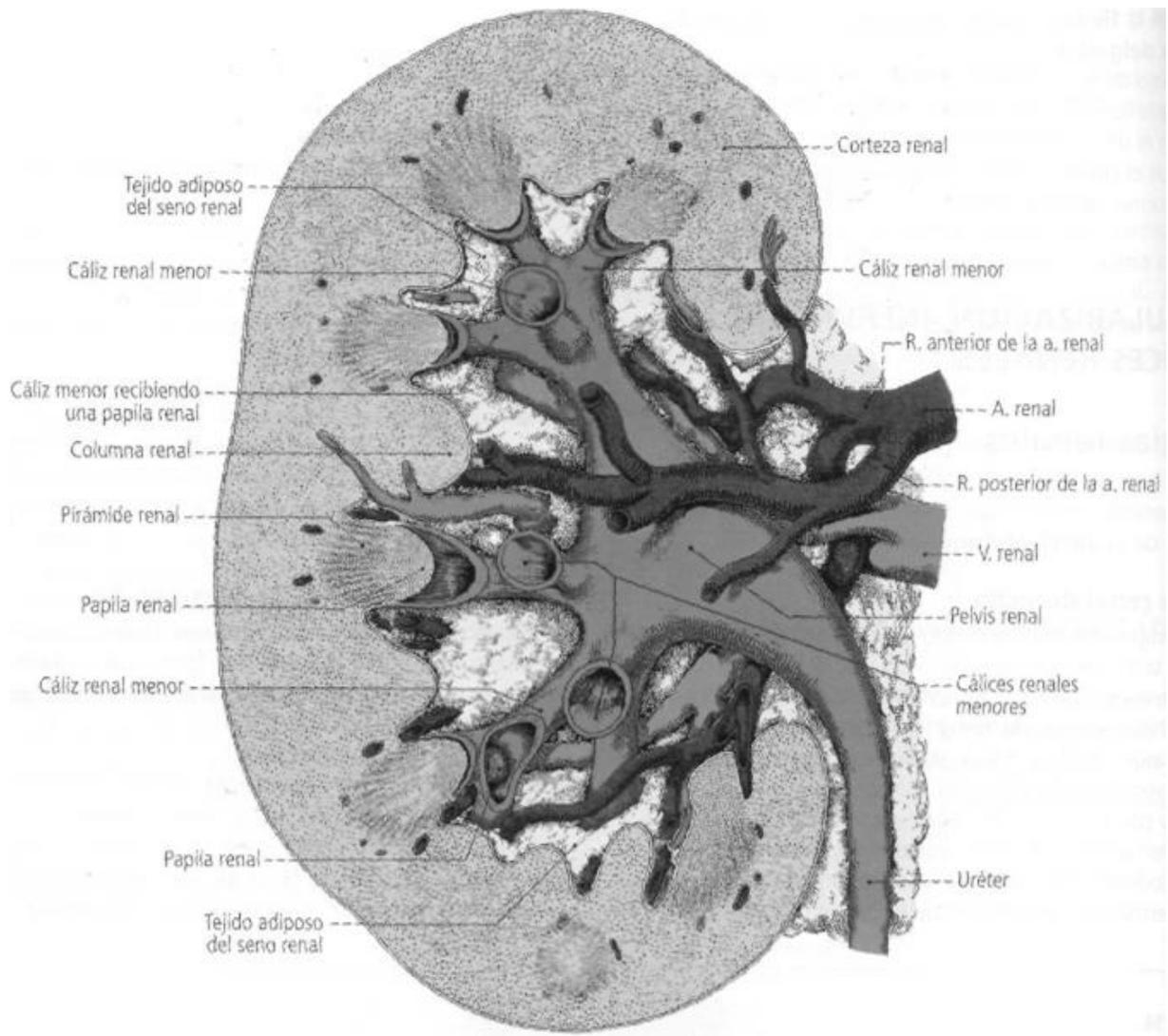
Cada riñón está rodeado por tres capas de tejido. La capa profunda, la cápsula renal es una membrana lisa, transparente y fibrosa que es continuación de la cubierta externa del uréter. Sirve como barrera contra traumatismos y ayuda a mantener la forma del riñón. La capa intermedia, la cápsula adiposa, es una masa de tejido graso que rodea a la cápsula renal.

También protege al riñón de traumatismos y lo sostiene firmemente en su sitio en la cavidad abdominal. La capa superficial, la aponeurosis renal, es una delgada capa de tejido conectivo denso e irregular que fija el riñón a las estructuras circundantes ya la pared abdominal.

17.2 ANATOMÍA INTERNA DEL RIÑÓN

Un corte frontal a través del riñón revela dos regiones distintas: un área superficial de color rojizo y textura lisa llamada corteza renal y una región profunda de color marrón llamada médula renal. La médula consta de ocho a 18 pirámides renales cónicas. La base de cada pirámide (extremo más ancho) está frente a la corteza renal y su ápex, llamado papila renal (extremo más estrecho), apunta hacia el centro del riñón. Las porciones de la corteza renal que se extienden entre las pirámides renales se denominan columnas renales.

En conjunto, corteza renal y pirámides de la médula renal constituyen la porción funcional o parénquima del riñón. En este último se encuentran las unidades funcionales del riñón (cerca de 1 millón de estructuras microscópicas llamadas nefronas). La orina que éstas forman drena al interior de gruesos conductos papilares que se extienden a través de la papila renal de las pirámides. Los conductos papilares desembocan en estructuras en forma de copa llamadas cálices menores y mayores. Cada riñón tiene ocho a 18 cálices menores y dos a tres mayores. Los primeros reciben la orina de los conductos papilares de una papila renal y la llevan a un cáliz mayor. De los segundos, la orina pasa a una cavidad grande llamada pelvis renal y luego sale a través del uréter hacia la vejiga urinaria.



Esquema 12. Anatomía interna de los riñones. (Latarjet y Ruiz, 2005).

El hilio se amplía formando una cavidad dentro del riñón llamada seno renal, que contiene parte de la pelvis renal, los cálices y las ramas vasculares sanguíneas y nerviosas del riñón. El tejido adiposo ayuda a estabilizar la posición de estas estructuras en el seno renal.

17.3 RIEGO SANGUÍNEO E INERVACIÓN DE LOS RIÑONES

Puesto que los riñones eliminan desechos de la sangre y regulan su volumen y composición iónica, no es sorprendente que posean un riego sanguíneo abundante suministrado por gran número de vasos. Aunque los riñones constituyen menos de 0.5% de la masa corporal total, reciben entre 20 y 25% del gasto cardíaco en reposo a través de las arterias renales derecha e izquierda. En adultos, el flujo sanguíneo renal es de 1 200 mL por minuto aproximadamente.

Dentro del riñón la arteria renal se divide en varias arterias segmentarias, cada una de las cuales emite varias ramas que entran al parénquima y pasan a través de las columnas renales en medio de las pirámides donde se conocen como arterias interlobulares. En la base de las pirámides renales, las arterias interlobulares se arquean al pasar entre la médula y la corteza renales; aquí se conocen como arterias arciformes. Las divisiones de estas últimas producen series de arterias interlobulillares, que penetran a la corteza renal y emiten ramas llamadas arteriolas aferentes.

Cada nefrona recibe una arteriola aferente, que se convierte en una enmarañada red esférica de capilares llamada glomérulo. Los capilares glomerulares se reúnen para formar las arteriolas eferentes que drenan la sangre hacia fuera del glomérulo. Los capilares glomerulares son únicos ya que se encuentran entre dos arteriolas, en lugar de una arteriola y una vénula (Tortora y Reynolds, 2002).

17.4 LA NEFRONA

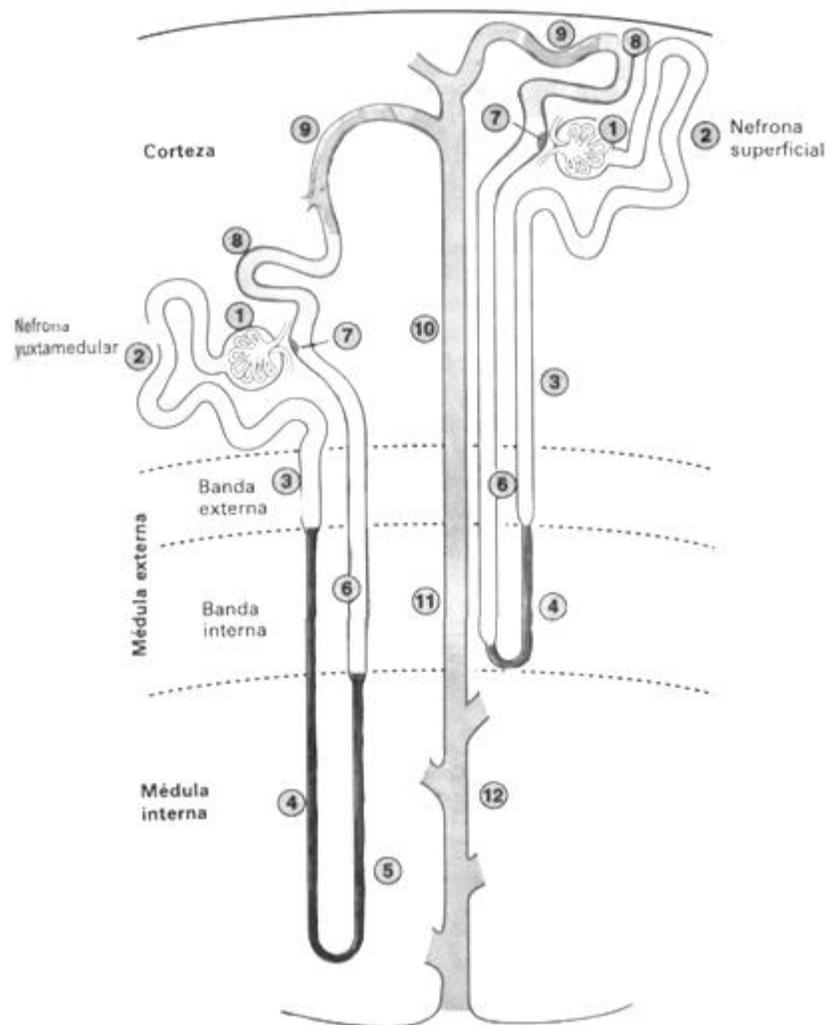
Las nefronas constituyen la unidad funcional del riñón, se encargan de tres procesos básicos: filtrar la sangre, retornar a la sangre las sustancias útiles para que no se pierdan del cuerpo y retirar de la sangre sustancias que no son necesarias para el cuerpo. Como resultado de estos procesos, las nefronas mantienen la homeostasis de la sangre y producen orina.

17.5 PARTES DE LA NEFRONA

Cada nefrona está formada por dos partes: el corpúsculo renal, donde se filtra el plasma, y

el túbulo renal, al cual pasa el líquido filtrado. Cada corpúsculo posee dos elementos: el glomérulo y la cápsula (de Bowman) glomerular, una bicapa epitelial en forma de copa que rodea al glomérulo. De la cápsula glomerular, el líquido filtrado del plasma pasa al interior del túbulo renal, el cual posee tres secciones principales.

1. Capilares glomerulares y espacio de Bowman
2. Túbulo contorneado proximal
3. Túbulo recto proximal
4. Rama descendente delgada
5. Rama ascendente delgada
6. Rama ascendente gruesa
7. Mácula densa
8. Túbulo contorneado distal
9. Túbulo conector
10. Conducto colector cortical
11. Conducto colector medular externo
12. Conducto colector medular interno



Esquema 13. Partes de la nefrona (Constanzo S, 1998).

Siguiendo la dirección del líquido que pasa por el túbulo renal se pueden distinguir tres partes en éste: 1) túbulo contorneado proximal, 2) asa de Henle (asa de la nefrona) y 3) túbulo contorneado distal (Esquema 13). El término proximal se refiere a la porción del túbulo unida a la cápsula glomerular y distal, a la más alejada de ésta. El vocablo contorneado significa que el túbulo está enroscado en espiral, o sea, no es recto. El corpúsculo renal y ambos túbulos se encuentran en la corteza renal, en tanto que el asa de Henle se extiende hacia la médula renal, efectúa una vuelta de horquilla y regresa a la corteza renal.

Los túbulos contorneados distales de varias nefronas desembocan en un solo conducto colector. Los conductos colectores convergen y se unen y, por último, sólo hay varios cientos de gruesos conductos papilares, que drenan en los cálices menores. Dichos conductos se prolongan desde la corteza, atraviesan la médula y llegan a la pelvis renal. Aunque el riñón tiene cerca de un millón de nefronas, el número de conductos colectores es mucho menor y hay aún menos conductos papilares.

En una nefrona, el asa de Henle conecta el túbulo contorneado proximal y el distal. La primera porción del asa de Henle se hunde en la médula renal, lo que se denomina rama (Tortora y Reynolds, 2002).

Con el envejecimiento, los riñones reducen su tamaño, tienen menor flujo sanguíneo y filtran menos sangre. De igual manera, el flujo sanguíneo renal y la filtración disminuyen un 50% entre las edades de 40 a 70 años. Las enfermedades renales que son más comunes con la edad incluyen inflamación renal aguda y crónica, así como cálculos. Puesto que la sensación de sed baja con la edad, los individuos de edad avanzada son susceptibles a la deshidratación. Las infecciones en vías urinarias son más comunes entre los ancianos, igual que la poliuria (producción excesiva de orina), nocturia (micción excesiva por la noche), aumento en la frecuencia de la micción, disuria (dolor al orinar), retención o incontinencia urinarias y hematuria (sangre en la orina). El cáncer de próstata es la enfermedad maligna más común en ancianos (Tortora y Reynolds, 2002).

18. INSUFICIENCIA RENAL (IR)

Es la reducción o interrupción de la filtración glomerular.

18.1 INSUFICIENCIA RENAL AGUDA (IRA)

Los riñones cesan de manera abrupta su función por completo (o casi por completo). La principal característica de IRA es que el flujo de orina se suprime, lo que en general se nota por oliguria, que es una excreción urinaria diaria menor de 250 mL, o por anuria, excreción urinaria diaria menor de 50 mL. Las causas son menor volumen de sangre (por ejemplo, a causa de hemorragia), disminución del gasto cardiaco, daño a los túbulos renales, cálculos renales, colorantes empleados para visualizar vasos sanguíneos en la angiografía, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y algunos antibióticos. La insuficiencia renal ocasiona edema debido a la retención de sal y agua; acidosis por la incapacidad de los riñones para excretar sustancias ácidas; incremento en la concentración de urea debido a la excreción renal deficiente de productos metabólicos de desecho; concentración elevada de potasio que puede conducir a paro cardiaco; anemia, puesto que los riñones ya no producen suficiente eritropoyetina para la producción adecuada de eritrocitos; y osteomalacia, debido a que los riñones han perdido su capacidad de convertir la vitamina D en calcitriol, necesario para la absorción adecuada de calcio del intestino delgado (Tortora y Reynolds, 2002).

18.2 INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (IRC)

La insuficiencia Renal Crónica (IRC) es uno de los síndromes más importantes en el campo de la nefrología, se caracteriza por la pérdida gradual y progresiva de la capacidad renal para excretar desechos nitrogenados, de concentrar y acidificar la orina y de mantener la homeostasis del medio interno, causada por una lesión estructural irreversible de los riñones, la que se encuentra durante un periodo largo de tiempo, generalmente meses o años. Se considera que cualquier enfermedad renal independientemente de la etiología inmunitaria, vascular, quística, metabólica o mixta; una vez establecida no es curable y por lo tanto no recuperable (Narro y Rivero, 2008).

De acuerdo con la US NKF (Fundación Nacional del Riñón de los Estados Unidos de Norteamérica) y las K-DOQI (Iniciativa de resultados de calidad en la enfermedad renal), se caracteriza por la disminución del filtrado glomerular menor de 15 mL/min/m² de superficie corporal (Vahas y Bello, 2005).

Las causas capaces de producir este síndrome son múltiples y variadas, entre otras las distintas formas de glomerulonefritis, enfermedades metabólicas, sistémicas renales vasculares, nefrotóxicas, congénitas y uropatías obstructivas (Peña, 2002; K/DOQI, 2002; Hsu y Chertow, 2000).

En los últimos cinco decenios del siglo XX, la IRC ha hecho que en el mundo existan más de 1 500 000 pacientes en cualquier tipo de diálisis, y otra quinta parte vivan con un trasplante renal funcionando, pero millones de seres humanos han fallecido con diagnóstico de IR y otros, ni siquiera han llegado a ser diagnosticados.

18.3 CUADRO CLÍNICO DE LA IRC

El cuadro clínico se halla caracterizado por etapas del desarrollo de la IRC sobre sus componentes: filtración glomerular media (mL/min) y la creatinina sérica determinada en mg/mL (Narro y Rivero, 2008).

Cuadro 8. Etapas del desarrollo de la IRC (Narro y Rivero, 2008).

Etapas del desarrollo de la IRC	FG mL/min	Creatinina sérica mg/mL
Reducción en función renal	120 a 90	0.5 a 1.5
Función renal deteriorada	90 a 60	0.5 a 1.5
Insuficiencia mínima	60 a 30	1.5 a 3.5
Insuficiencia moderada	29 a 10	4.0 a 7.5
Insuficiencia severa	> 10	8.0 a 10.0
Insuficiencia avanzada	> 5	10 o más

La aparición y magnitud de las manifestaciones clínicas de la IRC varían mucho de un paciente a otro, según la cantidad de masa renal funcional.

Así, según la filtración glomerular que persista, aparecerán distintas alteraciones clínicas. En estadios tempranos de la insuficiencia renal con FG disminuida al 35 a 50 %, la función renal global es suficiente para mantener al paciente asintomático debido a la adaptación de

las nefronas que quedan. En este estadio de disminución de la función renal, por lo general, se mantienen bien la función excretora basal, la de biosíntesis y otras funciones reguladoras del riñón, por lo que el diagnóstico de IRC en dicha fase de evolución es casual. Debido a una determinación rutinaria de urea y creatinina o al estudiar otra enfermedad intercurrente como diabetes, hipertensión arterial, aterosclerosis, etc.

Al progresar la IRC, con reducción del filtrado glomerular al 20 a 35 % de los valores normales (97-137 mL/min/1,73 m² para los varones, y 88 -128 mL/min/1,73 m² para las mujeres), se produce un aumento de la urea en sangre y casi siempre aparece manifestaciones iniciales, siendo los trastornos más frecuentes la hipertensión arterial y la anemia, otras alteraciones incluyen: intolerancia a carbohidratos, hiperuricemia, hipertrigliceridemia y disminución de la capacidad de concentrar la orina, que conduce a la presencia de poliuria y nicturia.

No obstante que en esta fase los pacientes se hallan relativamente asintomáticos, cualquier proceso como: infección, obstrucción urinaria, deshidratación o administración de fármacos nefrotóxicos, pueden deteriorar aún más la función renal y aparecer sintomatología de insuficiencia renal avanzada, a veces al corregir el proceso causal del deterioro, se consigue recuperar la función renal y mejorar la sintomatología clínica.

Al proseguir la pérdida de nefronas, con una FG menor del 20 al 25 % de los valores normales, el paciente presenta insuficiencia renal franca manifestada como: aumento del grado de anemia, mayor severidad de la hipertensión arterial, aparición de acidosis metabólica, sobrecarga de volumen y trastornos en los aparatos digestivo, circulatorio y en el sistema nervioso; en este estadio se conserva la capacidad para excretar potasio. El estado final en este proceso progresivo constituye el síndrome urémico, en el que se presentan muchas de las manifestaciones clínicas de la insuficiencia renal terminal (Narro y Rivero, 2008).

18.4 SINTOMATOLOGÍA DE LA IRC

Síntomas iniciales: habitualmente son inespecíficos: pérdida de peso; náuseas y vómitos; malestar general, astenia y fatiga, debilidad, cefalea, accesos frecuentes de hipo, prurito generalizado progresivo, insomnio y dolor óseo.

Síntomas tardíos: disminución del volumen de la orina, nicturia, predisposición a las hemorragias, fragilidad capilar, hematemesis o melenas en pequeña cantidad, disminución del nivel de alerta en vigilia, somnolencia y aletargamiento, indiferencia, confusión o delirio, calambres o mioclonias, convulsiones, aumento de la pigmentación cutánea (tinte ocre característico), hiperestesia distal en manos y pies o en otras áreas, coma y muerte.

Otros síntomas que pueden o no estar presentes: poliuria nocturna, sed excesiva, palidez, alteraciones ungueales, alteraciones en el crecimiento (niños), halitosis (aliento urémico), hipertensión arterial de difícil control, anorexia y agitación (Narro y Rivero, 2008).

18.5 DIAGNÓSTICO DE LA IRC

Para confirmar el diagnóstico de IRC, se utiliza la determinación del FG a través de la depuración de creatinina endógena en orina de 24 horas.

En la IRC los riñones tienen un tamaño inferior al normal y depende del grado de deterioro de la función renal; sin embargo, los riñones pueden ser de tamaño normal o aumentado en algunas enfermedades renales como: la neuropatía diabética, amiloidosis, mieloma múltiple, poliquistosis renal e hidronefrosis. La radiología seriada ósea es útil para valorar la repercusión y evolución de la osteodistrofia renal, en el seguimiento de la osteodistrofia renal la densitometría ósea no es superior a otras técnicas radiológicas.

Si el tamaño de los riñones lo permite y con previas pruebas de coagulación dentro de límites aceptables deberá realizarse biopsia renal y estudio del tejido renal. La biopsia de riñón es útil para establecer el diagnóstico, el grado de daño histológico, el pronóstico y como guía de tratamiento y evolución de las enfermedades renales (Narro y Rivero, 2008).

18.6 TRATAMIENTO

Hasta ahora no hay ningún medicamento que pueda detener a la enfermedad renal crónica.

Por lo referente a la terapéutica gira en dos polos:

- 1) evitarla
- 2) sustitución mediante diálisis y trasplante.

Restricción proteínica: hay fuertes y sostenidas evidencias que al reducir la dieta a 0.6 o 0.5 gramos de proteínas por kg de peso corporal, se puede disminuir la pendiente de la caída de la FG a 0.5, si la alimentación es isocalórica el paciente no se desnutre.

18.7 OTROS MEDICAMENTOS

Hipoglucemiantes orales, antibióticos, antivirales, ansiolíticos, analgésicos y antidepresivos se pueden emplear para tratar enfermedades concomitantes o agregadas de pacientes con IRC, tener cuidado de la polifarmacia y de los efectos indeseables.

Cuadro 9. Medicamentos empleados en el tratamiento de la enfermedad renal (Narro y Rivero, 2008).

Antihipertensivos	Administración de cualquier tipo de antihipertensivo que mantenga al paciente en valores normales de presión arterial de acuerdo a la edad.
Diuréticos	De manera especial la furosemida, en dosis de 20 a 200 mg/24 h para ayudar a mantener volumen urinario por arriba de 1000 mL en 24 horas.
Quelantes intestinales del fósforo	Principalmente a base de sales de calcio (carbonato o acetato), el tipo sevalamer, recién está disponible en México a un costo alto. Otras sustancias son el aluminio y los aluminatos.
Vitaminas D3 activa	Para evitar daño de la activación excesiva de parathormona y reemplazar el déficit de calcitriol.
Eritropoyetina humana recombinante	Para corrección de la anemia secundaria producida por déficit de Eritropoyetina, de preferencia iniciar en fases intermedias o avanzada.
Alopurinol	Para evitar la hiperuricemia primaria o secundaria.
Hierro	De preferencia parenteral, para restaurar el déficit de hierro; o bien, vía oral en conjunto con ácido fólico para sostener niveles adecuados de hemoglobina.
A cetanoálogos o cetoácidos	Por su proceso de desaminación o transaminación “secuestran” el nitrógeno de urea, corrigiendo los niveles bajos de albúmina y corrigen la hipocalcemia.
Polivitaminas	Principalmente hidrosolubles y complejo B por vía oral.

18.8 TRATAMIENTOS SUSTITUTIVOS DE LA FUNCIÓN RENAL

Las alternativas del tratamiento sustitutivo para los pacientes con IRC son: la diálisis peritoneal, en sus diferentes modalidades: diálisis peritoneal continua ambulatoria, diálisis peritoneal automatizada y la principal diferencia entre éstas radica en el mecanismo mediante el cual se introduce la solución al abdomen (Choi, 2003), la hemodiálisis y el trasplante renal.

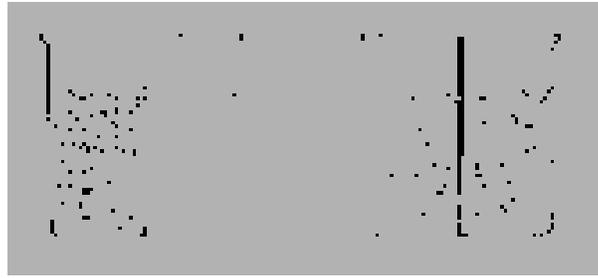
Ningun Tratamiento sustitutivo de la función renal consigue reemplazar las funciones endocrinas y metabólicas del riñón, pero sí las de regulación del equilibrio hidroelectrolítico del organismo, lo cual es suficiente para que una persona con IRC pueda vivir. Por el contrario, mediante el trasplante renal se consigue restablecer en el organismo todas las funciones del riñón.

Los pacientes en tratamientos sustitutos de la función renal tienen mayor morbi-mortalidad y fallecen principalmente por problemas cardiovasculares e infecciones. Los pacientes en diálisis requieren de cambios en la alimentación más libre y variada pero rica en proteínas y modificación esquema medicamentoso.

Todos estos tratamientos deben aplicarse cuando la función renal se ha perdido en un 90 %, ya que la dieta y medicamentos son insuficientes para mantener con vida a los pacientes con IRC y llegarían al llamado coma urémico y muerte en unas cuantas semanas. Los pacientes que tienen una FG menor a 10 mL/min, requiere diálisis, a menos que no tengan sintomatología.

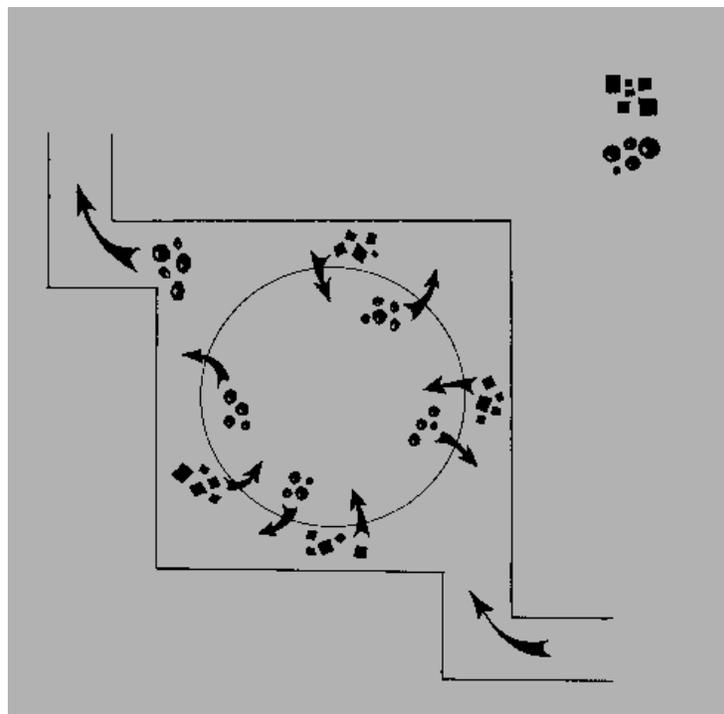
La diálisis es el proceso por el cual se produce un movimiento de solutos en una determinada dirección y concentración, a través de una membrana formada por un tejido semi permeable, humano, en el caso de la DPCA, o artificial, en la HD (Sanz Guajardo y Botella García, 1990).

La difusión consiste en un movimiento de partículas de una solución a otra a través de una membrana semi-permeable. Cuando la concentración de partículas es menor en una de las soluciones se produce el paso desde la solución con un mayor número de partículas a la que tiene una menor concentración. Cuando ambas soluciones se equilibran el intercambio continúa, pasando el mismo número de partículas de una a la otra (Esquema 14).



Esquema 14. Difusión

La ósmosis es un proceso que ocurre, siempre de manera simultánea a la difusión, cuando hay dos soluciones con diferente volumen. En este caso si ambas soluciones se separan por una membrana, el disolvente pasará de la solución con mayor volumen a la de menor (Esquema 15).



Esquema 15. Ósmosis

La ultrafiltración consiste en una transferencia simultánea de disolvente y solutos. Si la solución que está a un lado de la membrana tiene una presión menor que la solución que está al otro lado, los líquidos de la zona donde hay mayor presión pasarán al lado de menor

presión. En el caso de la diálisis, el líquido que se halla un lado de la membrana es la sangre y al otro el líquido de diálisis. En la sangre el disolvente es el agua y los solutos son: el sodio, el potasio, el cloro, la urea, la creatinina, etc. Durante la diálisis las moléculas de sustancias perjudiciales para el organismo pasan de la sangre al líquido de diálisis, proceso que provoca una menor presión en el lado de este último, lo cual permite que el agua sobrante en el organismo pase de la sangre al líquido de diálisis.

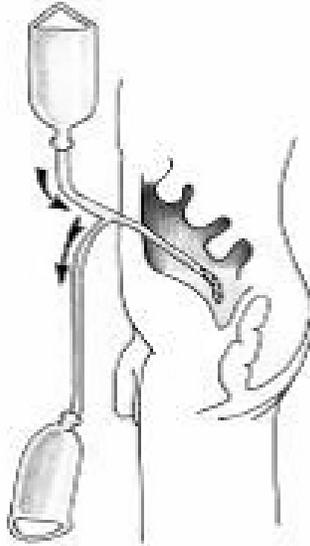
Los dos tratamientos que se utilizan para depurar la sangre de las personas con IRC y eliminar el agua sobrante se basan en los principios anteriormente mencionados, y se denominan hemodiálisis y diálisis peritoneal.

18.8.1 DIÁLISIS PERITONEAL CONTINUA AMBULATORIA (DPCA)

La diálisis peritoneal se fundamenta en el uso del peritoneo como una membrana endógena de diálisis para remover toxinas urémicas y líquido, utilizando su extensa superficie (1-2 m en adultos) y su abundante capilarización y circulación sanguínea. Al introducir en la cavidad peritoneal una solución dializante que contiene glucosa como agente osmótico activo, se genera el gradiente de concentración que favorece el transporte de agua del espacio intravascular hacia la cavidad peritoneal. Moléculas como la urea, creatinina, potasio y ácidos orgánicos se muevan a favor de su gradiente hacia la cavidad peritoneal y por lo tanto serán extraídos del enfermo al drenar el líquido de diálisis fuera de la cavidad (difusión). El movimiento de líquido desde los capilares a la cavidad peritoneal dependerá de la osmolaridad de la solución de diálisis infundida (ultrafiltración) y la tasa de reabsorción a través de los linfáticos peritoneales.

La DPCA consiste en infundir de 40 a 60 litros por semana de solución dializante al peritoneo de los pacientes a través de un catéter de silastic, generalmente llamado de Tenckhoff.

La diálisis va a corregir de manera transitoria la elevación de urea, creatinina, ácido úrico y fósforo y potasio, remueve líquidos, corrige la acidosis metabólica, facilita el control de la hipertensión arterial y de sus complicaciones, facilita la corrección de la anemia y puede mejorar el estado nutricional (Narro y Rivero, 2008).



Esquema 16. Proceso de intercambio de líquidos en la DPCA.

En la DPCA el principal cometido es que el paciente se la practique por el mismo, mediante técnicas estrictas de asepsia y antisepsia e introduzca en el abdomen 2 litros c/6 horas, 7 días a la semana, todas las semanas del año (la infusión de los litros de solución de diálisis siguiente, son cuando el enfermo se extrajo los 2 litros previos). La DPCA se empleó por primera vez en la práctica clínica en 1975 (Gonsalves-Ebrahim et al, 1982).

En México debido a esfuerzos de equipos de médicos del IMSS que inició en 1978. Los mejores resultados en rehabilitación, calidad de vida y sobrevida, se obtiene con este método terapéutico.

18.8.2 DIÁLISIS PERITONEAL AUTOMATIZADA (DPA) Ó MECÁNICA

En esta modalidad se utilizan equipos biomédicos para regular la entrada, estancia, salida y balance de líquidos de los pacientes, pero el proceso es el mismo y excepto que disminuye el riesgo de peritonitis, no ofrece otras ventajas.

DP intermitente: realizada con intervalos de tiempo, según el estado del paciente, se aplican de 40 a 60 L/sem, siempre pasar de 2 en 2 litros y se deja en la cavidad peritoneal de 30 a

60 min. La solución de DP puede llevar heparina, antibiótico, potasio, otras sustancias alcalinas, nutrientes, etc.

18.8.3 HEMODIÁLISIS

La HD se efectúa desde 1943, y requiere una vía de acceso vascular temporal (subclavia o yugular) o definitivamente intrínseca (fístula arteriovenosa de Brescia-Cimino y hay variantes; o bien la aplicación de injertos heterólogos), por medio de la fístula sale y retorna la sangre al organismo a una velocidad de 200 a 500 mL/min (Esquema 17). La sangre esta anticoagulada y pasa por una serie de líneas que la lleva a un filtro de superficie variables de membranas sintéticas como el cuprofan u otros plásticos modificados, para evitar reacciones de histocompatibilidad, a través de estos capilares del filtro la sangre se pone en contacto indirecto con las soluciones de diálisis que han sido preparadas con agua ultrapura, así como minerales y sustancias buffer en sesiones de 3 a 4 h, calculadas mediante la formula del KT/V .

La HD se tiene que practicar un mínimo de 12 a 15 h en tres sesiones o más por semana, en la actualidad hay tratamientos modificados como la HD corta diaria o nocturna y la hemodia-filtración. Con la HD al igual que con los otros tipos de diálisis no se logra corrección total de los niveles de urea y otras sustancias tóxicas, pero sin un estado de equilibrio metabólico e hidroelectrolítico; con disminución de la sintomatología, menor riesgo y mejor calidad de vida. Para todos los tratamientos de diálisis se requiere de un equipo multidisciplinario de técnicos, enfermeras, dietistas o nutriólogos, aunado a psicólogo y psiquiatra y cirujano vascular, todo ello comandado por el nefrólogo certificado. Aun así puede haber otras complicaciones como: osteodistrofia renal, neuropatía periférica, amiloidosis, estados carenciales, depresión, muerte súbita e incluso suicidio.



Esquema 17. Fístula y cateter.

Los componentes necesarios para realizar la hemodiálisis son:

- ✓ Dializador: es un cilindro donde se produce el intercambio de sustancias entre la sangre y el líquido de diálisis. Está formado por dos compartimentos separados por una membrana semi-permeable. En uno de estos compartimentos está el líquido de diálisis y en otro la sangre.
- ✓ Líneas de diálisis: Son unos tubos de plástico, de un centímetro de diámetro aproximadamente, que llevan la sangre del organismo al dializador y viceversa, constituyendo un circuito continuo de flujo sanguíneo que sale y entra al cuerpo.
- ✓ Máquina de diálisis: es un aparato en el que se soportan los elementos descritos anteriormente, una computadora y un monitor que refleja diversos parámetros del organismo.

18.9 TRASPLANTE RENAL (TR) Y TERAPÉUTICAS A FUTURO

El primer trasplante renal en humanos fue practicado en 1933 por el Dr. Voronoy. Esta experiencia resultó un fracaso total, ya que no se conocían las posibles incompatibilidades y se trasplantó un riñón del grupo sanguíneo B a una paciente del grupo O. Las experiencias se continúan de forma anecdótica y sin éxito, hasta que aumentan los conocimientos sobre

inmunosupresión y técnica quirúrgica; en tanto el primer trasplante renal que tuvo éxito se realizó en 1963 (Gobierno Vasco, 1999).

El trasplante renal es el tratamiento mas completo para la IRC, puede ser donadores vivos consanguíneo o relacionado afectivamente (según la legislación de cada país); o bien donador cadavérico. El TR puede ser posterior a diálisis o antes de la diálisis. El donante vivo tiene que ser sano, sin ninguna evidencia de enfermedad renal y absolutamente altruista. El éxito del TR depende de la histocompatibilidad del donador y de los tiempos de isquemia fría y caliente, de complicación inmunosupresora, la que ha pasado del esquema triple convencional (prednisona, azatioprina, ciclosporina) a una gama amplia y novedosa de nuevos fármacos y de sustancias inmunológicas.

Las posibilidades terapéuticas a futuro como las células troncales (tallo, madre), la organogénesis, la biogenética y el xenotrasplante, se ven más lejanas por la circulación renal y la composición de varios tejidos que conforman el riñón sano, la investigación a futuro es evitar que el riñón enferme o sufra fibrosis y por ello disminuya gradualmente su trabajo (Narro y Rivero, 2008).

Las complicaciones y consecuencias de la IRC son: enfermedad cardiovascular, anemia, acidosis metabólica, desnutrición, desequilibrio hidroelectrolítico, diátesis hemorrágica, manifestaciones dermatológicas, la presencia de datos de síndrome urémico y el hiperparatiroidismo secundario (HPTS) (Nahas y Bello, 2005; KDOQI, 2002).

México en el 2007 tenia alrededor de 28 000 pacientes en diálisis, 84 % en diálisis peritoneal (primer lugar mundial). El Instituto Mexicano del Seguro Social, al mes de febrero de 2008, contaba con poco más de 51 millones de derechohabientes registrados (CARO, 2008), que generan cada año aproximadamente 25 millones de consultas de especialidades, de las cuales 1.5% corresponden a pacientes con IRC (379,281 consultas al cierre de 2007).

Aproximadamente 86% de los pacientes bajo el esquema de diálisis peritoneal sobreviven a un año de haberla iniciado pero, lamentablemente, esta cifra disminuye a 38% a los cinco años. Tal variación en las expectativas de vida obedece a diversos factores socioeconómicos y culturales, así como a aquellos referidos a las características propias del paciente, la enfermedad y padecimientos coexistentes, como puede ser la edad, presencia de diabetes mellitus, hipertensión arterial, desnutrición y obesidad, inicio tardío del

tratamiento y eventos de peritonitis, entre otros. (USRDS, 1997; Chatoth et al, 1999; Ramírez et al, 2006).

La IRC es un problema de salud pública mundial, considerada la epidemia del Siglo XXI, catastrófica por su impacto en el enfermo, la familia y la sociedad, es vista como el “Asesino Silente”, que afecta a cinco millones de pacientes mayores de diecisiete años en México (Jiménez, 2008).

19. ESTRÉS OXIDATIVO EN LA IRC

Las primeras evidencias de la oxidación en nefrología están documentadas en la década de los 70's, en relación con la oxidación de células sanguíneas de la serie roja en pacientes en HD, en los 80's en la uremia y en la década de los 90's en la DP. (Rosenmund et al, 1975; Kamoun et al, 1981; Girelli, 1992).

En los pacientes urémicos hay aumento de los biomarcadores de oxidación y disminución de antioxidantes con respecto a las personas sanas. AOPPs, peroxidación lipídica, TBARs, MDA, 4-hidroxinonal, oxidación de carbohidratos, oxidación ácidos nucleicos. Y disminución de vitamina C, selenio, GPx, SOD, actividad antioxidativa total (Schonermarck et al, 2006; Ersoy y Dilek, 1999; Witko-Sarsat et al, 1996; Marjani, 2005; Horoz et al, 2006).

Investigaciones previas en las que se compara a la DP con la HD en la eliminación de AGEs y AOPPs se ha constatado que en la HD hay acumulamiento de AGEs e incremento de AOPPs con respecto a la DP (Witko-Sarsat et al, 1996; Agalou et al, 2003).

CAUSAS DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LAS PERSONAS CON IRC

- ✓ Toxinas urémicas
- ✓ Factores relacionados con la hemodiálisis
- ✓ Estado inflamatorio crónico
- ✓ Grado de IRC
- ✓ Desnutrición

- ✓ Por la introducción de altas concentraciones de glucosa en los fluidos de diálisis (74-214 mM)
- ✓ Infecciones crónicas
- ✓ Disminución de los grupos tiol
- ✓ La falta de vitaminas A, E, C y selenio
- ✓ Edad avanzada
- ✓ Administración parenteral de hierro sin agentes estimulantes de la eritropoyesis
- ✓ Algunas condiciones que hacen que se aumente la producción de ERO son: Diabetes, hipertensión no controlada, enfermedades autoinmunes e infecciones (Boulanger et al, 2006; Stepniewska et al, 2006; González, 2006; Agalou et al, 2003.)

CAPITULO DOS: HIPOTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

Si hay mayor activación de las células del sistema inmune (neutrófilos y monocitos) al paso de la sangre por las membranas y en el sistema de hemodiálisis, entonces habrá aumento en la producción de especies reactivas, obteniéndose un incremento del estrés oxidativo en la hemodiálisis con respecto a la diálisis peritoneal.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el daño oxidativo en pacientes con insuficiencia renal crónica en distintas modalidades de diálisis, mediante la determinación de productos de oxidación y agentes antioxidantes, para conocer en qué modalidad de diálisis existe mayor y menor estrés oxidativo.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Cuantificar algunos productos de oxidación (malondialdehído, óxido nítrico, productos avanzados de la glicosilación, productos avanzados de la oxidación de las proteínas, carbonilos totales, peróxidos) y antioxidación (grupos tiol, vitamina C, capacidad antioxidativa total, y superóxido dismutasa) en cuatro grupos de pacientes nefrópatas distribuidos según su tratamiento sustitutivo: Diálisis peritoneal continua ambulatoria, diálisis peritoneal automatizada, hemodiálisis institucional, hemodiálisis subrogada.

2. Cuantificar los productos de oxidación como malondialdehído, óxido nítrico, productos avanzados de la glicosilación, productos avanzados de la oxidación de las proteínas, carbonilos totales y peróxidos en suero de pacientes con insuficiencia renal crónica en diferentes modalidades de terapia sustitutiva.

3. Cuantificar los antioxidantes como: grupos tiol, vitamina C, capacidad antioxidativa total, y superóxido dismutasa en suero de pacientes con insuficiencia renal crónica en diferentes modalidades de terapia sustitutiva.
4. Identificar el genero del paciente en el que hay mayor y menor estrés oxidativo, mediante las variaciones en las concentraciones de los antioxidantes y oxidantes de hombres y mujeres.
5. Identificar el grupo de pacientes, que según la edad (<25, 25-49 y >49 años), es el que está más afectado por los radicales libres.
6. Identificar el tratamiento que causa menor y mayor daño oxidativo, mediante la detección de la modalidad en la que se tiene mayor concentración de antioxidantes y menor concentración de antioxidantes y viceversa.

CAPITULO TRES: POBLACIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS

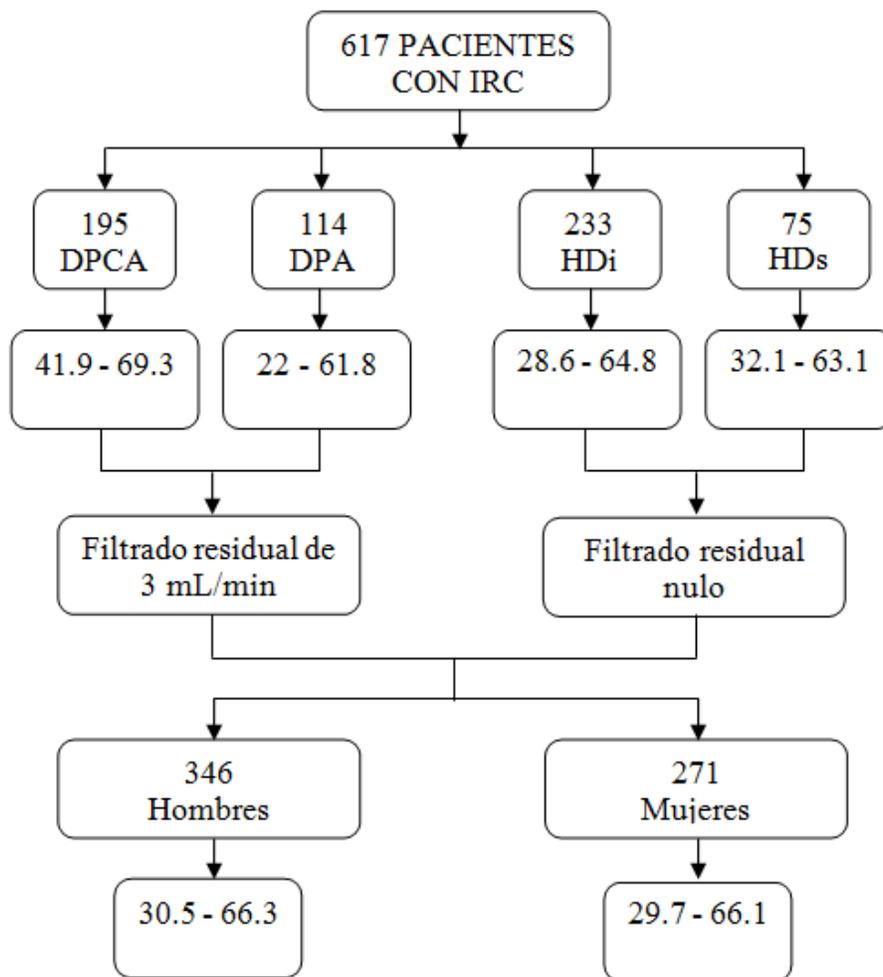
1. POBLACIÓN

Para determinar los biomarcadores de estrés oxidativo, se utilizó suero de pacientes con IRC. Se estudiaron 617 muestras de pacientes derechohabientes con IRC; en diálisis peritoneal (195 pacientes en la modalidad de DPCA, 114 en DPA) y hemodiálisis (233 en HDi, y 75 pacientes en HDs) de los cuales 346 hombres, con edad promedio de 48.4 ± 17.9 y 271 mujeres, con edad promedio de 47.9 ± 18.2 . Los pacientes en DP presentaban un filtrado residual de 3mL/min y los pacientes en HD el filtrado residual era practicamente nulo (Esquema 18).

Los valores de referencia que se utilizaron para este proyecto, se obtuvieron de un estudio previo realizado en la UIMEN, en el que se determinaron algunos biomarcadores de estrés oxidativo en 205 pacientes sanos tanto derechohabientes como de población abierta con una edad promedio de 40.9 ± 10.8 años.

Cuadro 10. Valores de referencia para las determinaciones de EO.

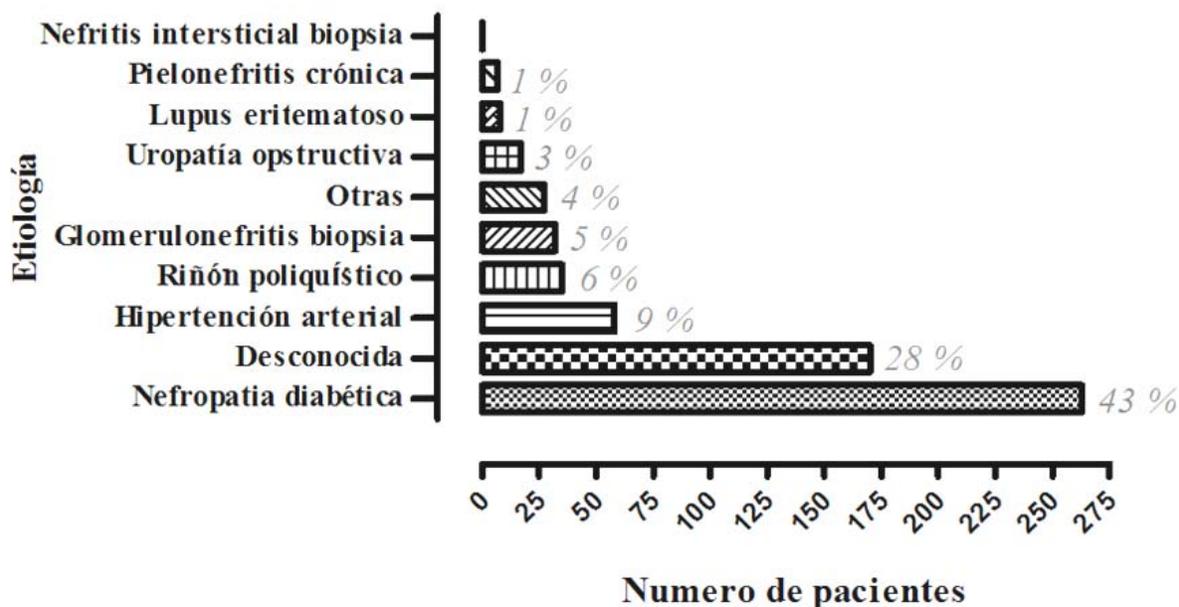
	Biomarcador	Valor de referencia
Aox.	Grupos tiol (μM)	9.09 – 20.39
Oxidantes	AOPPs (μM)	575.52 – 1254.94
	AGEs (UAF)	2.85 – 4.97
	MDA (μM)	- 0.4 – 1.48
	NO (μM)	6.54 – 97.44
	Carbonilos (nmol/L)	68.77 – 312.89
	H ₂ O ₂ (μM)	966.94 – 2536.24



Esquema 18. Distribución de los pacientes con IRC según terapia, edad, género y filtrado residual.

De los 617 pacientes incluidos en este estudio, 43% tenían IRC a causa de padecer diabetes, 32% por causa desconocida, 9% por hipertensión arterial, 6% por poliquistosis, 5% por glomerulonefritis, 3 % por uropatía obstructiva, 1% por pielonefritis crónica, 1% por lupus eritematoso (Gráfica 1).

Causas de la IRC en 617 pacientes



Gráfica 1. Causas de la IRC en los pacientes utilizados en el estudio.

Las muestras de los pacientes tratados con hemodiálisis se obtuvieron antes de realizar este procedimiento, teniendo en cuenta que la HD se realiza 3 veces por semana cuatro horas por sesión. Para los pacientes en DP la muestra se obtuvieron antes de introducir la primera disolución en el día. Las muestras fueron obtenidas mediante punción venosa, se centrifugaron a 4500 rpm durante 10 min para obtener el suero y así utilizarlo en diferentes estudios, el suero se mantuvo congelado a -20 °C hasta el momento de ser procesado.

2. MATERIAL.

- ✓ Placas transparentes de 96 pozos para lector de ELISA.
- ✓ Placas oscuras de 96 pozos para lector de fluorescencia.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Tubos de ensayo 13 x 100.
- ✓ Tubos eppendorf de 200, 600 y 1000 µL.
- ✓ Puntas para micropipetas de 10, 100, 200, 1000 µL.

- ✓ Tubos de plástico de 10 y 50 mL.
- ✓ Pipeta graduada de 10 mL.
- ✓ Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL.
- ✓ Matraz aforado de 5, 10, 25, 50 y 100 mL.
- ✓ Varillas de vidrio.
- ✓ Espátula.
- ✓ Agitador magnético.
- ✓ Matraz erlenmeyer de 100 mL.
- ✓ Vasos de precipitado de 5, 10, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL.
- ✓ Frascos viales transparentes y ámbar.
- ✓ Detergente líquido.
- ✓ Toallas desechables.
- ✓ Cajas para almacenamiento de tubos eppendorf.
- ✓ Vidrio de reloj.

3. REACTIVOS

- ✓ Ácido tricloroacético (TCA).
- ✓ Ácido tiobarbitúrico (TBA).
- ✓ Malondialdehído.
- ✓ Sulfanilamida.
- ✓ N-Naftilendiamino (NED).
- ✓ Nitrito de sodio (NaNO_2).
- ✓ Naranja de xilenol 3,3'-bis (N,N-di(carboximetil)-aminometil)-o-cresolsulfona-fenofaleína).
- ✓ Peróxido de hidrógeno.
- ✓ 2,6, Di-terbutil- 4-metilfenol (Hidroxitolueno butilado).
- ✓ Sulfato de amonio ferroso.
- ✓ Metanol.
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).
- ✓ Ácido ascórbico.

- ✓ Fosfato de sodio monobásico.
- ✓ Molibdato de amonio.
- ✓ 5',5' Ditio-Bis 2-Nitro-ácido benzoico (DTNB, reactivo de Ellman).
- ✓ Tris.
- ✓ Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
- ✓ L-Cisteína.
- ✓ N-cloro-p-toluensulfonamida (Cloramina T).
- ✓ Cloruro de potasio (KCl).
- ✓ Cloruro de sodio (NaCl).
- ✓ Fosfato de sodio monobásico.
- ✓ Fosfato de potasio monobásico.
- ✓ Ácido clorhídrico (HCl).
- ✓ Yoduro de potasio (KI).
- ✓ Ácido acético concentrado
- ✓ Ácido acético glacial.
- ✓ 1,2,3 Trihidroxibenceno (Pirogalol).
- ✓ 2-4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH).
- ✓ Etanol.
- ✓ Acetato de etilo.
- ✓ Guanidina.
- ✓ Benzoato de sodio 10 M.
- ✓ Ácido úrico 1 M.

4. EQUIPO

- ✓ Lector de ELISA.
- ✓ Fluorómetro.
- ✓ Termociclador.
- ✓ Sonicador.
- ✓ Agitador orbital.
- ✓ Vortex.

- ✓ Termoblock.
- ✓ Potenciómetro.
- ✓ Microcomputadora.
- ✓ Microcentrifuga.
- ✓ Balanza digital.
- ✓ Cronometro.

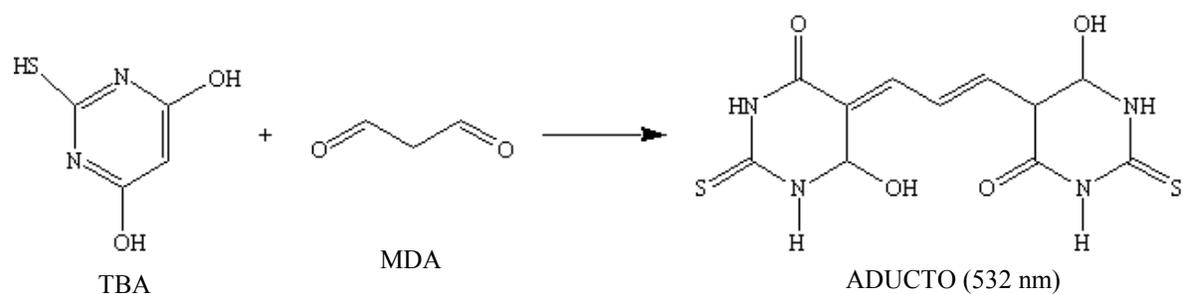
5. MÉTODOS BIOQUÍMICOS

5.1 DESPROTEINIZACIÓN DE LA MUESTRA

Es el paso previo para hacer la determinación de MDA, NO[•], capacidad antioxidativa total, peróxidos. La finalidad que se tiene, es evitar interferencias por los sedimentos que forman las proteínas al desnaturalizarse y evitar errores al momento de pipetear. Se colocan 200 µL de la muestra en tubos de 600 µL y se añaden 200 µL de ácido tricloroacético (TCA) al 20%, se agita en vortex y se incuba a 4 °C por 10 minutos, posteriormente se centrifuga a 11000 rpm durante 3 minutos.

5.2 DETERMINACIÓN DE MALONDIALDEHÍDO (MDA)

El MDA es uno de los productos finales de la lipoperoxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. A pH ácido y a temperaturas elevadas reacciona una molécula de MDA con 2 moléculas de TBA formando aductos de color rosa que se detectan a 532 nm en luz visible. (Buege y Aust, 1978; Mihara y Uchiyama, 1978). Se prepara una curva de calibración con ocho puntos (0-100 µM) con MDA. En tubos eppendorf se colocan 25 µL de sobrenadante o del estándar, después se agregan 200 µL de disolución de TBA al 0.8% y se agita en vortex. La mezcla de reacción se incuba a 95 °C/60 min, después a 22 °C/10 min. Finalmente se determina la absorbencia de la curva y de las muestras a 532 nm. Se obtiene la concentración de cada muestra con base en los datos de la curva.

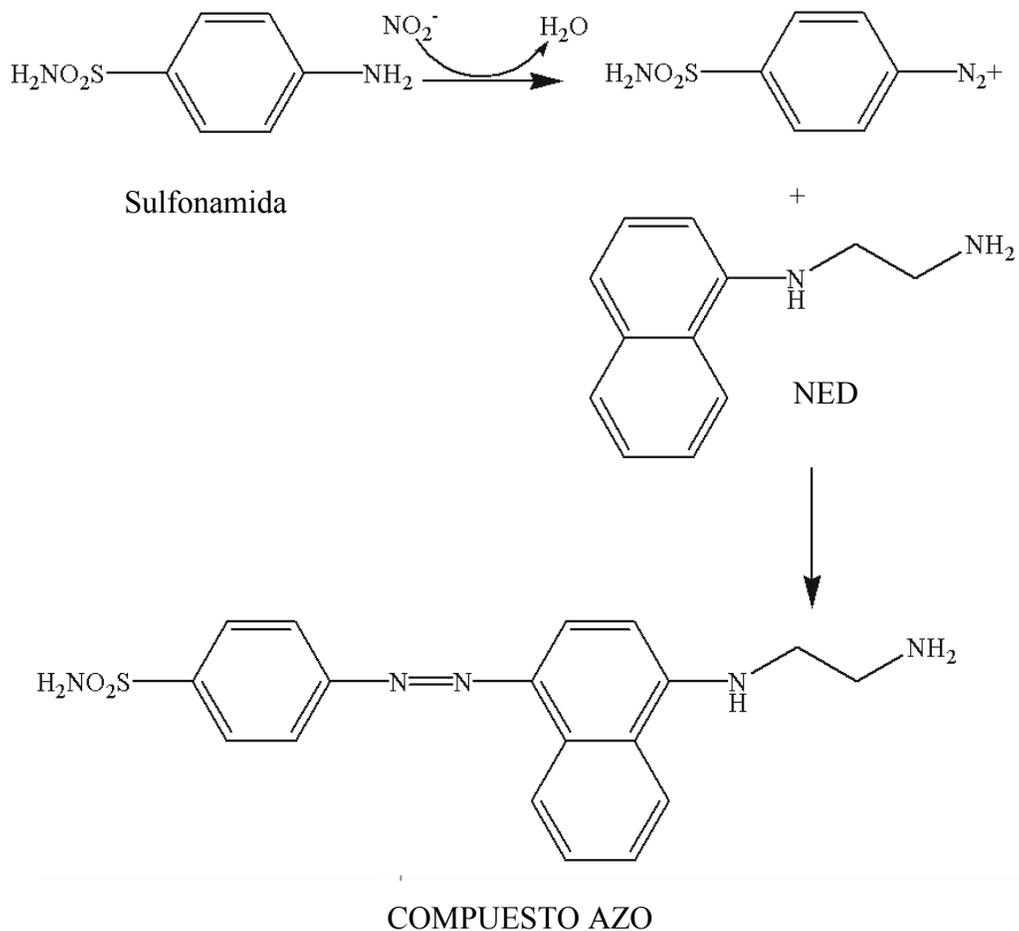


Esquema 19. Reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA, con el MDA) producto de lipoperoxidación, con la formación de un aducto cromógeno, detectable a 532 nm (Tilman, 2005; Yagi, 1998).

5.3 DETERMINACIÓN DE NO[•]

La reacción de Griess fue descrita en 1879. En este método, el nitrito producido reacciona con sulfanilamida, en medio ácido para formar una sal temporal de diazonio. Este intermediario reacciona con un agente acoplante N-naftilendiamino (NED), para formar un compuesto azo estable. La absorbencia de este aducto se lee a 540 nm, la cual, es directamente proporcional a la concentración de nitritos en la muestra (Sun et al, 2003).

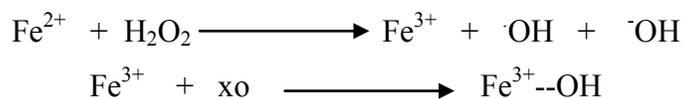
El óxido nítrico (NO[•]) es un importante efector fisiológico y mensajero molecular en muchos sistemas biológicos, incluidos los inmunológicos, neuronales y cardiovasculares. (Bredt y Snyder, 1994; Dawson y Dawson, 1995). Se utilizan 20 μL del estándar o sobrenadante de la muestra desproteinizada, a la que se le agregan 50 μL sulfonamida al 1 % incubando en oscuridad durante 10 minutos, posteriormente se añaden 50 μL de NED al 0.1 % incubando en oscuridad durante 10 minutos. Además se prepara una curva de calibración de 8 puntos, de NaNO₂ de 0 a 100 μM. El estándar y las muestras se analizan a 540 nm. Con los datos de la curva se calcula la concentración de nitritos en cada muestra.



Esquema 20. Reacciones químicas implicadas en la medición de NO₂.

5.4 DETERMINACIÓN DE PERÓXIDOS

Esta determinación se utiliza el método de hierro-naranja de xilenol (FOX), el cual, se basa en la oxidación de Fe²⁺ a Fe³⁺ por los peróxidos de la muestra en condiciones ácidas. El ión férrico se une con el naranja de xilenol (3,3'-bis(N,N-di(carboximetil)-aminometil)-o-cresolsulfona-fenofaleína), para formar un complejo colorido que se puede medir a 560 nm. (Jiang et al, 1992; Lee y Halliwell, 2001; Nourooz-Zadeh y Wollff, 1994; Nourooz-Zadeh et al, 1995)



Se prepara una curva de calibración de H_2O_2 de 8 puntos de 0-500 μM . A 10 μL del estándar o de la muestra, se les adicionan 125 μL de disolución reactiva FOX (9 volúmenes de de hidroxitolueno butilado 4 mM en metanol y 1 volumen de naranja de xilenol 1 mM, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ 2.56 mM en H_2SO_4 250 mM) y se agita en vortex. La curva y las muestras se incuban a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se determina la absorbencia de la curva y de las muestras a 595 nm. Con los datos de la curva se calcula la concentración de peróxidos en cada muestra De esta manera se determinan hidroperóxidos y otros peróxidos (Pajuelo et al, 2004; PSUC y Judis, 2004; Gray, 1978).

5.5 CUANTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN

Debido a que los AGEs son compuestos fluorescentes se determinan mediante un método fluorométrico con base en el procedimiento de Henle y Munch (Henle et al, 1999; Munch et al, 1997). El ensayo se lleva a cabo en placas oscuras de 96 pozos (Fisher Scientific, Hanover Park, IL USA) a 37 °C y se utilizan 5 μL de muestra en un sistema de dilución amortiguado con PBS (pH 7.4), la fluorescencia se mide a la emisión máxima de 440 nm y de excitación a 350 nm. La intensidad de fluorescencia se expresa en unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF).

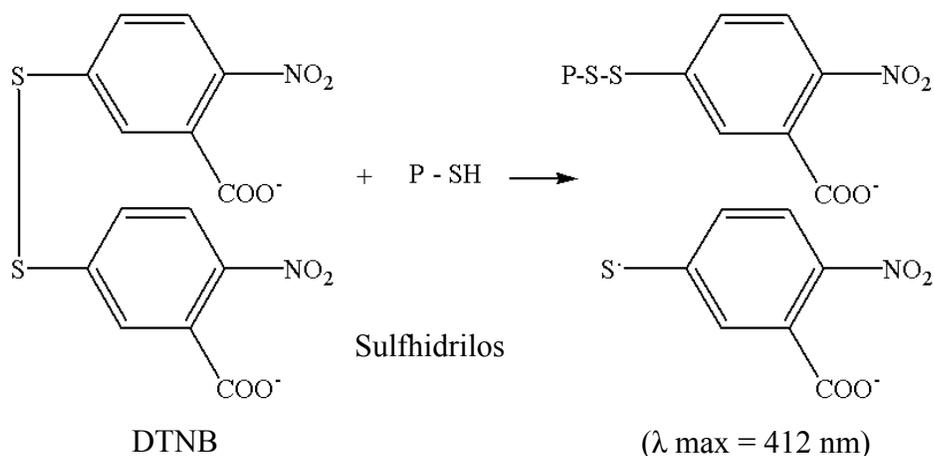
5.6 DETERMINACIÓN DE LA VITAMINA C

Para evaluar la capacidad antioxidante del suero, se utiliza el método descrito por Prieto. Este método se basa en la reducción de molibdato (VI) a molibdato (V) por la muestra, seguido de la formación un complejo entre el fosfato y el molibdato (V), el cual tiene una absorción óptima a 695 nm. (Prieto et al, 1999) Para la determinación, se prepara una curva de calibración de ácido ascórbico con 8 puntos de 0 a 10 nm, se utilizan 10 μL de la muestra o del estándar más 10 μL de agua BD los cuales se colocan en un tubo eppendorf que contienen 200 μL de disolución reactiva (0,6 M de ácido sulfúrico, 28 mM fosfato de sodio monobásico y 4 mM de molibdato de amonio). Después se incuban a 95 °C durante 90 minutos. Tras la primera incubación, se deja enfriar durante 10 minutos a temperatura

ambiente, posteriormente se determina la densidad óptica a 695 nm. La actividad antioxidativa se determina en términos de ácido ascórbico mmol/ mL de suero. Con los datos de la curva se calcula la concentración de vitamina C en cada muestra.

5.7 DETERMINACIÓN DE GRUPOS TIOL (GLUTATIÓN) SULFHIDRILOS TOTALES EN SUERO

La cuantificación del glutatión total se analiza mediante el reactivo de Ellman (DTNB; 5' 5' Ditio-Bis 2-Nitro-ácido benzoico) de acuerdo con el procedimiento de (Gallardo, 2007). Este método se basa en la reacción estequiométrica entre DTNB y los SH de acuerdo a la siguiente reacción (Habeeb, 1966):



Esquema 21. Reacción entre el DTNB y los grupos tiol.

Primeramente se prepara una curva de calibración con ocho puntos de 0 a 100 μM de L-Cisteína, las muestras y la curva de calibración se tratan de la misma manera, en donde se colocan 12.5 μL de DTNB (reactivo de Ellman), 25 μL de buffer Tris-EDTA pH 8.2. y 210 μL de H₂O BD y se determina la primera lectura a 412 nm. Tras la lectura se incorporaron 2.5 μL del estándar o del suero, según el sistema (agitando) e inmediatamente se realiza la segunda lectura a la misma longitud de onda.

5.8 DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS AVANZADOS DE LA OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS

En la determinación de AOPPs se estima el grado de oxidación de proteínas en el suero de los pacientes con IRC, esta oxidación es causada por el ácido hipocloroso (HOCl) producido por neutrófilos y macrófagos, el cual, modifica las proteínas (Iwao et al, 2006).

En condiciones ácidas los AOPPs reaccionan con el yoduro formando el I_2 el cual se detecta a 340 nm. La concentración de AOPPs es expresada en micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$) de cloramina T (estándar) (Metteuci et al, 2001).

Se elabora una curva de calibración con ocho puntos (0-100 μM) de cloramina T. Para el sistema de la muestra, se utilizan 20 μL de suero más 80 μL de PBS pH=7.4; sin embargo, para el sistema de la curva, se requirieren 100 μL de cloramina T. A ambos sistemas se les añaden 5 μL de KI y 10 μL ácido acético concentrado. La absorbencia se obtiene leyendo a 340 nm inmediatamente después de haber agregado el ácido acético. (Kalousova, 2002; Witko-Sarsat et al, 1996; Witko-Sarsat et al, 1998)

5.9 CINÉTICA DE LA SUPEROXIDO DISMUTASA POR EL MÉTODO DE PIROGALOL

Para determinar la actividad enzimática de la SOD se necesitan 2 sistemas de reacción, uno para la muestra y otro para el control; el sistema control contiene 290 μL de buffer Tris (50 mM) - EDTA (1mM) pH 8.5, el sistema de la muestra 280 μL del mismo buffer, más 10 μL de suero. Después a cada sistema se añaden 10 μL de disolución de pirogalol (20mM) y a los 90 segundos de haberse incorporado se realizan 7 lecturas a 420 nm cada 10 segundos (Jyothi et al, 2008), para el cálculo de la actividad enzimática se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{Unidades de SOD/3 mL disolución de reacción} = ((A-B) * 100)/(A*50)$$

Donde:

A - Absorbencia del control de lectura

B - Lectura de absorbencia de la muestra

Definición de unidad: una unidad de SOD se describe como la cantidad de enzima necesaria para producir el 50% de inhibición de la autooxidación del pirogalol por 3 mL de mezcla de ensayo.

Unidades $\times 10 =$ Unidades / mL de muestra

5.10 DETERMINACIÓN DE CARBONIOS TOTALES (OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS)

Esta determinación se lleva a cabo con base a la reactividad de los grupos carbonilo con 2-4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH), para formar hidrazonas de proteína, las cuales absorben a 370 nm. (Reznick y Packer, 1994 ; Levine et al, 1994; Dalle-Donne et al, 2003).

Se corren de manera simultanea dos alícuotas de la muestra del mismo paciente en la cual una de ellas funge como blanco (sin DNPH) y la otra como muestra colorida (con DNPH) al final ambas muestras son lavadas tres veces con una mezcla de etanol-acetato de etilo para remover el DNPH libre y finalmente se utiliza guanina 6 M en medio ácido para renaturalizar el sedimento de proteínas, y 200 μ L de esa disolución se lee a 370 nm.

Para calcular la cantidad de grupos carbonilo se utiliza el coeficiente de absorción de la 2-4 Dinitrofenilhidrazona ($22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) siguiendo la ecuación de Lambert y Beer. (Reznick et al, 1994; Levine et al, 1994).

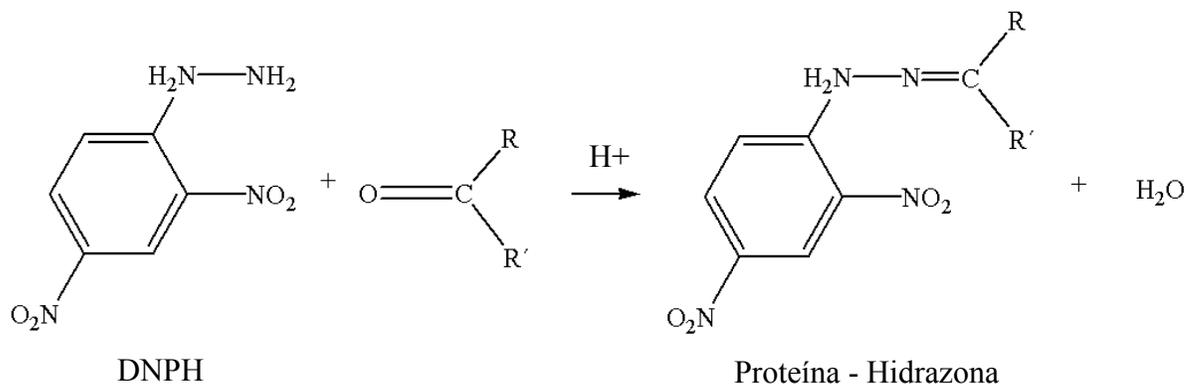
Carbonilos Totales (nmol/mL) = $(AC/\xi^2) * (\text{volumen de guanidina en } \mu\text{L} / \text{volumen de la mezcla de reacción al momento de la lectura en } \mu\text{L})$

AC (Absorbencia corregida) = Si-Ti

Si – Muestra de suero con DNPH

Ti – Muestra de suero sin DNPH

ξ – Coeficiente de extinción molar de DNPH



Esquema 22. Reacción de la 2-4 dinitrofenilidrazina y el grupo carbonilo.

5.11 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN SUERO

La capacidad antioxidativa total es la determinación que evalúa la capacidad de los antioxidantes en el suero del paciente para neutralizar el radical hidroxilo. Esta determinación se basa en la reacción del complejo Fe-EDTA con el peróxido de hidrógeno mediante un tipo de reacción Fenton, dando lugar a la formación del radical hidroxilo, esta especie reacciona con el benzoato de sodio, resultando sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), las cuales al añadir la muestra son inhibidas por los antioxidantes del suero. Esta reacción es medida por espectrofotometría y la inhibición de color se define como actividad antioxidante total del suero. (Koracevic et al, 2001). Cada muestra (A1) tuvo su propio control (A0), muestra blanco. Por cada serie de análisis se añade un control negativo (K1 y K0) que se prepara igual que A1 y A0 pero sin suero y se reemplaza por PBS. El estándar es el ácido úrico 1M, del cual se añaden 5 μL al sistema UA1 y al sistema UA2. A todos los sistemas se añaden 245 μL de PBS pH 7.4, posteriormente 250 μL de Benzoato de sodio 10 mmol/L. Sólo a los sistemas A0, K0 y AU0 se les añaden 500 μL de ácido acético al 20%. Nuevamente a todos los sistemas se les añaden 100 μL Fe-EDTA y 100 μL H_2O_2 10 mmol/L incubando a 37 $^\circ\text{C}$ /60 min. Luego a los sistemas A1, K1 y AU1 se les añaden 500 μL de ácido acético al 20%. Finalmente a todos los sistemas se les incorporaron 500 μL de TBA al 0.8 %, se incuban a 100 $^\circ\text{C}$ /10 min, después a 4 $^\circ\text{C}$ / 10 min y se leen a 532 nm. La actividad antioxidante total se determina con la siguiente fórmula:

$$\text{AAOx (mmol/L)} = ((\text{CUA}) * (\text{K} - \text{A})) / (\text{K} - \text{AU})$$

Donde:

K = absorbencia del control (K1 – K0)

A = absorbencia de la muestra (A1 – A0)

UA = absorbencia de la disolución de ácido úrico (UA1 – UA0)

CUA = concentración del ácido úrico en mmol/L

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el análisis de varianza múltiple de una sola vía (ANOVA) y se realizó un prueba a posteriori (T de Tuckey) para la pruebas paramétricas, y la prueba de Mann-Whitney para las pruebas no paramétricas. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Estos cálculos se realizaron utilizando el software Prisma GraphPad Prism 4.0.

CAPITULO CUATRO: RESULTADOS

Los resultados estan divididos en cuatro apartados numerados, en el primero se compara la DP con la HD, en el segundo las cuatro modalidades de diálisis (DPCA, DPA, HDi y HDs), en el tercero la edad del paciente y finalmente el género del paciente nefrópata.

Las líneas semicontinuas horizontales, mostradas en algunas gráficas, indican el intervalo de la concentración (valor de referencia) en las personas sanas; en la parte inferior de cada gráfica se encuentra un cuadro en el que está el valor de las diferencias significativas entre los grupos de cada gráfica.

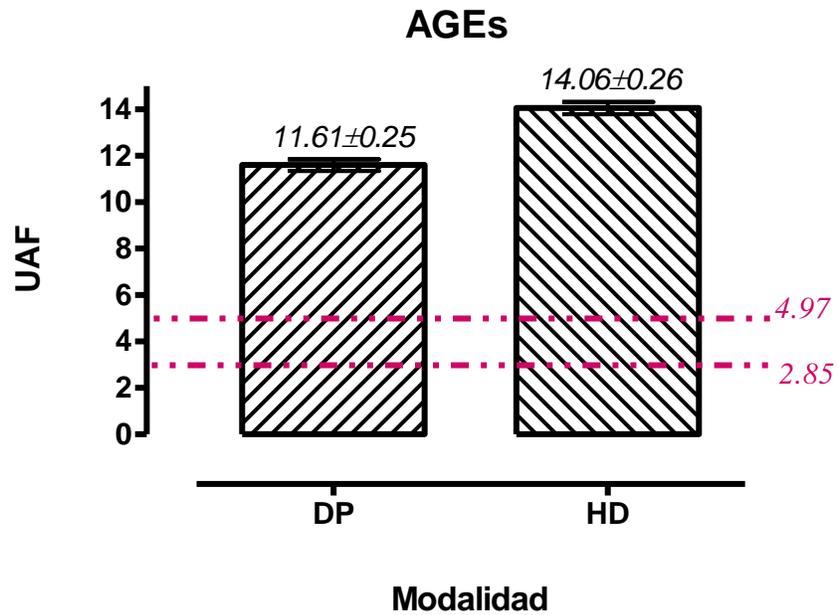
1. RESULTADOS DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN EL TRATAMIENTO SUSTITUTIVO DE LA FUNCIÓN REAL (DIÁLISIS PERITONEAL: DPCA, DPA) Y (HEMODIÁLISIS: HDi, HDs).

Cuadro 11. Resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo donde hay diferencias significativas entre DP y HD.

	TRATAMIENTO	
	DP	HD
AGEs (UAF)	▼ 11.61 ± 0.25	▲ 14.06 ± 0.26
P < 0.001		
Vitamina C (mM)	▲ 1.28 ± 0.05	▼ 0.94 ± 0.05
P < 0.001		

Los valores están expresados como media ± EE (intervalos de confianza al 95%); DP, diálisis peritoneal; HD, hemodiálisis; Producto de la oxidación; Antioxidante; ▲, Concentración alta; ▼, Concentración baja.

1.1 PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN

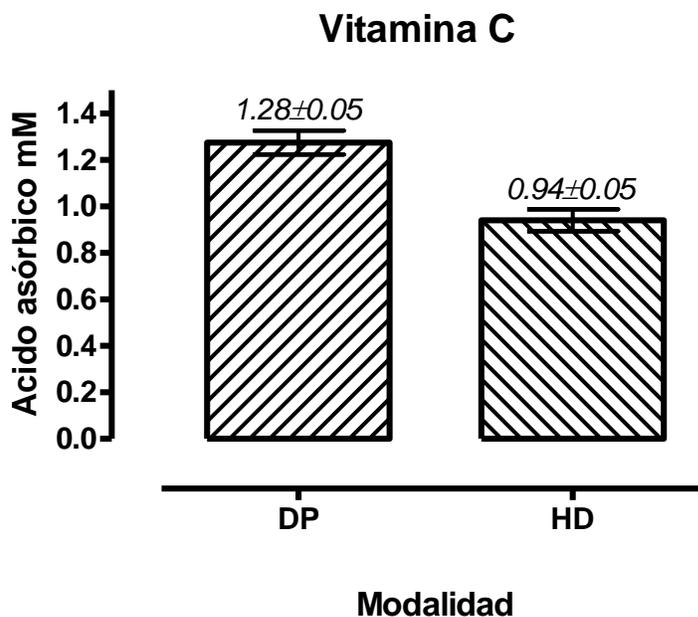


Gráfica 2. Productos avanzados de la glicosilación según el tratamiento sustitutivo de la función renal.

Prueba de comparación múltiple Tukey	Valor de P
DP vs HD	P < 0.001

Los pacientes tratados con HD presentan un aumento significativo ($P < 0.001$) de AGEs en comparación con los tratados con DP.

1.2 VITAMINA C



Gráfica 3. Vitamina C según el tratamiento sustitutivo de la función renal.
DP vs HD $P < 0.001$

Prueba de comparación múltiple Tukey	Valor de P
DP vs HD	$P < 0.001$

Los pacientes nefróticas tratados con DP tienen un aumento significativo de ascorbato ($P < 0.001$) respecto a los tratados con HD.

No existen diferencias significativas entre la DP y HD en las determinaciones de estrés oxidativo para la SOD, grupos tiol, actividad antioxidativa total, carbonilos, óxido nítrico, peróxidos y AOPPs.

2. RESULTADOS DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS TRATAMIENTOS DE SUSTITUCIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL (DPCA, DPA, HDi y HDs).

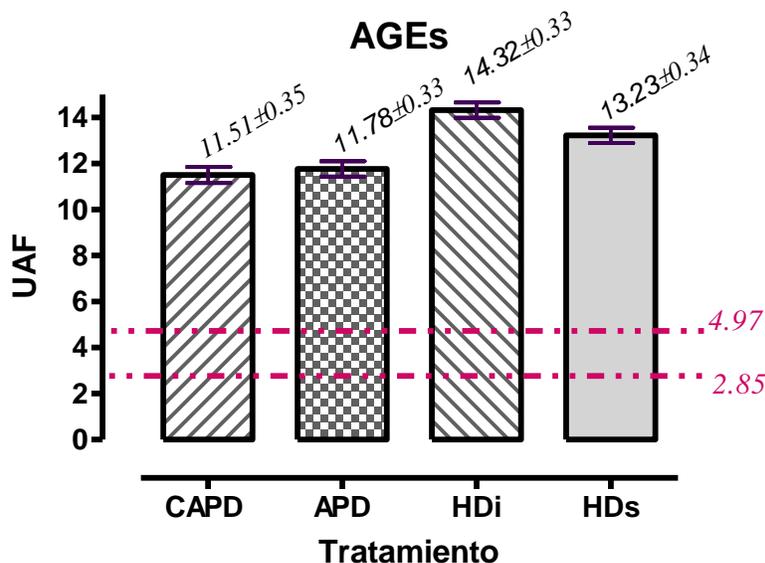
Cuadro 12. Resultados de la comparación en los 4 tratamientos de sustitución de la función renal en los biomarcadores de estrés oxidativo.

BIOMARCADORES	TRATAMIENTO			
	DPCA	DPA	HDi	HDs
Carbonilos (nmol/L)	▼ 56.51 ± 14.30	▲ 62.37 ± 19.66	▲▲ 78.10±17.90	▼▼ 42.44±16.75
Peróxidos (µM)	▼▼ 3915 ± 230.90	▲ 4476±282.60	▲▲ 4670±224.5	▼ 4268±429.90
Nitritos (NO ⁻) (µM)	▲ 7.411 ±0.86	▼ 5.653±1.26	▼▼ 5.03±0.58	▲▲ 7.76±2.10
AGEs (UAF)	▼▼ 11.51 ± 0.35	▼ 11.78 ± 0.33	▲▲ 14.32 ± 0.33	▲ 13.23 ± 0.34
	DPCA vs HDi P < 0.001 DPCA vs HDs P < 0.05 DPA vs HDi P < 0.001			
MDA (µM)	▼ 10.82 ± 0.70	▼▼ 10.69 ± 0.89	▲ 11.08 ± 0.68	▲▲ 15.67 ± 1.58
	DPCA vs HDs P < 0.05 DPA vs HDs P < 0.05 HDi vs HDs P < 0.05			
AOPPs (µM)	▼▼ 72.62 ± 2.86	▲▲ 86.98 ± 4.34	▲ 85.48 ± 3.46	▼ 78.94 ± 5.10
	DPCA vs DPA P < 0.05 DPCA vs HDi P < 0.05			
SOD (U/mL)	▲▲ 9.99 ± 0.45	▲ 9.34±0.54	▼ 9.12±0.35	▼▼ 8.21±0.59
AAox ttal (mM)	▼▼ 5.53 ± 0.40	▲▲ 6.60±0.50	▼ 5.94±0.55	▲ 6.34±0.61
Vitamina C (mM)	▲▲ 1.41 ± 0.07	▲ 1.00 ± 0.07	▼▼ 0.94 ± 0.05	▼ 0.96 ± 0.10
	DPCA vs DPA P < 0.001 DPCA vs HDi P < 0.001 DPCA vs HDs P < 0.01			
Grupos tiol (Glutación) (µM)	▲ 8.76 ± 0.49	▼▼ 5.04 ± 0.39	▲▲ 8.83 ± 0.37	▼ 5.27 ± 0.52
	DPCA vs DPA P < 0.001 DPCA vs HDs P < 0.001 DPA vs HDi P < 0.001 HDi vs HDs P < 0.001			

Los valores están expresados como media ± EE (intervalos de confianza al 95%); DPCA Diálisis peritoneal continua ambulatoria; DPA Diálisis peritoneal automatizada; HDi Hemodiálisis institucional; HDs Hemodiálisis subrogada; Productos de la oxidación y oxidantes ; Antioxidante ; ▲Concentración alta; ▼Concentración baja.

Hay diferencias significativas en AGEs, MDA, AOPPs, vitamina C y grupos tiol.

2.1 PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN

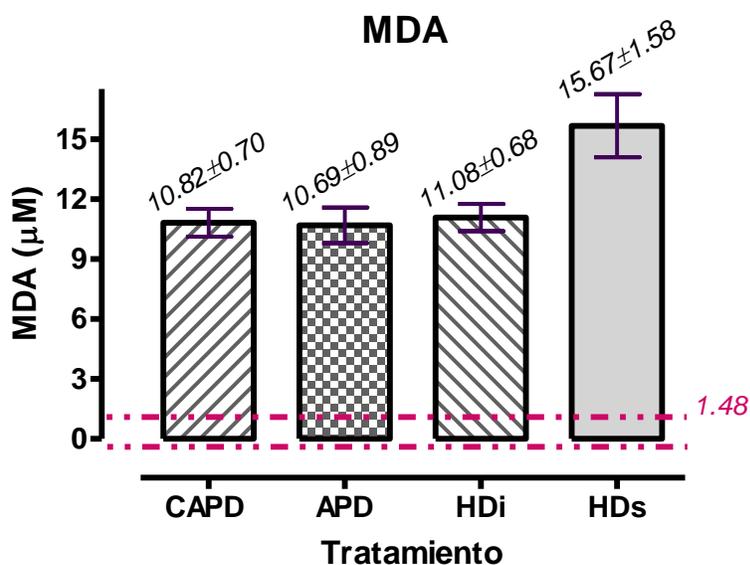


Gráfica 4. Productos avanzados de la glicosilación respecto al tratamiento.

Parameter	Prueba de comparación multiple Tukey	Value Mean Diff.	APD q	HDi P value	HDs 95% CI of diff
CAPD vs APD	DPCA vs HDi	-0.2676	0.7132	P > 0.05	-1.647 to 1.112
CAPD vs HDi	DPCA vs HDs	-2.817	9.120	P < 0.001	-3.953 to -1.682
CAPD vs HDs	DPCA vs HDi	-1.719	3.976	P < 0.05	-3.309 to -0.1296
APD vs HDi	DPA vs HDi	-2.549	7.008	P < 0.001	-3.887 to -1.212
APD vs HDs	DPA vs HDi	-1.452	3.068	P > 0.05	-3.191 to 0.2878
HDi vs HDs		1.098	2.598	P > 0.05	-0.4555 to 2.651

Los pacientes tratados con DPCA tienen una disminución significativa de AGEs en comparación con la HDi (P < 0.001) y la HDs (P < 0.05). Los pacientes con tratamiento de HDi presentan un aumento significativo de AGEs (P < 0.001) con respecto a la modalidad de DPA.

2.2 MALONDIALDEHÍDO

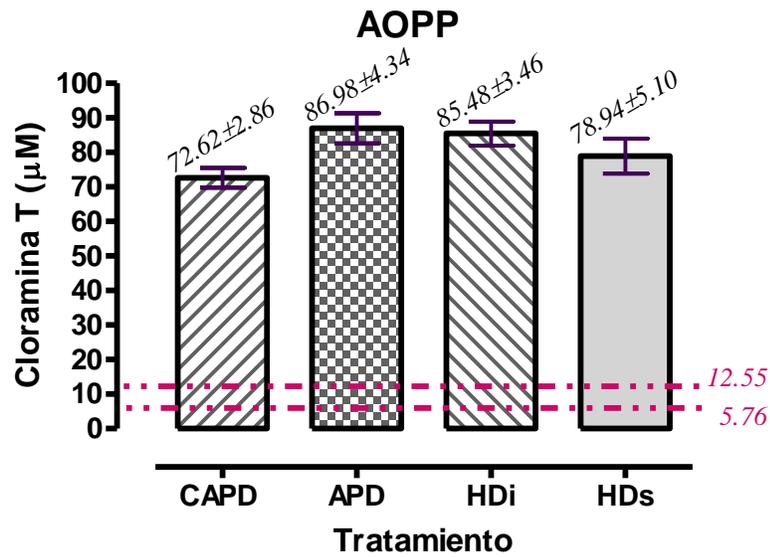


Gráfica 5. Malondialdehído con respecto al tratamiento.

Parameter	Value	APD	HDi	HDs
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
CAPD vs APD	0.1274	0.1421	P > 0.05	-3.163 to 3.418
CAPD vs HDi	0.2605	0.3748	P > 0.05	-2.816 to 2.295
CAPD vs HDs	-4.849	4.455	P < 0.05	-8.852 to -0.8466
APD vs HDi	0.3879	0.4491	P > 0.05	-3.564 to 2.788
APD vs HDs	-9.974	4.136	P < 0.05	-9.402 to -0.5519
HDi vs HDs	-4.589	4.316	P < 0.05	-8.498 to -0.6795

El tratamiento de HDs presenta un aumento significativo respecto a las otras modalidades de tratamiento sustitutivo de la función renal DPCA, DPA y HDi con un valor de $P < 0.05$.

2.3 PRODUCTOS AVANZADOS DE LA OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS

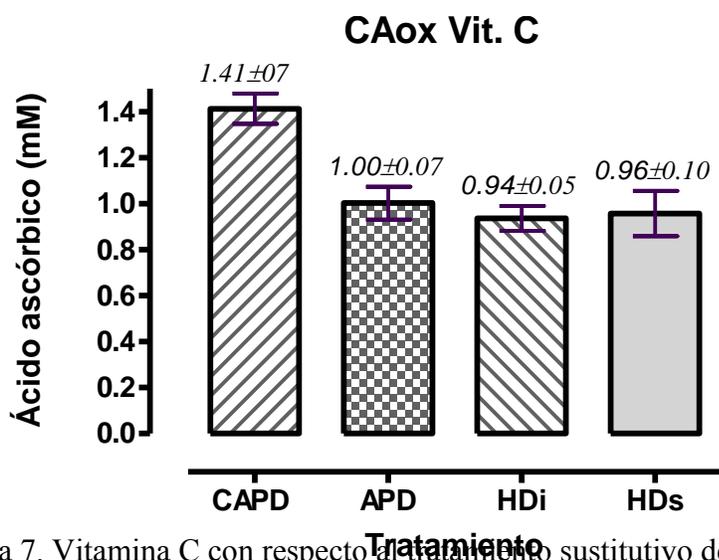


Gráfica 6. Productos avanzados de la oxidación de proteínas con respecto al tratamiento

Parameter	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
Tukey's Multiple Comparison Test CAPD vs APD	-14.36	3.687	P < 0.05	-28.68 to -0.04118
CAPD vs HDi	-12.86	4.015	P < 0.05	-24.64 to -1.084
CAPD vs HDs	-6.319	1.395	P > 0.05	-22.96 to 10.33
APD vs HDi	0.3958	0.3958	P > 0.05	-12.40 to 15.40
APD vs HDs	6.041	1.624	P > 0.05	-10.17 to 26.25
HDi vs HDs	6.541	1.477	P < 0.05	-9.742 to 22.83
DPCA vs DPA			P < 0.05	
DPCA vs HDi			P < 0.05	

En modalidad de DPCA hay una disminución significativa de AOPPs en comparación con la DPA y HDi con un valor de $P < 0.05$.

2.4 VITAMINA C

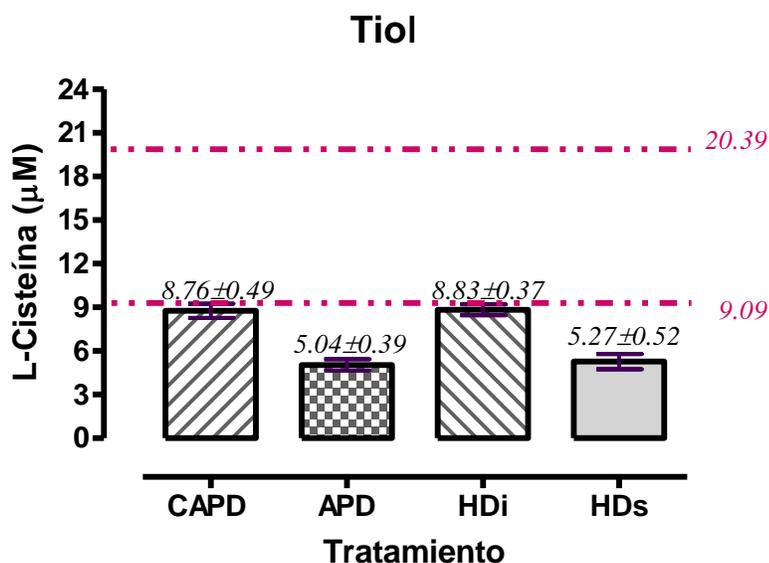


Gráfica 7. Vitamina C con respecto al tratamiento sustitutivo de la función renal.

Parameter	Prueba de comparación multiple Tukey	Value Mean Diff	APD q	HDi P value	HDs 95% CI of diff
CAPD vs APD	DPCA vs DPA	0.4107	5.586	P < 0.001	0.1403 to 0.6810
CAPD vs HDi	DPCA vs HDi	0.4767	8.348	P < 0.001	0.2667 to 0.6866
CAPD vs HDs	DPCA vs HDs	0.4559	5.097	P < 0.001	0.1270 to 0.7847
APD vs HDi	DPCA vs HDi	0.06603	0.9305	P < 0.01	-0.1949 to 0.3270
APD vs HDs	DPCA vs HDs	0.04521	0.4573	P > 0.05	-0.3183 to 0.4087
HDi vs HDs		-0.02082	0.2384	P > 0.05	-0.3420 to 0.3004

Los pacientes nefróticas que están en la modalidad DPCA tiene un aumento significativo de vitamina C con respecto a las otras terapias de reemplazo renal: para DPA y HDi ($P < 0.001$) y para la HDs ($P < 0.01$).

2.5 GRUPOS TIOL



Gráfica 8. Grupos tiol con respecto al tratamiento sustitutivo de la función renal.

Parameter	Value	APD	HDi	HDs
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
CAPD vs APD	3.719	7.844	P < 0.001	1.976 to 5.462
CAPD vs HDi	0.07124	0.1825	P > 0.05	-1.506 to 1.364
CAPD vs HDs	3.491	6.389	P < 0.001	1.483 to 5.500
APD vs HDi	-3.790	8.246	P < 0.001	-5.480 to -2.101
APD vs HDs	-0.2278	0.3809	P > 0.05	-2.426 to 1.970
HDi vs HDs	3.563	6.672	P < 0.001	1.600 to 5.525
	DPA vs HDi		P < 0.001	
	HDi vs HDs		P < 0.001	

En el tratamiento con DPCA y HDi hay un aumento significativo de grupos tiol en comparación DPA y HDs con un valor de $P < 0.001$.

En los carbonilos, peróxidos, nitritos y en la actividad antioxidativa total no hay diferencia significativa entre las cuatro modalidades comparadas DPCA, DPA, HDi y HDs.

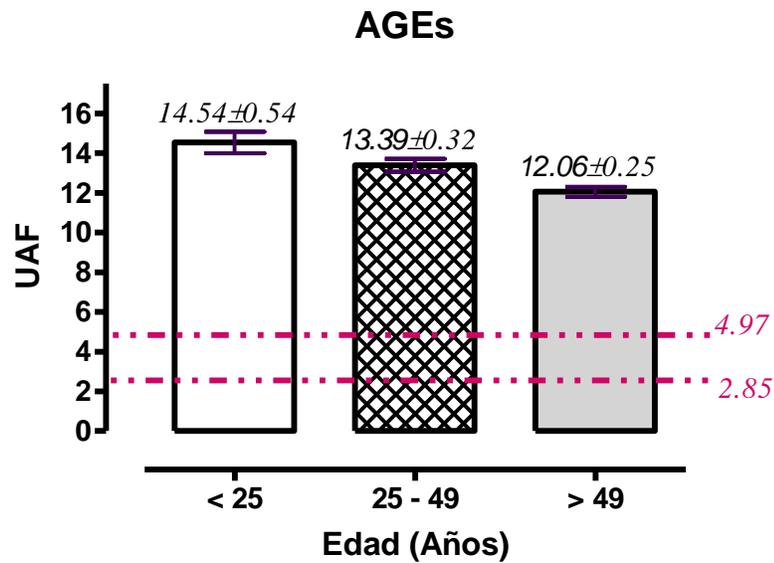
3. RESULTADOS DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE EDAD DEL PACIENTE NEFRÓPATA.

Cuadro 13. Resultados de los distintos biomarcadores de estrés oxidativo en los diferentes grupos de edades de pacientes nefróticas.

BIOMAR- CADORES	EDAD DEL PACIENTE (AÑOS)		
	<25	25-49	>49
Carbonilos (nmol/L)	▲ 145.0 ± 111.4	▼ 56.37 ± 11.98	60.30 ± 2.14
H ₂ O ₂ (μM)	▲ 4707 ± 427.00	▼ 4111 ± 213.90	4431 ± 188.00
MDA (μM)	▲ 13.51 ± 1.41	▼ 10.90 ± 0.73	11.15 ± 0.54
AOPPs (μM)	▲ 87.59 ± 5.08	▼ 79 ± 3.16	80.53 ± 2.67
AGEs (UAF)	▲ 14.54 ± 0.54	13.39 ± 0.32	▼ 12.06 ± 0.25
	< 25 vs > 49 (P < 0.001) 25 - 49 vs > 49 (P < 0.01)		
Nitritos (NO ⁻) (μM)	▼ 2.40 ± 0.80	▲ 8.85 ± 0.99	5.33 ± 0.53
	< 25 vs 25 - 49 (P < 0.001) 25 - 49 vs >49 (P < 0.01)		
SOD (U/mL)	▼ 8.36 ± 0.65	8.98 ± 0.38	▲ 9.87 ± 0.32
Grupos tiol (Glutación) (μM)	7.68 ± 0.55	▼ 7.38 ± 0.40	▲ 7.87 ± 0.34
Vitamina C (mM)	▼ 0.60 ± 0.60	1.10 ± 0.06	▲ 1.24 ± 0.05
	< 25 vs 25 - 49 (P < 0.001) < 25 vs >49 (P < 0.001)		
AAox ttal (mM)	▲ 7.57 ± 0.56	▼ 4.93 ± 0.34	6.14 ± 0.50
	< 25 vs 25-49 (P < 0.05)		

Los valores están expresados como media ± EE (intervalos de confianza al 95%); ▲ Concentración alta; ▼ Concentración baja.

3.1 PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACIÓN

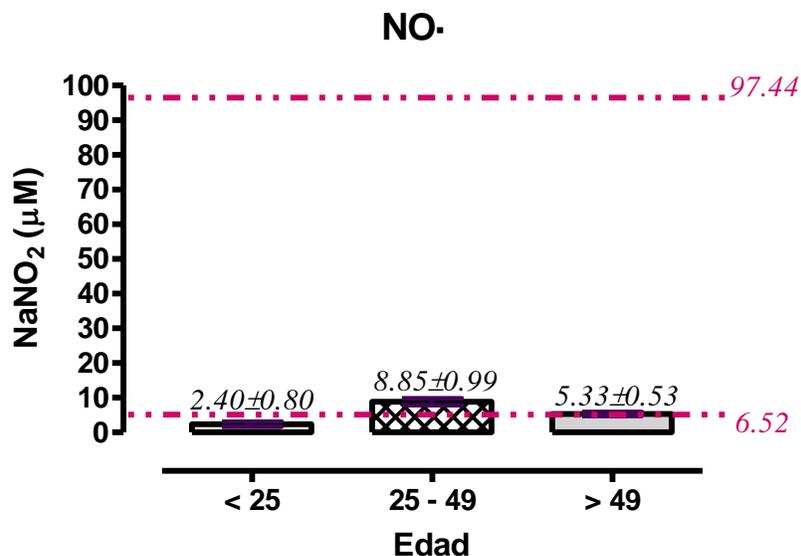


Gráfica 9. Productos avanzados de la glicosilación con respecto a la edad del paciente con IRC.

Parameter	Value	25 - 49	> 49	≥ 50
Media	14.54	13.39	12.06	
Error estándar	0.54	0.32	0.25	
Tukey's Multiple Comparison Test	Prueba de comparación múltiple Tukey	q	Valor de P	95% CI of diff
< 25 vs 25 - 49	1.143	2.641	P > 0.05	-0.3062 to 2.593
< 25 vs > 49	2.479	5.994	P < 0.001	1.094 to 3.863
25 - 49 vs > 49	1.335	4.686	P < 0.01	0.3811 to 2.289

Los pacientes mayores de 49 años tienen una disminución significativa de AGEs con respecto a los pacientes menores de 25 ($P < 0.001$) y entre 25-49 ($P < 0.01$) años de edad.

3.2 NITRITOS

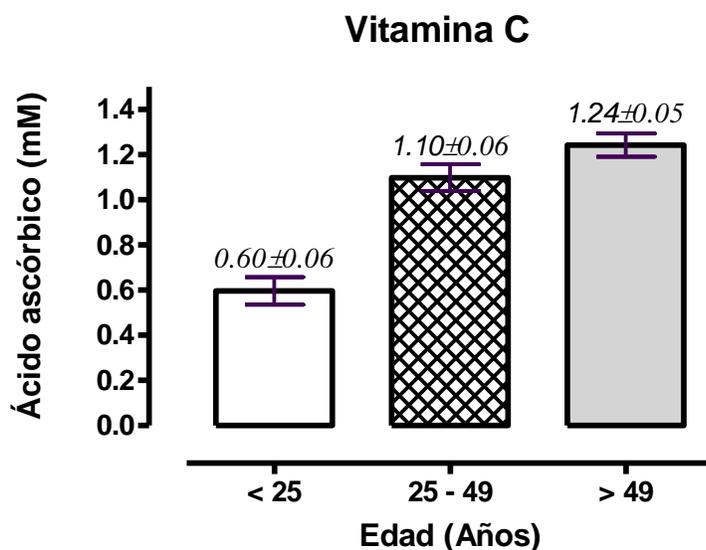


Gráfica 10. Nitritos con respecto a la edad del paciente nefrótico.

Parameter	Value	25 - 49	> 49	≥ 50
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff	q	Valor P	P value
< 25 vs 25 - 49	6.452	6.443	P < 0.001	95% CI of diff
< 25 vs > 49	-2.933	3.073	P > 0.05	-6.131 to 0.2653
25 - 49 vs > 49	3.319	5.012	P < 0.001	1.167 to 5.872
25 - 49 vs ≥ 50			P < 0.01	

Los pacientes con edad entre 25-49 años tiene un aumento significativo en la concentración de nitritos con respecto a los menores de 25 años ($P < 0.001$) y con los mayores de 49 años de edad ($P < 0.01$).

3.2 VITAMINA C

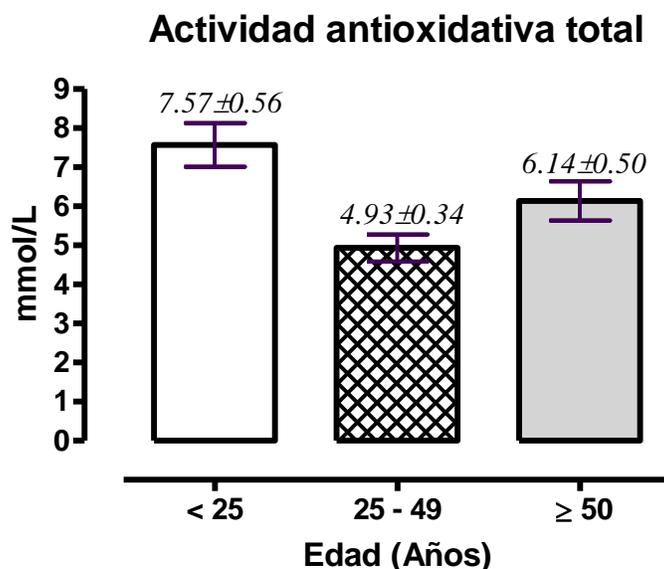


Gráfica 11. Vitamina C con respecto a la edad del paciente.

Parameter	Value	25 - 49	> 49	≥ 50
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff	q	Valor de P	P value
< 25 vs 25 - 49	-0.5023	6.385	P < 0.001	95% CI of diff
< 25 vs > 49	-0.6461	8.565	P < 0.001	-0.8988 to -0.3934
25 - 49 vs > 49	0.1437	2.791	P < 0.001	-0.3220 to 0.03451
< 25 vs > 49	0.60	1.10	1.24	P < 0.001
Media				
Error estándar	0.061	0.06	0.05	

Los pacientes menores de 25 años, tiene una disminución significativa de vitamina C ($P < 0.001$) en comparación con los pacientes de edad entre 25–49 y los mayores de 49 años.

3.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDATIVA TOTAL



Gráfica 12. Capacidad antioxidativa total con respecto a la edad de los pacientes con IRC.

Parameter	Value	25 - 49	≥ 50	≥ 50
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
< 25 vs 25 - 49	2.640	4.118	P < 0.05	0.4915 to 4.788
< 25 vs 3 50	1.438	2.356	P > 0.05	-0.6070 to 3.482
25 - 49 vs 3 50	1.202	2.648	P > 0.05	-2.723 to 0.3192

Hay un aumento significativo en la capacidad antioxidativa total en los pacientes (P<0.05) menores de 25 años en comparación con los que tienen entre 25-49 años de edad.

4. RESULTADOS DE LOS DIFERENTES BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN EL GÉNERO DEL PACIENTE NEFRÓPATA.

No hay diferencias significativas en los productos de la oxidación ni en antioxidantes, sin embargo, en la siguiente tabla están los resultados de cada determinación.

Cuadro 14. Resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo con respecto al género del paciente nefrótico.

BIOMARCADORES	GÉNERO DEL PACIENTE	
	M	H
Carbonilos (nmol/L)	▲ 67.74 ± 15.29	▼ 57.15 ± 0.65
H ₂ O ₂ (μM)	▲ 4459 ± 211.50	▼ 4269 ± 174.80
AGEs (UAF)	▼ 12.38 ± 0.26	▲ 13.18 ± 0.26
MDA (μM)	▼ 11.21 ± 0.59	▲ 11.50 ± 0.60
AOPPs (μM)	▲ 84.22 ± 3.07	▼ 78.26 ± 2.37
Nitritos (NO [•]) (μM)	▼ 5.539 ± 0.61	▲ 6.614 ± 0.67
SOD (U/mL)	▼ 9.125 ± 0.35	▲ 9.529 ± 0.31
Vitamina C (mM)	▼ 1.078 ± 0.05	▲ 1.128 ± 0.05
AAox t _{tal} (mM)	▲ 6.00 ± 0.31	▼ 5.88 ± 0.47
Grupos tiol (Glutación) (μM)	▲ 7.738 ± 0.35	▼ 7.628 ± 0.32

▲ Concentración mayor; ▼ Concentración menor; M, Mujeres; H, Hombres; □, Productos de la oxidación y oxidantes; □, Antioxidantes.

CAPITULO CINCO: DISCUSIÓN

El estrés oxidativo ha surgido en los últimos años como una característica constante en la IRC. En diversos informes se ha publicado que los pacientes con IRC hay aumento en los marcadores de la oxidación de proteínas (AOPPs), peroxidación lipídica (TBARS, MDA, 4-Hidroxinonenal, LDL oxidados, etc.), así como de la oxidación de carbohidratos y ácidos nucleicos en comparación con las personas sanas y también una disminución de los niveles de vitamina C, selenio, GPx , SOD y de la actividad antioxidativa total (Schonermarck, et al, 2006; Ersoy y Dilek, 1999; Witko-Sarsat et al, 1996; Marjani, 2005; Horoz et al, 2006). Se conoce que los AOPPs en los pacientes nefrópatas tratados con hemodiálisis son más elevados que en los pacientes en DPCA (Witko-Sarsat et al, 1996). Y que la hemodiálisis sólo tiene un limitado y transitorio efecto benéfico sobre la situación redox de los grupos tiol de las proteínas plasmáticas al presentar un aumento significativo en plasma de proteínas tiol después del procedimiento de hemodiálisis en comparación con el período de prediálisis (Himmelfarb et al, 2004).

Los pacientes con IRC tratados con hemodiálisis son los que presentan mayor cantidad de AGEs y menor concentración de vitamina C que los pacientes tratados con diálisis peritoneal, posiblemente por dos principales razones: 1) hay acumulación de AGEs debido a que la DP elimina en mayor cantidad los AGEs que la HD, es decir, que en la DP se encuentran en menor cantidad al medirlos en el suero (Agalou et al, 2003). 2) porque en la HD hay mayor producción de ERO a causa de extraer la sangre y activar neutrófilos y monocitos; evento que no ocurre en la DP, a menos que exista algún proceso infeccioso o inflamatorio. La baja concentración de vitamina C se debe quizá a que en la HD hay mayor pérdida de moléculas de baja masa molecular. Hasta el momento se ha demostrado que en la HD hay mayor estrés oxidativo que en la DP, pero entre las dos hemodiálisis (institucional y subrogada) en la que hay mayor producción de ERO es en la HDs porque los pacientes tratados fuera del IMSS presentan mayor concentración de MDA marcador que indica que las ER atacaron las insaturaciones de los lípidos de la membrana celular; por tener menor cantidad del antioxidante glutatión en comparación con los pacientes tratados con HDi. La modalidad de diálisis en la que hay menor estrés oxidativo es la DPCA puesto que hay menor evidencia de la producción de ERO, al presentar los pacientes

niveles bajos de AGEs en comparación con la HDi y la HDs; al tener menor concentración de AOPPs comparada con la DPA y la HDi indicando con esto que hay menor alteración de proteínas causada por el ácido hipocloroso (HOCl) producido por neutrófilos y macrófagos (ICAO, et al, 2006; Zalba et al, 2006).

Los pacientes en DPCA presenta mejor estado antioxidante por tener niveles altos de grupos tiol en comparación con la DPA y la HDs; y por ser la terapia de remplazo renal en la que hay mayor concentración de ascorbato, por tanto, es más probable que se eliminen las ERO principalmente (O_2^- y $\cdot OH$) (Locatelli et al, 2003), además, es importante mencionar que los pacientes en esta modalidad tenían un filtrado residual de 3 mL/min comparado con los pacientes en HD que tenían un FR nulo.

Los pacientes menores de 25 años tienen un aumento significativo de AGEs con respecto al grupo mayor de 49 años; en cuanto a los antioxidantes, los pacientes menores de 25 años presentan una menor concentración significativa de ácido ascórbico en comparación con los mayores de 49 años y los de edad entre 25 y 49 años. Además son el grupo que presenta menor actividad de SOD, sin embargo, los pacientes menores de 25 años son los que presenta mayor actividad antioxidativa significativa comparada con los pacientes con edad entre 25–49 años, teóricamente son los que probablemente podrían neutralizar al $\cdot OH$ y así evitar la lipoperoxidación, lo cual no significa que no tengan esa facultad, lo que sucede es que la peroxidación no solo se lleva a cabo por el radical hidroxilo, en tanto, al revisar los resultados de MDA, nos indica que son el grupo que tiene mayor peroxidación de lípidos, de esta manera, se sustenta que el tener la capacidad sistémica de anular el $\cdot OH$ no evita el estrés oxidativo sistémico. Por lo tanto, el grupo de pacientes menores de 25 años es en el que hay mayor estrés oxidativo, lo cual ocasiona que el $NO\cdot$ disminuya significativamente en los pacientes menores de 25 años en comparación con los pacientes de edad entre 25-49 años de edad. En condiciones de aumento de estrés oxidativo, el $NO\cdot$ baja, provocando la inhibición de las enzimas citocromo P450 dependientes favoreciendo la producción de moléculas vasoconstrictoras, inflamación, daño vascular y de función renal (Modlinger, et al, 2004).

A pesar de no existir diferencias significativas en 4 biomarcadores de oxidación (carbonilos, peróxidos, malondialdehído y AOPPs) entre los tres grupos de pacientes de

diferentes edades; en los pacientes menores de 25 años hay mayor concentración de estos compuestos en comparación con los pacientes en edad entre 25 y 49 años.

Los pacientes mayores de 49 años presentan una disminución de AGEs y un aumento significativo de vitamina C en comparación con los menores de 25 años. Además, los pacientes mayores de 49 años tienen una mayor concentración de grupos tiol y mayor actividad de la enzima SOD en comparación con los pacientes menores de 25 años. Por tanto, al ser el grupo de pacientes que tiene mayores concentraciones de antioxidantes y menores concentraciones de productos de la oxidación, se tiene que son el grupo que posee menor estrés oxidativo, siguiéndole el grupo de pacientes entre 25 y 49 años de edad. El aumento de ERO en los pacientes menores de 25 años se puede deber a tres posibles razones: 1) el sistema inmune está más activo por la presencia de AGEs los cuales al interaccionar con sus receptores activan las células inmunitarias haciendo que se produzcan ERO y ERN, 2) por desplazarse o tener mayor movilidad aumenta la demanda de O_2 y al tener pérdida y alteraciones celulares en el riñón, se aumenta la generación de ERO a nivel mitocondrial, 3) finalmente porque las personas menores presentaban menor filtrado residual comparado con las personas mayores de 49 años.

En este estudio se encontró que los pacientes con IRC, no existen diferencias significativas en ninguno de los 10 biomarcadores de estrés oxidativo con respecto al género, por tanto, la producción de ERO y ERN no está relacionada con el sexo de los pacientes nefrópatas.

CAPITULO SEIS: CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVA

1. CONCLUSIÓN

Del presente trabajo se puede concluir que el tratamiento que causa mayor producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno es la hemodiálisis subrogada y en menor cantidad la hemodiálisis institucional, la diálisis peritoneal continua ambulatoria es la terapia de sustitución renal en la que hay menor estrés oxidativo; sin embargo, no significa que la hemodialisis subrogada es la menos conveniente para los pacientes con insuficiencia renal crónica, ni que la diálisis peritoneal continua ambulatoria es la mejor, simplemente, en estos resultados probablemente influyeron las condiciones de los pacientes en cada modalidad. El aumento de las especies reactivas en los pacientes en hemodiálisis es causado por la activación de las células del sistema inmune al paso de la sangre por la membrana y el sistema de hemodiálisis y de esta manera se genera aumento de estrés oxidativo en la hemodiálisis con respecto a la diálisis peritoneal.

Los pacientes menores de 25 años de edad, es el grupo que se encuentra más afectado por el aumento de especies reactivas y por la disminución de antioxidantes, en sentido opuesto, los pacientes nefrópatas mayores de 49 años de edad, son los que tienen menor daño oxidativo, probablemente por tener mayor filtrado residual.

Finalmente, no existen variaciones significativas en los antioxidantes y oxidantes de acuerdo al género.

2. PERSPECTIVA

Debido a que se conoce que la diálisis peritoneal continua ambulatoria es la modalidad en la que el paciente nefrópata tiene menor estrés oxidativo, ahora el siguiente paso es conocer las diferencias que presentan los biomarcadores del estrés oxidativo al comparar la utilización de la disolución de diálisis de glucosa e icodextrina administrada a los pacientes en diálisis peritoneal continua ambulatoria.

Parte de los resultados de esta tesis han sido presentados en el XXVII congreso nacional y XLIII reunión anual de nefrología XVIII curso bienal de diálisis ciudad de México,

Septiembre 2009; Y en el XXX congreso internacional de diálisis peritoneal en Seattle Washington, Febrero 2010. Además el análisis de este trabajo se presentó en Julio 2010 en el 13 ° Congreso de la ISPD en la ciudad de México.



NEFROLOGIA MEXICANA

REVISTA OFICIAL DEL COLEGIO DE NEFROLOGOS DE MEXICO
ANTES SOCIEDAD MEXICANA DE NEFROLOGIA, A. C.

FUNDADA EN 1967

ISSN: 0187-7801

JULIO-SEPTIEMBRE, 2009 / VOL. 30 / No. 3

Página Web: www.smn.org.mx
E-mail: nefromex@infosel.net.mx

NEFROLOGIA

HIPERTENSION

DIALISIS

TRASPLANTE



NEFROLOGIA MEXICANA

VOLÚMEN 30, NÚMERO 3

JULIO-SEPTIEMBRE, 2009

CONTENIDO:

RESÚMENES	- Resúmenes del XXVII Congreso Nacional de Nefrología y XVIII Reunión Anual del Colegio de Nefrólogos de México del 12 al 15 de Septiembre, 2009. México, D. F.	71
NOTICIAS Y AVISOS	- Noticias y Avisos.	105
INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES	- Instrucciones para los autores.	106

global es mayor que en la población con seguridad social, sin embargo, no hubo diferencia entre los grupos tratados con diálisis peritoneal y hemodiálisis. La mortalidad al año fue menor en el grupo tratado con diálisis peritoneal automatizada, en los pacientes no diabéticos y en los menores de 40 años.

49.- MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON DIFERENTES MODALIDADES DE DIALISIS.

Camilo Rodríguez-López, Juan M. Gallardo, Marcela Ávila, Ma. del Carmen Prado, Ma. de Jesús Ventura, Guadalupe Alcántara y José Ramón Paniagua. UIM - Enfermedades Nefrológicas, CMN "Siglo XXI", IMSS. México D. F.

INTRODUCCIÓN: Se conoce que en la enfermedad renal crónica terminal (ERCT) se incrementa el estrés oxidativo, sin embargo no hay información concluyente en los pacientes que son tratados con diálisis peritoneal. **OBJETIVO:** Comparar algunos de los marcadores de estrés oxidativo en pacientes con ERCT tratados con diferentes técnicas dialíticas. **Población y Métodos** Se estudiaron 617 pacientes con ERCT, 195 en DPCA (diálisis peritoneal continua ambulatoria), 114 en DPA (diálisis peritoneal automatizada), 233 en HD (hemodiálisis en el IMSS), y 75 en HDs (hemodiálisis subrogada). 346 son hombres (48.4 ± 17.9 años) y 271 mujeres (47.9 ± 18.2 años). Se determinó: malondialdehído (MDA), óxido nítrico (NO[•]), productos avanzados de la glucosilación (AGEs), productos avanzados de la oxidación de las proteínas (AOPPs), carbonilos totales, tioles, vitamina C y superóxido dismutasa (SOD). **RESULTADOS:** Encontramos que los AGEs se incrementan en la HD ($p < 0.001$) con respecto a la DP. Los pacientes en DP tienen mayor concentración de vitamina C que los pacientes en HD ($p < 0.001$). No encontramos diferencias significativas con otros marcadores como: AOPPs, MDA, NO, carbonilos totales, tioles, y SOD. **CONCLUSIONES:** Nuestros datos sugieren que los pacientes con ERCT y en tratamiento en HD se encuentran sometidos a un mayor daño oxidativo.

50.- CATETER Tal-PALINDROME DE DOBLE LUMEN PARA LA HEMODIALISIS.

J. Ocharan-Corcuera, E. Pampin, K Hurtado, A Azpiazu, I Jimeno, A Chena, B Aurrecoehea, R Ruiz-DE-Gauna. Osakidetza. Hospital Txagorritxu. Vitoria-Gasteiz. País Vasco. España. UE.

OBJETIVO: Valoración de un nuevo Catéter para Hemodiálisis. **MATERIAL:** Ocho pacientes de diálisis que están cateterizados con problemas de flujos con la necesidad de invertir las líneas debido a los flujos inadecuados. La recirculación de la sangre suele ocurrir con frecuencia, reduciendo la efectividad del tratamiento y potenciando los efectos nocivos de la salud del paciente. Una desventaja común en muchos de los diseños actuales de catéteres es el alto nivel de recirculación con los lúmenes invertidos.

METODOLOGÍA: Se implanta en el mismo lugar y con el mismo personal habitual. **RESULTADOS:** Se valora la técnica de implantación y las complicaciones al respecto. Se documenta los datos de efectividad y monitorización de los 8 pacientes. **CONCLUSIÓN:** El catéter de última generación Tal-PALINDROME permite invertir las líneas sin aumentar la recirculación del flujo sanguíneo gracias a su diseño exclusivo de la punta distal simétrica en forma de espiral en Z permite obtener altos flujos a baja presión en cualquier dirección del flujo.

51.- CORRELACION DEL HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO CON LA PERDIDA DE MASA OSEA DESPUES DEL TRASPLANTE RENAL.

Juan David Sánchez Alvarez, Mauro Joel Casanova Domínguez, José David Gutiérrez Valles, Servicio Nefrología-Trasplante UMAE 25, IMSS.

ANTECEDENTES: El trasplante renal es la forma óptima de terapia de reemplazo en la insuficiencia renal crónica. Se ha evidenciado pérdida de masa ósea en los primeros 6 meses postrasplante asociada al uso de esteroides. Los niveles de iPTH se emplean para la evaluación del hiperparatiroidismo secundario (HPTS) y su posible influencia en la enfermedad ósea postrasplante. **OBJETIVO:** Correlacionar el HPTS como factor de riesgo adicional al uso de esteroides en la pérdida de masa ósea en los primeros 3 meses postrasplante. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio observacional, longitudinal, prospectivo, no intervencionista, en pacientes adultos, ambos sexos, trasplantados de riñón en el Hospital de Especialidades N° 25. Se realizaron determinaciones bioquímicas de calcio, fósforo e iPTH, así como dos Tomografías Axial Computada de columna lumbar y cabeza de fémur para medir densidad ósea, aplicando estadística no paramétrica y descriptiva a los resultados, con un seguimiento a 3 meses. **RESULTADOS Y CONCLUSIÓN:** Se incluyeron 14 pacientes, encontrándose una disminución promedio de densidad ósea de 29HU a nivel cortical y 51HU en trabecular, se correlacionó el HPTS postrasplante con la disminución ósea no encontrándose diferencias significativas. Se concluye no se pudo demostrar la influencia del HPTS sobre la pérdida de masa ósea en el postrasplante.

52.- INDICACIONES NO RENALES DE LAS TERAPIAS DE REEMPLAZO RENAL LENTO CONTINUO.

Miguel Francisco López González*, Cynthia E. Mustieles Rocha. Pachuca, Hidalgo. México.

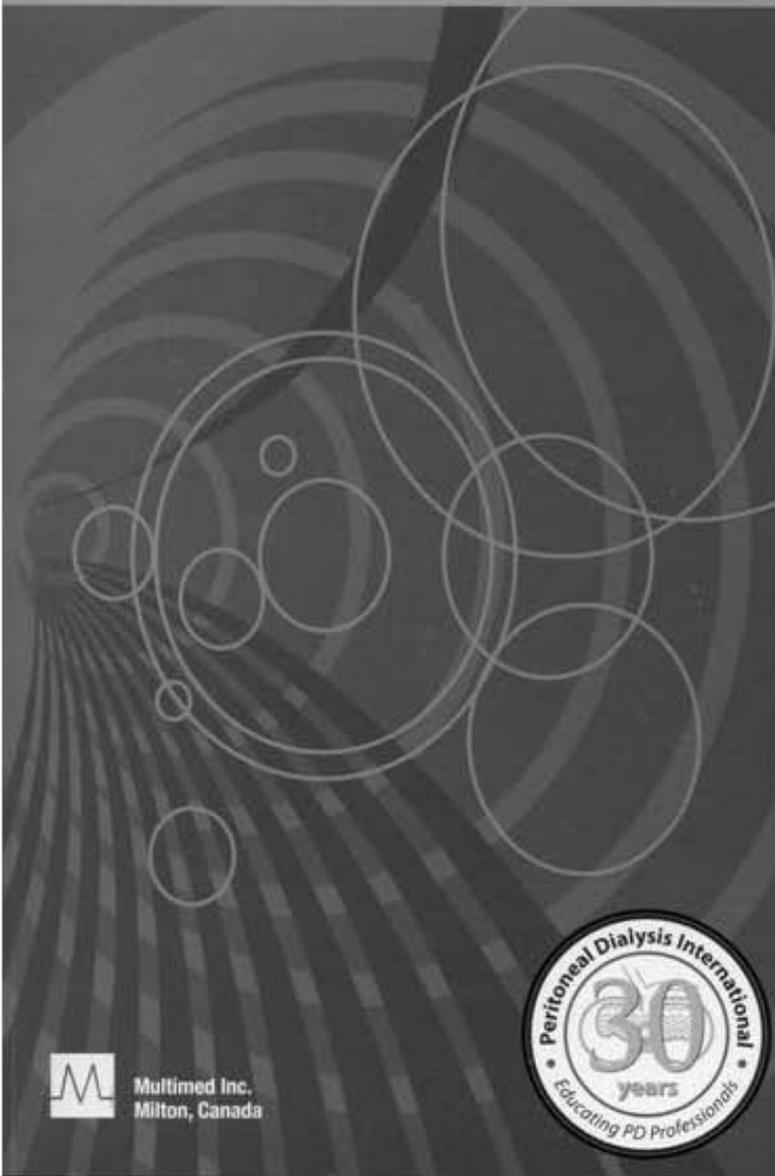
ANTECEDENTES: Por terapia de reemplazo renal lento continuo se entiende (CRRT) "Cualquier terapia extracorpórea que sustituya parcialmente la función renal deteriorada por periodos de 24 hrs." Desde los primeros reportes hechos por el Dr. Kramer P. y cols. En 1997 y el Dr. Buchardi H. y cols.

JOURNAL OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR PERITONEAL DIALYSIS

Peritoneal Dialysis



I N T E R N A T I O N A L



Multimed Inc.
Milton, Canada



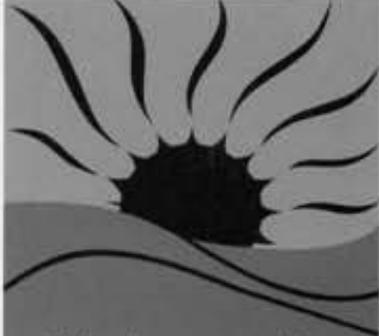
Volume 30, Supplement 1
February 2010

ABSTRACTS FROM THE



30th Annual Dialysis Conference

March 7-9, 2010
Seattle, Washington



Make plans to attend the
**Annual Dialysis
Conference**
February 20-22, 2011
Phoenix, Arizona
Abstract Deadline: October 4, 2010

som.missouri.edu/Dialysis

ISSN 0896-8608

Abstracts of the 30th Annual Conference on Peritoneal Dialysis

21st Annual Symposium on Pediatric Dialysis

*Officially Endorsed by
the International Society for Peritoneal Dialysis and
the American Society of Diagnostic and
Interventional Nephrology*

Seattle, Washington
March 7–9, 2010



MULTIMED INC.
MILTON, CANADA

For Conference Program, see pages P1 – P16
For Author Index, see pages S31 – S32

Topic Index

Access	S3	Kinetics	S18–S20
Adequacy	S3–S4	Nursing	S20–S22
Bone, Minerals, and Metabolism	S5–S6	Pediatrics	S22–S26
Clinical Experiences	S6–S14	Peritoneal Dialysis Systems	S26–S28
Education	S14–S15	Peritoneal Physiology	S28–S29
Infection and Inflammation	S15–S18	Quality Improvement	S29–S30

The opinions expressed in the abstracts are those of the authors and are not to be construed as the opinion of the publisher (Multimed Inc.) or the organizers of the 30th Annual Conference on Peritoneal Dialysis or the International Society for Peritoneal Dialysis.

Although the publisher (Multimed Inc.) has made every effort to accurately reproduce the abstracts, Multimed Inc. and the organizers of the 30th Annual Conference on Peritoneal Dialysis or the International Society for Peritoneal Dialysis assume no responsibility and/or liability for any errors and/or omissions in any abstract as published.

BONE, MINERALS, AND METABOLISM

Factors that Influence Phosphorus Level in Peritoneal Dialysis Patients: a Cross-Sectional Study

Objectives: Previous studies have suggested that about 40% of peritoneal dialysis (PD) patients have phosphate levels (PO₄) ≥ 5.5 mg/dL. The goal of this study is to find factors that are associated with elevated PO₄ levels in a large cohort of PD patients. **Methods:** Data from 330 PD patients (18% on continuous ambulatory PD and 82% on continuous cycling PD) treated at Renal Research Institute clinics were cross-sectionally studied. PO₄ levels were noted and correlated with dialysis adequacy (dKt/V), dialysis creatinine clearance (dCrCl), residual renal function (RRF), normalized protein catabolic rate (nPCR), and intact parathyroid hormone (iPTH). Analyses were performed using Pearson correlation (*r*) and ANOVA. **Results:** Mean \pm SD phosphorus level in the 330 patients was 5.1 \pm 1.5 mg/dL; mean \pm SD dKt/V was 1.76 \pm 5.7. Significant relationships were observed between PO₄ and nPCR ($r=0.190$, $p=0.001$) and between PO₄ and iPTH ($r=0.22$, $p=0.001$). There was not a significant relationship between PO₄ and dKt/V and dCrCl. In the group of patients with no RRF, mean PO₄ level was 5.27 mg/dL; in patients with RRF >5 mL/min, mean PO₄ was 4.61 mg/dL. In patients with RRF of >0 and ≤ 3 and >3 and ≤ 5 , mean PO₄ levels were 5.35 and 5.16 respectively. The relationship between PO₄ and the 4 RRF groups is significant by ANOVA analysis ($p=0.034$). Post hoc Tukey analysis shows statistically significant differences in PO₄ levels between groups with RRF <3 mL/min and RRF >5 mL/min. **Conclusions:** In this cross-sectional study of 330 patients on PD, significant correlations were found between PO₄ and RRF (negative), PO₄ and nPCR (positive), and PO₄ and iPTH (positive). These data support the hypothesis that phosphate levels in PD patients are directly related to residual renal function and protein intake. The adequacy of dialysis did not correlate with PO₄ levels. As residual renal function declines in PD patients over time, maintenance of adequate PO₄ levels is challenging. Emphasis needs to be placed on preserving residual renal function in PD patients.

Cernil A,¹ Usvyat L,² Finkelstein F,³ Levin N.W.² Hospital of St. Raphael,¹ New Haven, Connecticut; Renal Research Institute,² New York, NY; Yale University,³ New Haven, CT, U.S.A.

Oxidative Stress Markers in Patients with Different Dialysis Modalities

Background: It is known that chronic kidney disease (CKD) increases oxidative stress; however, there is no conclusive information about patients who are treated with peritoneal dialysis.

Objective: To compare some of the markers of oxidative stress in patients with CKD treated with different dialytic techniques.

Population and Methods: We studied 617 patients with end-stage renal disease: 195 on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD); 114 on automated peritoneal dialysis (APD); 308 in hemodialysis (HD). 346 are men (48.4 \pm 17.9 years) and 271 women (47.9 \pm 18.2 years). We determined malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NOx), advanced glycosylation products (AGEs), advanced oxidation products of proteins (AOPP), total carbonyls, thiols, vitamin C, and superoxide dismutase (SOD).

Results: We found that AGEs are increased in HD (14.06 \pm 0.26 AUF) ($p<0.001$) compared with PD (11.06 \pm 0.25 AUF). Patients on PD have higher concentration of vitamin C (1.28 \pm 0.05) versus HD patients (0.94 \pm 0.05) ($p<0.001$). No significant differences were found with other markers such as AOPP, MDA, NOx, total carbonyls, thiols, and SOD.

Conclusions: Our data suggest that patients with CKD in HD treatment suffer increased oxidative damage.

Gallardo J.M., Rodríguez-López C., Ávila M., Prado M.C., Ventura M.J., Alcántara G., Paniagua R. Enfermedades Nefrológicas, UIM, CMN "Siglo XXI," IMSS, México, D.F., México.

Predictors of Bone Mineral Density (BMD) in Dialyzed and Nondialyzed Patients with Chronic Kidney Disease (CKD)

Background: The aim of our study was to assess predictors of BMD in CKD patients with declined renal function.

Patients and Methods: The study was performed in 106 patients: 26 treated with peritoneal dialysis (PD; 15 women, age 55.7 \pm 17.7 years, dialysis vintage 16.6, 6.3–45.5 months), 60 on hemodialysis (HD; 26 women, age 54.8 \pm 15.3 years, dialysis vintage 36.9, 6.0–279.6 months), and 20 in stage 2–3 of CKD (11 women, age 49.4 \pm 15.8 years). BMD was measured in the femoral neck. Anthropometric measurements assessing nutritional state and routinely measured laboratory parameters were estimated in all examined patients.

Results: Femoral neck BMD in PD patients was 0.842 \pm 0.137 g/cm², 0.813 \pm 0.204 g/cm² in HD group, and 0.988 \pm 0.197 g/cm² in stage 2–3 CKD group. PD ($p=0.013$) and HD ($p=0.000$) patients had lower neck BMD than stage 2–3 CKD group. In the stepwise backward regression analysis with all patients included, gender, age, BMI, serum albumin, creatinine, parathyroid hormone (PTH), blood pH, and dialysis modality were significant predictors of BMD (corr. R² for the model=0.975), with pH being the most powerful predictor (beta=0.872, $p=0.000$). C-reactive protein, phosphates, and total cholesterol were found to be out of the model. In PD and HD patients the most powerful predictor of BMD was blood pH (beta=1.207, $p=0.000$ and beta=1.160, $p=0.000$ respectively); in stage 2–3 CKD group, serum PTH (beta=-0.824, $p=0.000$). 58% of HD, 42% of PD, and 15% of stage 2–3 CKD patients showed mild to severe metabolic acidosis.

Conclusions: Blood pH is a powerful predictor of BMD in CKD patients, especially those undergoing dialysis treatment. We expect better preservation of BMD in CKD patients by more rigorous treatment of acid-base imbalance.

Mlot-Michalska M., Grzegorzewska A. Chair and Department of Nephrology, Transplantology and Internal Diseases, University of Medical Sciences, Poznań, Poland.

Efficacy and Safety of Ezetimibe and Low-Dose Simvastatin as Primary Treatment for Dyslipidemia in Peritoneal Dialysis Patients

Background/Aim: We previously reported that the level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was higher in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) than in patients on hemodialysis (HD). When statin therapy is administered to patients on CAPD, one of the problems associated with reaching the LDL-C target during statin treatment is the emergence of laboratory or clinical side effects. The aim of our study was to evaluate the efficacy and tolerability of treatment with ezetimibe/simvastatin 10/10 mg/day in patients receiving CAPD.

Subjects: 12 CAPD patients who suffered from adverse effects of statin therapy were enrolled in this study. The current statin therapy was suspended for 1 month (washout period) and then the patients were shifted to treatment with ezetimibe/simvastatin 10/10 mg/day and again monitored for adverse events in the subsequent 12 months. We assessed body mass index and levels of glycated hemoglobin, fasting plasma glucose, total cholesterol, LDL-C, triglycerides, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and creatinine phosphokinase, and monitored adverse events such as asthenia and myalgia.

Results: Ezetimibe and low-dose simvastatin significantly reduced the levels of total cholesterol (by a mean of 30.3%), triglyceride (by 11.0%), and LDL-C (by 62.0%), and 11 patients (92%) reached the target LDL-C level of <100 mg/dL. No significant change in weekly creatinine clearance occurred, and no serious adverse effects were observed. No patients developed muscle pain or weakness and an increase in creatinine kinase level was not found. Residual renal function decreased, although not significantly compared with the initial values.

Conclusions: Ezetimibe and low-dose statin treatment is safe and effective as a primary treatment for dyslipidemia in CAPD patients.

Suzuki H., Inoue T., Watanabe Y., Kikuta T., Sato T., Tsuda M., Arai J. Department of Nephrology, Saitama Medical University, Irumagun, Saitama, Japan.

REFERENCIAS

1. Abu-Soud HM, Hazen SL, 2000, "Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase", *J Biol Chem*, 275: 5425-5430.
2. Agalou S, Ahmed N, Dawnay A and Thornalley PJ, 2003, "Removal of advanced glycation end products in clinical renal failure by peritoneal diálisis and haemodialysis", *Biochemical Society Transactions*, 31: 6-9.
3. Albrich JM, McCarthy CA, Hurst JK, 1981, "Biological reactivity of hypochlorous acid: Implications for microbicidal mechanisms of leukocyte myeloperoxidase", *Proc Natl Acad Sci USA*, 78: 210-214.
4. Ayra Rivas M, Díaz Horta O, 1999, "Productos de la glicosilación avanzada y diabetes mellitus", *Revista Cubana End*, 10, 1: 57-64.
5. Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W, 2002, "The neutrophil NADPH oxidase", *Arch Biochem Biophys*, 397: 342-366.
6. Babior BM, 1978, "Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes", *N England J Med*, 298: 659-668.
7. Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK, 1999, "Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis", *Curr Sci*, 77: 658-666.
8. Beckman J, Beckman T, Chen J, Marshal P, Freeman B, 1987 "Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide", *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1620-1624.
9. Berger TM, Polidori MC, Dabbagh A, Evans PJ, Halliwell B, Morrow JD et al, 1997, "Antioxidant activity of vitamin C in iron-overload human plasma", *J Biol Chem*, 272: 15656-15660.
10. Betancourt Valladares M, González de la Cruz Y L, Vidor Guerra E, Miranda Naranjo M, Méndez M J, 2007, "Daño oxidativo a lípidos y proteínas en la insuficiencia renal crónica experimental", *Rev Electron Biomed / Electron J Biomed*, 3: 18-28.
11. Bodamyali T, Stevens C, Blake D, Winyard P, 2000, "Reactive oxygen/nitrogen species and acute inflammation: A physiological process: Free Radicals and Inflammation", Winyard P Blake D y Evans ed. Berlin, 11-16.

12. Boulanger E, Moranne O, Wautier Marie-Paule, Witko-Sarsat V, Descamps-Latscha B, Kandoussi A, Grossin N and Wautier Jean-Luc, 2006, "Changes in glycation and oxidation markers in patients starting peritoneal dialysis: a pilot study", *Peritoneal Dialysis International*, 26: 207–212.
13. Bredt DS y Snyder SH, 1994, "Nitric oxide: A physiologic messenger molecule", *Biochem*, 63: 175-195.
14. Buege J A y Aust S D, 1978, "Microsomal lipid peroxidation", *Methods Enzymol*, 52: 302-310.
15. Candeias LP, Patel KB, Stratford MR, Wardman P, 1993. "Free hydroxyl radicals are formed on reaction between the neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid", *FEBS, Lett*, 333: 151-153.
16. Carr A, Frei B, 1999, "Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions", *FASEB J*, 13: 1007-1024.
17. Carrillo N, Valle E M, 2002, "El Lado Oscuro del Oxígeno", Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha, 531.
18. Chance B, Sies H, Boveris A, 1979, "Hydroperoxide metabolism in mammalian organs", *Physiol Rev* 59: 527-605.
19. Chatoth DK, Golper TA, Gokal R, 1999. "Morbidity and mortality in redefining adequacy of peritoneal dialysis: A step beyond the National Kidney Foundation dialysis outcomes quality initiative", *Am J Kidney Dis*, 33, 4: 617-632.
20. Chirino I, Orozco-Ibarra M, Pedraza-Chaverri J. "Evidencias de la participación del peroxinitrito en diversas enfermedades", *Rev Inv Clin* 58: 350-358.
21. Choi P, 2003, "Peritoneal Dialysis", *Medicine* 70-73.
22. Chu FF y Esworthy RS, 1995, "The expression of an intestinal form of glutathione peroxidase (GSHPx-GI) in rat intestinal epithelium", *Arch Biochem Biophys*, 323: 288-294.
23. Constanzo SL, 1998, "Fisiología", PhD McGraw-Hill, México.
24. Coon MJ, Ding X, Pernecky SJ, Vaz AND, 1992, "Cytochrome P450: Progress and predictions", *FASEB J*, 6: 669-673.
25. Coordinación de Afiliación al Régimen Obligatorio, Coordinación de Prestaciones Económicas. (<http://www.imss.gob.mx/NR/rdonlyres/EDDDD0B1-1D1A-4767-AEF8-7198B642FB28/0/pd010208.htm>, acceso en mayo 2008).

26. Cuzzocrea S, McDonald MC, Mazzon E, Siriwardena D, Costantino G, Fulia F, Cucinotta G, Gitto E, Cordaro S, Barberi I, De Sarro A, Caputi A, Thiemermann C, 2000, "Effects of tempol a membrane-permeable radical scavenger in a gerbil model of brain injury", *Brain Research, Elsevier Science, Netherlands*, 875, 96-106.
27. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R, 2003, "Protein carbonyl group as biomarker of oxidative stress", *Clin Chem Acta*, 329: 1-2: 23-38.
28. Davies KLA, Delsignore ME y Lin SW, 1987, "Protein damage and degradation by oxygen radicals", *J Biol Chem*, 262: 9895-9901.
29. Dawson TM y Dawson VL, 1995, "Nitric oxide: Actions and pathological roles", *The Neuroscientist* 1: 7-18.
30. Domínguez López M, "Actividad antiinflamatoria y antioxidante de las especies *Barkleyanthus salicifolius* Kunth y *Penstemon gentianoides* HBK", UNAM, 2007.
31. Ersoy A, Dilek K, 1999, "Red blood cell membrane lipid peroxidation and changes of antioxidative homeostasis in patients on chronic hemodialysis", *Office Journal of the Turkish Nephrology Association*, 8: 1-4.
32. Finkel Toren y Holbrook Nikki J, 2000, "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing", *Nature*, 408: 239-247.
33. Flohé L, Beckmann R, Giertz H, Loschen G, 1985, "Oxygen centered free radicals as mediators of inflammation, In *Oxidative Stress*", H Sies, ed. Academic Press, Orlando Florida, 403-435.
34. Foote CS, Gozne TE, Lehrer RI, 1983, "Assesment of chlorination by human neutrophils", *Nature*, 301: 715-726.
35. Frei B, Stocker R, England L y Ames BN, 1990, "Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma", *Adv Exp Med Biol*, 264: 155-163.
36. Frei B, 1999, "On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction", *PSEBM*, 222: 196-204.
37. Fridovich I, 1975, "Superoxide dismutases", *Annu Rev Biochem*, 44: 147-159.
38. Fridovich I. 1978. "Superoxide dismutases", *Science*, 201: 875-880.
39. Fridovich I. 1995. "Superoxide radical and superoxide dismutases", *Annu Rev Biochem*, 64: 97-112.
40. Gallardo JM, 2007, "Evaluación del sistema antioxidante en el semen normal", *Revista de Investigación Clínica*, 59, 1: 42- 47.

41. Gamba G, 2000, "En busca de factores pronósticos en diálisis peritoneal continua ambulatoria", *Rev Invest Clin*, 52: 565-568.
42. García Navazo G, 2008, "Síntesis y actividad de híbridos de losartán y antioxidantes", Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de Alcalá, 90.
43. Geronikaki A, Gavalas AM, 2006, "Antioxidants and Inflammatory Disease: Synthetic and Natural Antioxidants with Anti-Inflammatory Activity Combinatorial", *Chemistry & High Throughput Screening*, 9, 425-442.
44. Gobierno Vasco, Departamento de Sanidad, Servicio Vasco de Salud, Unidad Informativa de Pacientes Renales de la CAPV (UNIPAR) 1999. Informe Epidemiológico de Pacientes Renales 1997, Vitoria: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco.
45. Gómez-Fernández P, Pérez-Requena J, Sánchez-Margalet V, J Esteban, Murillo-Carretero M, Almaraz-Jiménez M, 2005, "Daño vascular en la insuficiencia renal crónica. El aumento de depósitos vasculares de nitrotirosina y citocinas se acompaña de una elevación de la expresión vascular de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)", *Nefrología*, XXV, Número 2.
46. Gonsalves-Ebrahim L, Gullledge AD y Miga S, 1982, "Continuous ambulatory peritoneal dialysis: psychological factors" *Psychosomatics*, 23, 9, 944-949.
47. González Rico M, MJ Puchades, R. García R, G. Sáez, MC Tormos y A. Miguel, 2006, "Efecto del tratamiento con hemodiálisis sobre el estrés oxidativo en pacientes con insuficiencia renal crónica", *Nefrología*, 26, 2.
48. Gray JI, 1978, "Measurement of lipid oxidation: a review", *Journal of the American Oil Chemist Society*, 55: 539-546.
49. Grisham M, Granger D, 1988, "Neutrophil-mediated mucosal injury", *Digestive Diseases and Science* 53, 6S-15S.
50. Guízar-Vázquez JJ, 2001, "Genética clínica: Diagnóstico de la enfermedad hereditaria" 3 ed, Ed El manual moderno, México.
51. Günthern B, Morgado Enrique, 2007, "Fisiopatología humana", Ed. Mediterraneo, Santiago, Chile.
52. Habeeb F, Collowick S, Kaplan N, 1966, "Reaction of protein sulfhydryl group with Ellman's reagent", *Methods in Enzymology*, Academic Press New York, EUA, 457-464.
53. Halliwell B, Chirico S, 1993, "Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance", *Am J Clin Nutr*, 57: 715s-725s.

54. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE, 1992, "Free radicals, antioxidants, and human disease", *Lab Clin Med*, 119: 598-620.
55. Halliwell B, Gutteridge J, 1989, "Free Radicals in Biology and Medicine", 2 ed., Published in the United States by Oxford University Press Inc, New York, 416-469.
56. Halliwell B, Gutteridge J, 1984, "Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy", *Lancet*, 1396-1397.
57. Halliwell B, 1996, "Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo", *Free Radic Res*, 25: 439-454.
58. Hansberg-Torres W, 2002, "Biología de las especies de oxígeno reactivas In: Mensaje Bioquímico", (Eds. Cea Bonilla A, del Arenal MENA IP, Riveros Rosas H., Vásquez-Contreras E), Depto. Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, México DF, XXVI.
59. Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN, 1998, "Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation", *J Agric Food Chem* 46: 4107-4112.
60. Henle T, Deppisch R, Beck W, Hergesell O, Hansch G, Ritz E, 1999, "Advanced glycated end-products (AGE) during haemodialysis treatment: discrepant results with different methodologies reflecting the heterogeneity of AGE compounds", *Nephrol Dial Transplant*, 14: 1968-1975.
61. Hermes-Lima M, 2004, "Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals Functional Metabolism", Regulation and adaptation, edited by Kenneth B Storey, Cap 12: 319-368.
62. Hicks J, 2001, "Bioquímica", Mc Graw-Hill Interamericana, México, 900.
63. Horoz Mehmet, Bolukbas Cengiz, F Bolukbas, Filiz Aslan, Mehmet O, Koylu, Ahmet, Selek Sahbettin y Erel Ozcan, 2006, "Oxidative stress in hepatitis C infected end-stage renal disease Subjects", *BMC Infectious Diseases*, 6: 114.
64. Hsu Ch, Chertow G, 2000, "Chronic renal confusion: Insufficiency, failure, dysfunction or disease", *Am J Kidney Dis*, 36: 415-418.
65. Huang A, Vita JA, Venema RC, Keaney JF Jr, 2000, "Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin", *J Biol Chem*, 275: 17399-17406.
66. Hurst J, Barrette W, 1989, "Leukocytic oxygen activation and microbicidal oxidative toxins", *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 24, 271-328.

67. Ischiropoulos H, Mehdi AB, 1995, "Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications", *FEBS Lett*, 364: 279-282.
68. Iwao Yasunori, Anraku Makoto, Hiraike Mikako, Kawai Keiichi, Nakajou Keisuke, KAI Tosía, Suenaga Ayaka y Otagiri Masaka, 2006, "The Structural and Pharmacokinetic Properties of Oxidized Human Serum Albumin, Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)", *Drug Metab. Pharmacokinet.* 21, 2: 140–146.
69. Izawa S, Inoue Y, Kimura A, 1996, "Importance of catalase in the adaptative response to hydrogen peroxide", *Analysis of Acatalasemic Saccharomyces cerevisiae*, *Biochem J*, 320, 1: 61-67.
70. Jiang Z-Y, Hunt JV, Wolf SP, 1992, "Ferrous ion oxidation in the presence of the xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low-density lipoprotein" *Anal Biochem*, 202: 384-389.
71. Jiménez Vázquez G, 2008, "Intervención en crisis en pacientes con insuficiencia renal crónica", Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Psicología, trabajo final de diplomado, México DF.
72. Jyothi P, Riyaz Najeeba, Nandakumar G, Binitha MP, 2008, "A study of oxidative stress in paucibacillary and multibacillary leprosy", *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 74, 80-86.
73. K/DOQI, 2002, "Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification and stratification", *Am J Kidney Dis*, 39, Sup: 1, 46-64.
74. Kalousova L, Skrha J, Zima T, 2002, "Advanced glycation end-products and advanced protein products in patients with diabetes mellitus", *Physiological research*, 51: 597- 604.
75. Kettle AJ, Winterbourn CC, 1994, "Assays for the chlorination activity of myeloperoxidase", *Methods Enzymol*, 233: 502-512.
76. Kettle AJ, Winterbourn CC, 1997, "Myeloperoxidase: A key regulator of neutrophil oxidant production" *Redox*, 3: 3-15.
77. Kidney Disease Outcome Quality Initiative, 2002, "Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification", *Am J Kidney Dis*, 39, sup 2: S1-S46.
78. Klebanoff SJ, Clark RA, 1978, "The neutrophil: functions and clinical disorders", Amsterdam, Elsevier Scientific Publishing Co.
79. Konigsberg Fainstein M, 2008, "Radicales libre y estrés oxidativo: aplicaciones médicas", Ed. Manual moderno.

80. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, 2001, "Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids", *J. Clin. Pathol*, 54: 356-361.
81. Krinsky NI, 1974, "Singlet excited oxygen as a mediator of the antibacterial action of leukocytes", *Science* 186: 363-365.
82. Latarjet M, Ruiz LA, 2005, "Anatomia humana", 4 ed, Ed Panamericana, Tomo II, Buenos Aires, Argentina.
83. Lee HL, Halliwell B, 2001, "Antioxidant & prooxidant habilities of foods and beverages", *Methods Enzimol*, 335: 181-190.
84. Lelli JL, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB, 1998, "ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant injured endothelial cell", *Free Rad Biol Med*, 25: 694-698.
85. Levine RL, William JA, Stadman ER, Shacter E, 1994, "Carbonyl assay for determination of oxidatively modified proteins", *Meth Enzymol*, 223: 343-357.
86. Lizcano Losada F, 2005, "Fundamentos moleculares en Medicina", Ed. Manual moderno, 268.
87. Locatelli Francesco, Canaud Bernard, Eckardt Kai-Uwe, Stenvinkel Peter, Wanner Christoph y Zoccali Carmine, 2003, "Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome", *Nephrol Dial Transplant*, 18: 1272-1280.
88. López Barea J, Bárcena JA, Bocanegra JA, Florindo J, 1990, "Glutation Metabolism and Physiological Functions", Boca Ratón FL, Vol. 1, 105-116.
89. Magaz Lago A, 2003, "Efectos psicológicos de la insuficiencia renal crónica: diferencias en función de los tratamientos médicos", Universidad de Deusto, Tesis doctoral, Bilbao.
90. Marjani A, 2005, "Effect of haemodialysis on plasma lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzyme activities in Gorgan (south east of Caspian sea)", *J Nephrol*, 15: 214-217.
91. Marnett LJ, 1999, "Lipid Peroxidation, DNA damage by malondialdehyde", *Mutation research*, 424, 1-2: 83-95.
92. Marquez LA, Dunford HB, Van Wart H, 1990, "Kinetic studies on the reaction of compound II of myeloperoxidase with ascorbic acid. Role of ascorbic acid in myeloperoxidase functions", *J Biol Chem*, 265: 5666-5670.
93. Matés JM y Sánchez-Jiménez F, 1999, "Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes", *Front in Biosci*, 4: 335-345.

94. May JM, Cobb CE, Mendiratta S, Hill KE, Burk RF, 1997, "Reduction of the ascorbyl free radical to ascorbate by thioredoxin reductase", *J Biol Chem*, 272: 22607-22610.
95. Mckee Trudg, James R, 2003, "Bioquímica, la base molecular de la vida", 3 ed., McGraw-Hill.
96. Mendiratta S, Qu ZC, May JM, 1998, "Enzyme-dependent ascorbate recycling in human erythrocytes, role of thioredoxin reductase", *Free Radic Biol Med*, 25: 221-228.
97. Metteuci E, Biasci E, Giampietro O, 2001, "Advanced oxidation protein products in plasma: stability during storage and correlation with other clinical characteristics", *Acta Diabetol*, 38: 187-189.
98. Michel T, Feron O, 1997, "Nitric oxide synthases: which, where, how and why", *J Clin Invest*, 100: 2146-2152.
99. Microsoft Encarta, 2009.
100. Mihara H, Uchiyama M, 1978, "Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test", *Anal Biochem*, 1: 271-278.
101. Morris AT, Ronco C, 2000, "Erythropoietin therapy in peritoneal dialysis patients", *Perit Dial Int*, 20, sup 2: S178-S182.
102. Morrisey PA, O'Brien NM, 1998, "Dietary antioxidants in health and disease", *Int Dairy J*, 8: 463-472.
103. Munch G, Keis R, Wessel A, Riesere P, Bhner U, Schinzel R, 1997, "Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA", *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 35: 669-677.
104. Nahas M y Bello AK, 2005, "Chronic kidney disease: the global challenge", *Lancet*, 365: 331-40.
105. Narro, Robles José, Rivero, Serrano Octavio, 2008, "Diagnóstico y tratamiento en la practica médica", 3 ed, Ed. El Manual moderno, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.
106. Nauseef WM, Malech HL, 1986, "Analysis of the peptide subunits of human neutrophil myeloperoxidase", *Blood*, 67: 1504-1507.

107. Nourooz-Zadeh J y Wollff SP, 1994, "Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine", *Anal Biochem*, 220: 403-409.
108. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmandi J, Birlouez-Aragon I, Wolff SP, 1995, "Measurement of hydroperoxides in edible oils using the ferrous oxidation in xylenol orange assay", *J Agric Food Chem*, 43: 17-21.
109. Ortega-Camarillo C, Guzmán-Grenfee AM, Hicks JJ, 1999, "Oxidation of Gonadotrophin (PMSG) by Oxygen Free Radicals Alters Its Structure and Hormonal Activity", *Mol. Reprod*, 52:264-268.
110. Pajuelo TM, Yamada AL, Florentini RE y Carranza AE, 2004, "Enzimas antioxidantes en cerebro de cobayos nativos de las grandes alturas", *Ciencia e Investigación VII (2)*, Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM.
111. Peiró C, Matesanz N, Nevado J, Lafuente N, Cercas E, Azcutia V et al, 2003, *Br J Pharmacol* 140: 681-690.
112. Peña JC, 2002, "Insuficiencia renal crónica, Nefrología clínica y trastornos del agua y electrolitos", 4 ed, Ed. Méndez Cervantes, México, 411-424.
113. Poole RK, 2005, "Nitric oxide and nitrosative stress tolerance in bacteria *Biochem*", *Soc. Trans.*, 33:176-180.
114. Prabhakar SS, 2004, "Nitric oxide and the kidney", *J Nephrol*, 14: 77-84.
115. Prieto P, Pineda M, Aguilar M, 1999, "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E", *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.
116. Ramírez Hernández MM, Fragoso Morales LE, Magaña Aquino M, Delgadillo Tejada MA, Velarde Del Rio LT, 2006, "Es posible abatir la mortalidad en un servicio de diálisis peritoneal", *Bioquímica*, 31: 88.
117. Reznick AZ, Packer L, 1994, "Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay", *Meth Enzymol*, 223: 357-363.
118. Rice-Evans C, Burdon R, 1993, "Free Radical-Lipid Interactions and their Pathological consequences", *Progress in Lipid Research*, 32: 71-110.
119. Rice-Evans CA, Miller NJ, 1996, "Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food" *Biochem Soc Trans*, 24: 790-795.

120. Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ, Jareño EJ, Romero B, Marin N, Roma J, 1998, "Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease", *Environ Hlth Perspect*, 106, Sup 5: 1229-1234.
121. Rossi JP, 2007, "La combinación de los azúcares con las biomoléculas, desde la cocina al organismo", *Medicina*, Buenos Aires, 67: 161-166.
122. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG, 1973, "Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase", *Science*, 179: 588-590.
123. Sanz GD y Botella GJ, 1990, "Tratamiento de la insuficiencia renal crónica con hemodiálisis", *Insuficiencia renal crónica Diálisis y trasplante renal*, Madrid España, 521-566.
124. Satue-Gracia MT, Heinonen IM, Frankel EN, 1997, "Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems", *J Agric Food Chem* 45: 3362-3367.
125. Schonermarck U, Dengler C, Ebeling F, Heydenreich M, Hillebrand GF, Samtleben W, 2006, "Comparative evaluation of oxidative and antioxidative capacity during high-flux hemodialysis using two different membranes", *Clin Nephrol*, 66: 357-363.
126. Selvaraj N, Bobby Z y Gopalakrishna SM, 2008, "Increased Glycation of Hemoglobin in Chronic Renal Failure Patients and Its Potential Role of Oxidative Stress", *Archives of Medical Research*, 39: 277-284.
127. Sies H, Sharov VS, Klotz LO y Briviba K, 1997, "Glutathione Peroxidase Protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase", *J Biol Chem*, 1997, 272, 44: 27812-27817.
128. Silvestre JA, Timmins GS, Davies MJ, 1998, "Photodynamically generated bovine serum albumin radicals: Evidence for damagee transfer and oxidation at cysteine and tryptophan residues", *Free Radic Biol Med*, 24, 5: 754-766.
129. Simón MT, Campos MJ, Calzada J, Vaquero V y Lozano C, "Anemización aguda en programa de hemodiálisis por aparición de tasa alta de cloraminas en el agua", *Servicio de Nefrología, Hospital Provincial Dialcentro, Madrid, España*.
130. Spuch AR, Judis MA, 2004, "Estudio de la calidad nutricional y susceptibilidad oxidativa de ciprinus carpio cultivados en la región centrochaqueña", *Universidad nacional del noreste comunicaciones científicas y tecnológicas*.

131. Stadyman ER, 1986, "Oxidation of proteins by mixed-fuction oxidation systems: implication in protein turnover agin and neutrophil fuction", Trends Biochem Sci, 11: 11-12.
132. Stepniewska J, Dolegowska B, Ciechanowski K, Kwiatkowska EM, Barbara y Chlubekb D, 2006, "Erythrocyte Antioxidant Defense System in Patients with Chronic Renal Failure According to the Hemodialysis Conditions", Archives of Medical Research, 37, 353-359.
133. Stocker R y Keaney JF Jr, 2004, "Role of oxidative modifications in atherosclerosis", Phisiol Rev, 84: 1381-1478.
134. Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H, 2003, "Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction", Assay Sensors, 3, 276-284.
135. Tamba M, O'Neill P, 1991, "Redox reactions of thiol free radicals with the anti-oxidants ascorbate and chlorpromazine: role in radioprotection", J Chem Soc Perkin Trans, 2: 1681-1685.
136. Tang B, Zhang L, Hua Ji-Xi, Li Ping, Zhang Hui, Zhao Yan-Xiu, 2004, "Indirect determination of superoxide anion radical in the plant of red sage based on vanillin-8-aminoquinoline with fluorescence", Anal Chim Acta, 502: 125-131.
137. Thomas EL, Jefferson MM, Grisham MB, 1982, "Myeloperoxidase-catalyzed incorporation of amines into proteins: role of hypochlorous acid and dichloramines", Biochemistry, 21: 6299-6308.
138. Tilman Grune (Edited), 2005, "Free Radicals and Diseases: Gene Expression, Cellular Metabolism and Pathophysiology", Ed. LOS Press, 15.
139. Tortora GJ, Reynolds G, 2002, "Principios de anatomía y fisiología", 9 ed, Ed Oxford.
140. Turrens JF, 2003, "Mitochondrial formation of reactive oxygen species", J Physio, 552, 2: 335-344.
141. United States Renal Data System, 1997, "The USRDS dialysis morbidity and mortality study: wave 2", Am J Kidney Dis, 30, 2 sup 1: s67-s85.
142. Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, et al, 1999, "Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation", Science 285: 1393-1396.
143. Vásquez ME, Tuena de Gómes M, 2002, "Mitochondria", una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos, Ed Prado SA de CV, México DF.

144. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martásek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H et al, 1998, "Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors", *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 9220-9225.
145. Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK, 2003, "Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency", *Kidney Int*, 63: 179-185.
146. Velázquez PM, Prieto BG y Contreras PR, 2004, "El envejecimiento y los radicales libres", *Ciencias* 75, Julio-Septiembre.
147. Vignais PV, 2002, "The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism", *Cell Mol Life Sci*, 59: 1428-1459.
148. Vlassara H, 1997, "Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications *Diabetes*, 46, Sup 2, S19-S25.
149. Weiss S, 1989, "Tissue destruction by neutrophils", *New England Journal of Medicine*, 320, 365-376.
150. Weiss SJ, Klein R, Slivka A, Wei M, 1982, "Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation", *J Clin Invest*, 70: 598-607.
151. Whittin JC, Bhamre S, Tham DM, Cohen HJ, 2002, "Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells", *Am J Physiol Renal Physiol*, 283: F20-F28.
152. Williams D, 2004, "Nitrosation reactions and the chemistry of nitric oxide", Elsevier, 171-186.
153. Winterbourn CC, van den Berg JJ, Roitman E, Kuypers FA, 1992, "Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid", *Arch Biochem Biophys*, 296: 547-555.
154. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen-Khoa T, Capeillere-Blandin C, Nguyen AH, Canterloup S, Drayer JM, Jungers P, Drueke T, Deschamps-Latscha B, 1998, "Advanced oxidation protein products as novel mediator of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure", *J Immunol*, 161: 2524-2532.
155. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AH, Zingraff J, Jungers P, Deschamps-Latscha B, 1996, "Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uraemia", *Kidney Int* 49: 1304-1313.
156. Yagi K, 1998, "Simple procedure for specific assay of lipid hydroperoxides in serum or plasma", *Free radical and Antioxidant Protocols*, 108:101-106.

157. Yam CP, 2007, "Protección antioxidante en la insuficiencia renal aguda experimental", Facultad de Química, tesis UNAM.
158. Yan H y Harding JJ, 1997, "Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase", *Biochem J*, 328: 599-605.
159. Yasunori I, Makoto A, Mikako H, Keiichi K, Keisuke N, Toshiya K, Ayaka S y Masaki O, 2006, "The Structural and Pharmacokinetic Properties of Oxidized Human Serum Albumin, Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)", *Drug Metab. Pharmacokinet*, 21, 2: 140-146.
160. Yoshikawa T, Tanaka H, Yoshida N, Seto O, Sugino N, Kondo M, 1983, "Adjuvant arthritis lipid peroxide protection by superoxide dismutase", *Lipid Peroxide Research*, 7, 108-110.
161. Yu BP, 1994, "Cellular defenses against damage from reactive oxygen species", *Physiol Rev*, 74: 139-162.
162. Yuda Y, Tanaka J, Hirano F, Igarani K, Satch T, 1991, "Participation of lipid peroxidation in rat pertussis vaccine pleurisy", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39, 505-506.
163. Zalba G, Fortuño A y Díez J, 2006, "Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease", *Nephrol Dial Transplant*, 21: 2686-2690.