



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



INSTITUTO NACIONAL DE  
CARDIOLOGÍA  
IGNACIO CHÁVEZ

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "DR. IGNACIO CHÁVEZ"**

**DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN NEFROLOGÍA

**COMPORTAMIENTO DEL GASTO ENERGÉTICO Y SUSTRATOS  
METABÓLICOS EN HEMODIAFILTRACIÓN EN REPOSO Y CON  
EJERCICIO CON DIALIZANTE A 35 Y 37 GRADOS CENTÍGRADOS**

RESIDENTE: DRA. ANA CATALINA DUARTE MOLINA

ASESOR: DR. HÉCTOR ALEJANDRO PÉREZ GROVAS GARZA

MÉXICO D.F., JULIO DE 2014



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.

AMOR • SCIENTIA • QVE • INSERVIAN • CORDI

**COMPORTAMIENTO DEL GASTO ENERGÉTICO Y SUSTRATOS  
METABÓLICOS EN HEMODIAFILTRACIÓN EN REPOSO Y CON  
EJERCICIO CON DIALIZANTE A 35 Y 37 GRADOS CENTÍGRADOS**

Tesis para obtener el título de Especialidad en Nefrología

MEXICO

INSTITUTO • N • DE  
CARDIOLOGÍA  
IGNACIO • CHAVEZ

---

Dra. Ana Catalina Duarte Molina  
Residente

---

Dr. Héctor Alejandro Pérez Grovas Garza  
Asesor de tesis

---

Dra. Magdalena Madero Rovalo  
Jefe de Servicio de Nefrología

---

Dr. José Fernando Guadalajara Boo  
Director de Enseñanza

## Agradecimientos

*Dr. Pérez Grovas... A mi maestro y amigo, gracias por compartir su experiencia y anécdotas conmigo, por su paciencia y motivación, por hacerme crecer profesional y humanamente.*

*Dra. Madero... Gracias por que en todo momento conté con su apoyo tanto en el hospital como en lo personal, además de ser un ejemplo a seguir.*

*Dr. Vázquez... Gracias por compartirme su conocimiento con gran paciencia y por ser mi asesor de estadística. Así sea de madrugada siempre ha estado ahí apoyándonos.*

*Ing. Cadena e Ing. Alicia... Gracias por colaborar conmigo en éste gran proyecto, por su gran dedicación y apoyo.*

*Jacqui, Pamela, Gaby, Amaya, Joana, Alfred y Shavita... mis amigos de ésta gran generación, sin ustedes no hubiera sobrevivido la residencia, gracias también por formar parte de éste proyecto.*

*Agradecimientos personales*

*A mí esposo... por TODO tu apoyo durante éstos años, que han sido muy difíciles y cansados. Sin tí éste sueño no se hubiera realizado.*

*A mis padres y hermanos... aunque están lejos siempre han sido una gran motivación y apoyo a lo largo de TODA esta carrera.*

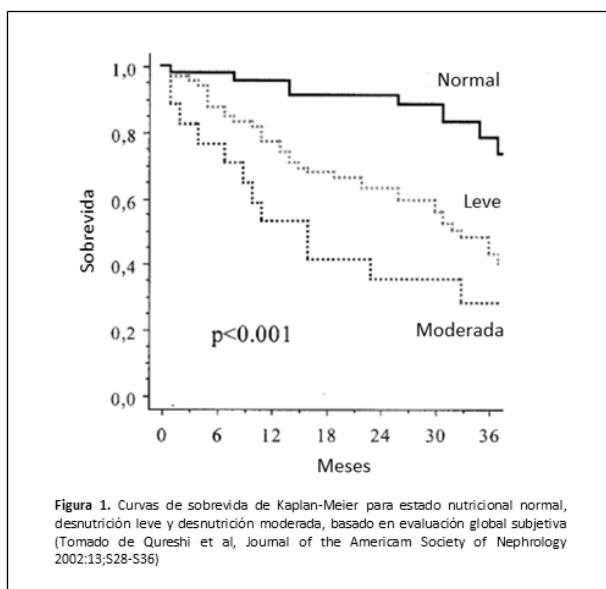
## Contenido

Introducción .....	6
Dinámica de materia y energía en el organismo.....	8
Gasto energético .....	10
Calorimetría indirecta .....	13
Termorregulación.....	13
Gasto energético en hemodiálisis .....	16
Nutrición en hemodiálisis.....	16
Beneficios de hemodiafiltración en el estado nutricional .....	17
Ejercicio en hemodiálisis .....	17
Pregunta de investigación:.....	19
Justificación:.....	19
Objetivo:.....	19
Hipótesis:.....	20
Material y métodos .....	20
Diseño del estudio:.....	20
Criterios de inclusión.....	21
Criterios de exclusión .....	22
Criterios de eliminación .....	22
Definición de variables.....	22
Análisis estadístico .....	24
Resultados .....	25
Discusión y conclusiones .....	32
Bibliografía .....	34

## Introducción

Una gran parte de los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en estadios avanzados y en terapia de reemplazo presentan en gran prevalencia de desnutrición, con rangos reportados desde 16-76%<sup>1,2</sup>.

La principal causa directa de muerte en los pacientes con ERC avanzada son las enfermedades cardiovasculares, con más del 50% de las muertes. En segundo lugar se encuentran las infecciones que representan el 15%<sup>3</sup>. Sin embargo, el paciente que cursa con desnutrición tendrá un incremento de mortalidad por cualquier causa, y el riesgo de muerte se relaciona directamente con la severidad de la misma. En este sentido, el enfermo renal en hemodiálisis al estar desnutrido disminuye su expectativa de vida a 3 años en más del 50% de lo esperado para el paciente que no presenta desnutrición<sup>4</sup>. Desnutrición/caquexia en realidad es una causa rara de muerte en este grupo de pacientes, sin embargo como factor indirecto cobra una gran importancia (Figura 1).



Esto puede ser consecuencia de múltiples factores como alteraciones en el metabolismo de proteínas y en el gasto energético, alteraciones hormonales, enfermedades asociadas y reducción en la ingesta de alimento por acumulación de toxinas urémicas que ocasionan hiporexia, náusea o vómito. A medida que los pacientes con ERC comienzan terapia de diálisis generalmente presentan mejoría de su estado

general y recuperan apetito. Sin embargo con el inicio de la diálisis se presentan otros factores de agresión al estado nutricional de éstos pacientes, como la remoción directa de nutrientes y proteínas, y particularmente en el caso de la hemodiálisis inflamación asociada al contacto con los materiales del sistema.

Desde que los pacientes con ERC se encuentran etapas tempranas se ha evidenciado que existe un compromiso en su capacidad física<sup>5</sup>. Esta complicación es de gran importancia puesto que la inactividad física también se correlaciona con la mortalidad del enfermo renal<sup>6</sup>.

La nutrición y la actividad física en ésta población se vuelve de vital importancia. El ejercicio durante hemodiálisis puede mejorar significativamente la capacidad física del paciente, pero además genera una activación del sistema nervioso simpático que mejora la tolerancia a la ultrafiltración. También existe evidencia de que el ejercicio mejora parámetros ecocardiográficos como la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, disminución del tamaño ventricular derecho y reducción de la presión sistólica de la arteria pulmonar<sup>7</sup>.

El gasto energético (GE) representa la energía que el organismo consume y representa una herramienta para estimar los requerimientos nutricionales de cada paciente. Son pocos los estudios realizados que determinan el GE en pacientes con insuficiencia renal crónica en diálisis, y menos son aquellos que lo han medido durante hemodiálisis. El GE puede ser determinado mediante calorimetría indirecta, la cual es una técnica basada en la medición del volumen de oxígeno (O<sub>2</sub>) y el volumen de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para determinar el GE en reposo y el cociente respiratorio. El primero permite establecer la magnitud de la ingesta y el último sirve para estimar la composición de la misma. Conocer más sobre el comportamiento del GE durante hemodiálisis podría permitirnos desarrollar estrategias en el aporte energético que le permitan al paciente contener el estrés fisiológico al que es sometido durante ésta terapia. Con el ejercicio transdiálisis podríamos esperar modificaciones en el gasto energético basal así como en el consumo de sustratos, sin embargo esto no ha sido estudiado.

Con éste estudio se pretende determinar el comportamiento del gasto energético durante hemodiafiltración e identificar los sustratos que son consumidos en ella en diferentes escenarios de actividad o temperatura del dializante.



# METABOLISMO Y GASTO ENERGÉTICO

---

## Dinámica de materia y energía en el organismo

En un organismo que ha terminado su proceso de crecimiento se alcanza un equilibrio entre la energía que entra y su salida. Habrá un flujo de energía entrante proveniente de los compuestos ingeridos y su salida será la energía gastada en los diferentes procesos y actividades del organismo. Las entradas representan el contenido cuali y cuantitativo de los alimentos ingeridos más el O<sub>2</sub> que ingresa vía pulmonar. Las salidas de materia son compuestos simples como CO<sub>2</sub>, agua y productos nitrogenados. La tasa del flujo catabólico (salida de energía) puede estar determinado por la tasa de salidas (gasto energético), por lo tanto la ingesta calórica estará determinada cuantitativamente por el GE previo<sup>8</sup>.

Las reservas internas de energía consisten en los siguientes:

- a) **Carbohidratos:** El material de reserva es el glucógeno, polímero de glucosa que se almacena en las células junto con un gran contenido de agua (3 a 4 g por cada gramo de glucógeno), siendo el músculo donde se encuentra la principal reserva de glucógeno. Un gramo de carbohidratos al oxidarse generará 4 calorías.
- b) **Lípidos:** su reserva está distribuida en la grasa subcutánea y visceral. Al oxidarse los lípidos general 9 calorías por gramo, y se acumulan con muy poca agua lo que reduce mucho el volumen y peso de éste almacén.

- c) **Proteínas:** Principalmente se encuentran en la masa muscular (30-40% del peso corporal). Diario se produce la oxidación de aproximadamente 125g de proteínas, que producirían 500 calorías.

Mediante procesos oxidativos estas sustancias pueden liberar energía, una parte de la energía liberada servirá principalmente para generar adenosin trifosfato (ATP) y el resto se liberará en forma de calor. Los principales compuestos que se pueden considerar como “combustibles” circulantes son<sup>8</sup>:

- a) Glucídicos: glucosa, lactato, piruvato;
- b) Lípidicos: ácidos grasos libres, glicerol, cuerpos cetónicos;
- c) Aminoácidos.

La principal entrada exógena de glucosa proviene de los carbohidratos digeribles ingeridos. Al finalizar la absorción intestinal, la glucosa sanguínea provendrá del hígado a partir de su reserva de glucógeno por el proceso de glucogenólisis. En condiciones de ayuno, el glucógeno hepático se agota después de 24-36 horas, y la producción de glucosa a la sangre se llevará a cabo por otra vía, la gluconeogénesis. La gluconeogénesis se lleva a cabo a nivel hepático, sin embargo también se puede activar en la corteza renal en condiciones de ayuno o acidosis. Los precursores gluconeogénicos son el lactato, piruvato, glicerol y gran parte de los aminoácidos<sup>8</sup>.

La mayor parte de los lípidos en la dieta pasa a la sangre bajo la forma de quilomicrones sintetizados en el epitelio intestinal. Gran parte de los lípidos en los quilomicrones son triglicéridos (ésteres de tres ácidos grasos con glicerol), los cuales después de ser hidrolizados en los capilares de los tejidos adiposos por la lipoproteinlipasa a ácidos grasos y glicerol, vuelven a sintetizarse en las células adiposas. Al hidrolizarse los triglicéridos los ácidos grasos libres pasan a la sangre unidos a la

albúmina para ser transportados a los diferentes tejidos para poder ser utilizados como fuente de energía. La oxidación de los ácidos grasos libres se lleva a cabo en las mitocondrias generando primero acetil –coenzima A, lo cual implica que su catabolismo es estrictamente aerobio<sup>9</sup>.

Las proteínas ingeridas sufren digestión prácticamente total y los aminoácidos obtenidos son absorbidos por transporte activo. Una cierta cantidad de proteínas endógenas (enzimas digestivas, proteínas de secreción, células epiteliales descamadas) también se digieren, representando una reabsorción diaria de 50-75g de aminoácidos. Se calcula que entre el 15 y 30% del gasto energético en reposo se debe a recambio proteico. Los compuestos desnitrogenados derivados del catabolismo de los diferentes aminoácidos son el piruvato y algunos intermediarios de ácidos tricarboxílicos<sup>9</sup>.

## Gasto energético

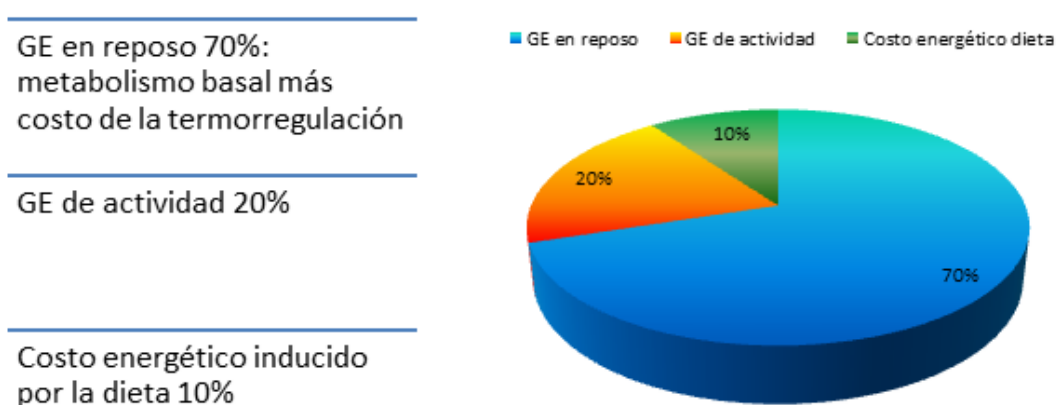
El gasto energético representa la energía que el organismo consume. Para que el organismo mantenga su equilibrio, la energía consumida debe ser igual a la utilizada, es decir, las necesidades energéticas diarias han de ser igual al gasto energético total diario<sup>10</sup>. Depende de varios factores como crecimiento, actividad, temperatura ambiente, alimentación, factores genéticos, etc.

La energía que se emplea en el metabolismo, según la revisión de Rolfe y Brown (1997), se distribuye de la siguiente manera:

- Síntesis de proteínas 25-30%
- ATPasa Na/K 19-28%
- ATPasa Ca 4-8%
- ATPasa de la actomiosina 2-8%
- Gluconeogénesis 3%

El GE está determinado por los siguientes componentes en condiciones de vida sedentaria, considerando el metabolismo total igual al 100% (Figura 2):

**Figura 2: Componentes del gasto energético total**



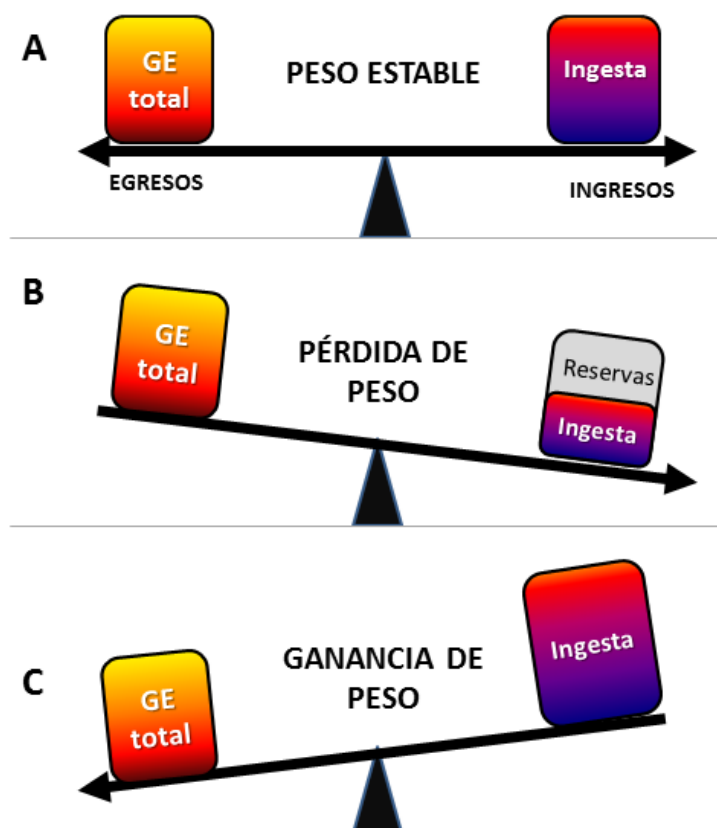
El GE puede modificarse por actividad física, es muy variable entre individuos y puede cambiar día a día. En personas individuos muy activos el GE basal puede elevarse hasta el doble, y puede ser aún mayor en atletas y en quienes realizan trabajos pesados. Las mediciones del GE en personas sometidas a niveles elevados de actividad física permiten establecer estrategias nutricionales para mantener el balance de energía y el bienestar del organismo<sup>8</sup>.

### *Balance energético*

Para mantener al organismo en un estado metabólico estable deben quedar balanceados la entrada de energía, exógena o endógena (reservas) y la salida, es decir, el gasto energético.

El balance energético representa la relación entre la cantidad de energía obtenida mediante la digestión y absorción de carbohidratos, lípidos y proteínas en cierto tiempo y la energía gastada en el mismo intervalo. El balance energético se puede calcular con base en la cantidad total de energía obtenida consumida (entrada) y el cambio en el peso (almacenamiento). Un balance positivo (aumento de peso) indicará mayor entrada que gasto y viceversa para un balance negativo. La tasa metabólica (gasto por unidad de tiempo) puede variar si el organismo es sometido a mayor actividad y será necesario aumentar las entradas (ingestión)<sup>8</sup> (Ver figura 3).

**Figura 3. Balance energético**



**A.** Estabilidad entre GE e ingesta calórica, peso permanece estable; **B.** La ingesta calórica no alcanza a satisfacer el GE por lo que se toman las reservas de energía del organismo, llevando a pérdida de peso; **C.** La ingesta calórica excede el GE por lo que la energía se almacenará en tejidos de reserva produciendo ganancia de peso. GE=

## Calorimetría indirecta

La calorimetría indirecta es el método mayormente utilizado para estimar la cantidad total de calorías producidas y gastadas por el sujeto de experimentación en un tiempo dado, y a relativa participación tres macronutrientes de éste gasto. Al oxidarse las tres fuentes de energía consumen O<sub>2</sub> y eliminan CO<sub>2</sub> y agua. La relación molar CO<sub>2</sub> eliminado/O<sub>2</sub> inspirado se conoce como cociente respiratorio y su valor es diferente para las tres fuentes: 1.0 para glúcidos, 0.71 para lípidos y aproximadamente 0.83 para proteínas. Con la medición de los dos gases con calorimetría indirecta se puede apreciar que compuestos han sido utilizados en un lapso de tiempo. Las mediciones del metabolismo basal se hacen comúnmente en reposo total y a una temperatura ambiente que no ponga en riesgo los mecanismos de termorregulación<sup>8</sup>.

## Termorregulación

El cuerpo humano tiene una temperatura corporal promedio de 36.8°C. La temperatura corporal comprende la temperatura central (T<sub>c</sub>) y la temperatura periférica (T<sub>p</sub>). La T<sub>c</sub> se refiere a la temperatura abdominal y cavidad torácica y craneal, mientras que la T<sub>p</sub> se refiere a la temperatura de la piel, tejido subcutáneo y músculos. La T<sub>c</sub> es regulada por el hipotálamo y la T<sub>p</sub> es influenciada más bien por el flujo sanguíneo y condiciones ambientales y su principal regulador es el sistema nervioso autónomo. Por ejemplo, con la exposición al frío la T<sub>d</sub> disminuye, pero la T<sub>c</sub> permanece relativamente constante<sup>8</sup>.

Con exposición a calor, el flujo sanguíneo incrementa para poder disipar calor al medio ambiente, y al contrario, con exposición a frío se produce vasoconstricción para conservar la T<sub>c</sub><sup>11,12</sup>. De tal manera, la temperatura ambiente es un factor que puede hacer variar la tasa metabólica. Si el sujeto homeotermo se expone a una temperatura más baja su metabolismo incrementará a manera de producir más calor para mantener la temperatura interna<sup>8</sup>.

Durante el ejercicio físico, la producción metabólica de calor puede llegar a incrementarse de 10 a 20 veces según la intensidad. Más del 70% del calor que se generará tiene que ser transportado a los compartimentos periféricos para ser disipado, cuando no es posible la eliminación, el calor comenzará a acumularse.

En hemodiálisis éstos principios son de gran utilidad, ya que el paciente experimenta a lo largo de la sesión ganancia de calor, con variaciones mínimas en la Tc. Para disipar ésta producción de calor se genera vasodilatación periférica lo cual interfiere con los mecanismos de homeostasis que previenen la hipotensión transdiálisis como consecuencia de la ultrafiltración<sup>13</sup>. También este incremento de la Tc puede impactar en el gasto energético como una medida más de termorregulación.

# NUTRICIÓN Y GASTO ENERGÉTICO EN ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

---

En pacientes con ERC avanzada, la desnutrición se asocia a un pobre pronóstico e incremento de mortalidad. Desafortunadamente la desnutrición proteico-calórica es altamente prevalente en éstos pacientes, con un rango desde 16 a 76%<sup>1,2</sup>. La desnutrición proteico-calórica (DPC) puede ser definida como un estado en el cual están disminuidas las reservas proteicas con o sin depleción de grasa, implicando un deterioro en la capacidad funcional, causado en parte por un aporte nutricional inadecuado. La DPC es común en pacientes con ERC en reemplazo de función con diálisis, sin embargo aparece desde etapas anteriores.

Existen varios factores asociados al deterioro del estado nutricional de los pacientes en diálisis. Obligadamente existen pérdidas de aminoácidos durante la diálisis, aproximadamente 5-8g/día de a través de hemodiálisis y 5-12g/día con diálisis peritoneal<sup>14</sup>. Los pacientes con ERC además generalmente tienen asociadas otras comorbilidades como diabetes, enfermedades autoinmunes y efectos secundarios de polifarmacia. Adicionalmente, puede haber inducción de una cascada inflamatoria durante el tratamiento con hemodiálisis por incompatibilidad biológica con las membranas<sup>14</sup>.

Dentro de los parámetros nutricionales, los que se han asociado a un riesgo relativo de mayor mortalidad son creatinina sérica baja, alúmina sérica baja, colesterol bajo, baja circunferencia braquial e índice de masa corporal<sup>14</sup>.



## Gasto energético en hemodiálisis

Son pocos los estudios que han evaluado el gasto energético durante hemodiálisis. No se han encontrado diferencias entre el GE basal de sanos y pacientes con ERC antes del inicio de su sesión de hemodiálisis, sin embargo, se asume existe una reducción en el consumo de oxígeno por los riñones enfermos, por lo tanto, tomando en cuenta el reducido consumo de oxígeno por los riñones enfermos, el tener un GE normal sugiere un incremento del GE en proporción a la masa celular funcional corporal<sup>15</sup>.

Se ha visto que durante la sesión los pacientes experimentan un incremento del GE basal, sin embargo, hacia el final de la sesión éste desciende, sin embargo éstos cambios del GE durante hemodiálisis no son significativos. De la misma manera, tampoco se han encontrado diferencias significativas en el GE regulando la temperatura sanguínea a manera de isoterminia o termoneutralidad<sup>16</sup>.

## Nutrición en hemodiálisis

En pacientes tratados con hemodiálisis los requerimientos energéticos diarios para mantener el balance nitrogenado y la composición corporal son de aproximadamente 35 kcal/kg/día. En pacientes mayores de 60 años los requerimientos de energía son menores, de 30-35 kcal/kg/día<sup>14</sup>.

Las guías actuales recomiendan en éstos pacientes una ingesta proteica de 1.2g/kg/día. Sin embargo este nivel puede exceder los requerimientos fisiológicos de la mayoría de los pacientes en hemodiálisis. Esta recomendación está basada en estudios de balance nitrogenado que se realizaron cuando se utilizaban filtros de bajo flujo, dializante con acetato y membranas bioincompatibles de celulosa. En base a estudios más recientes se ha propuesto que el requerimiento puede ser menor, de 0.7-1.1g/kg/día<sup>14</sup>. Una dieta excedida en proteínas puede tener efectos adversos en pacientes de hemodiálisis como hiperfosfatemia, hiperkalemia, acidosis metabólica y acumulación de metabolitos urémicos.

## Beneficios de hemodiafiltración en el estado nutricional

La hemodiafiltración es un método de depuración sanguínea que utiliza los mecanismos de convección y difusión.

En algunos estudios se ha evidenciado el impacto benéfico de la hemodiafiltración sobre el estado nutricional. Se ha encontrado que los pacientes bajo ésta modalidad tienen menor prevalencia de sobrepeso, 21% en comparación con aquellos en hemodiálisis convencional, así como una menor composición de grasa corporal<sup>17,18</sup>.

Con hemodiafiltración se ha observado menor inflamación lo cual disminuye el desgaste nutricional. Se ha comprobado que se reducen los niveles de proteína C reactiva,  $\beta$ 2-microglobulina, IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , así mismo se incrementa prealbúmina y leptina<sup>19</sup>.

Bajo éstos argumentos podemos considerar que la hemodiafiltración es una modalidad de diálisis que puede aportar beneficios adicionales al estado nutricional de los pacientes con ERC estadio V.

## Ejercicio en hemodiálisis

Los pacientes con ERC tienen un menor nivel en su capacidad física y funcional. Su capacidad aeróbica se encuentra hasta un 50% por debajo de lo normal, su fuerza es baja, y tienden a tener problemas con la movilidad y actividades de la vida diaria. El desgaste muscular es un problema mayor en los pacientes en hemodiálisis, que impacta la calidad de vida y se relaciona con mortalidad<sup>20</sup>. Diversos estudios han demostrado que de forma segura el ejercicio intradialítico de baja intensidad aporta beneficios en la capacidad física del organismo y fuerza muscular<sup>21</sup>. Otro beneficio adicional es que las toxinas urémicas se remueven de forma más eficiente, hasta 11-19% más en comparación con aquellos pacientes que permanecen en reposo durante la sesión<sup>22</sup>. De igual forma también se ha observado mejoría en la remoción de fósforo, el cual sabemos

que es un factor de riesgo cardiovascular en éste grupo de pacientes<sup>23</sup>. Hasta la fecha no existen estudios que evalúen el costo energético de adicionar ejercicio en la sesión de hemodiálisis, que potencialmente podría representar un incremento en el gasto energético y en consecuencia requerir mayor aporte calórico.

### **Pregunta de investigación:**

¿Puede el gasto energético y sus sustratos metabólicos modificarse con hemodiafiltración en reposo y con ejercicio a una temperatura del dializante de 35 y 37°C?

### **Justificación:**

Éste estudio permitirá comprender mejor comportamiento metabólico de los pacientes con enfermedad renal crónica que reciben terapia de reemplazo renal con hemodiafiltración y valorar el impacto metabólico que tiene el ejercicio intradialítico con diferentes temperaturas de dializante, 35 y 37°C. Conocer el impacto de ésta terapia nos permitirá considerar estrategias nutricionales que permitan a éstos pacientes contener el estrés fisiológico de la sesión de hemodiafiltración, y a largo plazo evitar la desnutrición mejorando así la calidad del vida y sobrevida.

### **Objetivo:**

Mediante determinaciones seriadas de calorimetría indirecta medir el gasto energético basal y sustratos metabólicos consumidos en pacientes con ERC en hemodiafiltración y los cambios que se producen en los mismos durante el sesión, comparando el efecto metabólico que tiene el ejercicio y la temperatura del dializante a 35 y 37 grados.

## **Hipótesis:**

**H1:** El gasto energético se modifica durante una sesión de hemodiafiltración en reposo o ejercicio, y con temperatura de dializante a 35 y 37 grados centígrados.

**H0:** El gasto energético no se modifica durante hemodiafiltración con o sin ejercicio, ni con temperatura de dializante a 35 o 37 grados centígrados.

## **Material y métodos**

### **Diseño del estudio:**

Ensayo controlado no aleatorizado.

El presente estudio se realizó en pacientes con enfermedad renal crónica en estadio V que reciben terapia de reemplazo renal con hemodiafiltración en el Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”.

Los pacientes acudieron en ayuno a su sesión, recibieron una dieta estándar de aproximadamente 500kCal y 20-30 minutos después de la ingesta se les realizó la medición inicial del GE mediante calorimetría indirecta por mezcla de gases durante 15 minutos con calorímetro MGH3 (UAM-INCICh).

Posteriormente se daba inicio a la sesión de hemodiafiltración. Cada sesión tuvo una duración de 3 horas y se ultrafiltraban 2.0L en total. Si la diferencia entre el peso prediálisis del paciente con su peso seco era menor a 2L, la diferencia era reemplazada con solución fisiológica, y si la diferencia era mayor a 2 L sería extraída en la sesión posterior.

La segunda medición de GE se realizaba a 1:30 horas de sesión y la tercera a las 3:00 horas justo al desconectarse el paciente.

En cada paciente se realizaron 8 estudios en total: 2 en reposo con temperatura del dializante a 35°C; 2 con ejercicio con temperatura del dializante a 35°C; 2 en reposo con temperatura del dializante a 37°C; 2 con ejercicio con temperatura del dializante a 37°C.

El ejercicio aeróbico que realizaban los pacientes consistía en pedalear una bicicleta estacionaria sin resistencia durante la sesión de hemodiafiltración.

Con un monitor mCare 300® se midió cada 5 minutos presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, presión arterial media, frecuencia cardiaca, saturación de O<sub>2</sub> y con sensor cutáneo de temperatura la temperatura central (en cara anterior de tórax) y temperatura distal (pulpejo de dedo índice contrario al acceso vascular).

### **Criterios de inclusión**

- Pacientes con enfermedad renal crónica estadio V estables en reemplazo renal con hemodiafiltración en la unidad del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”
- Mayores de 18 años
- Consentimiento informado

### **Criterios de exclusión**

- Incapacidad para realizar actividad física
- Diabetes
- Enfermedades autoinmunes
- Infección asociada a acceso vascular

### **Criterios de eliminación**

- Retiro de consentimiento
- Durante el periodo del estudio sufrieron una limitación para realizar ejercicio
- Infección asociada al acceso vascular durante el periodo de estudio

### **Definición de variables**

#### *Dependientes:*

- Gasto energético: representa la energía que el organismo consume.
- Gasto energético basal: energía que requiere un organismo para realizar sus actividades fundamentales, se mide en reposo y a una temperatura ambiente que no implique in reto para los mecanismos de termorregulación.
- Tasa metabólica basal: gasto energético por unidad de tiempo.

- Sustratos metabólicos: fuentes de energía para el organismo, que mediante procesos oxidativos pueden liberar energía y formar ATP (glúcidos, lípidos, aminoácidos).

### *Independientes:*

- Temperatura de dializante 35 y 37°C
- Ejercicio intradialítico: pedalear una bicicleta estacionaria sin resistencia durante la sesión de hemodiafiltración.
- Hemodiafiltración en reposo: método de depuración sanguínea mediante difusión y convección, el paciente permanece sentado sin realizar actividad durante la terapia.



## Análisis estadístico

El análisis estadístico será del tipo no paramétrico, bajo el supuesto a comprobarse que cumplirán con gaussianidad. El análisis longitudinal entre fases será mediante el método ANOVA de una vía con tres factores correspondiente a las tres etapas del tratamiento. Después el análisis trasversal entre grupos se realizará mediante un análisis “post-hoc” una prueba de hipótesis utilizando una “t” de Student por considerarse varianzas desiguales. En ambos análisis se considerará significancia estadística cuando suceda una  $p < 0.05$ .

## Resultados

Se incluyeron 6 pacientes con ERC estadio V estables en hemodiafiltración crónica, en la siguiente tabla se muestran las características de ésta población (tabla 1).

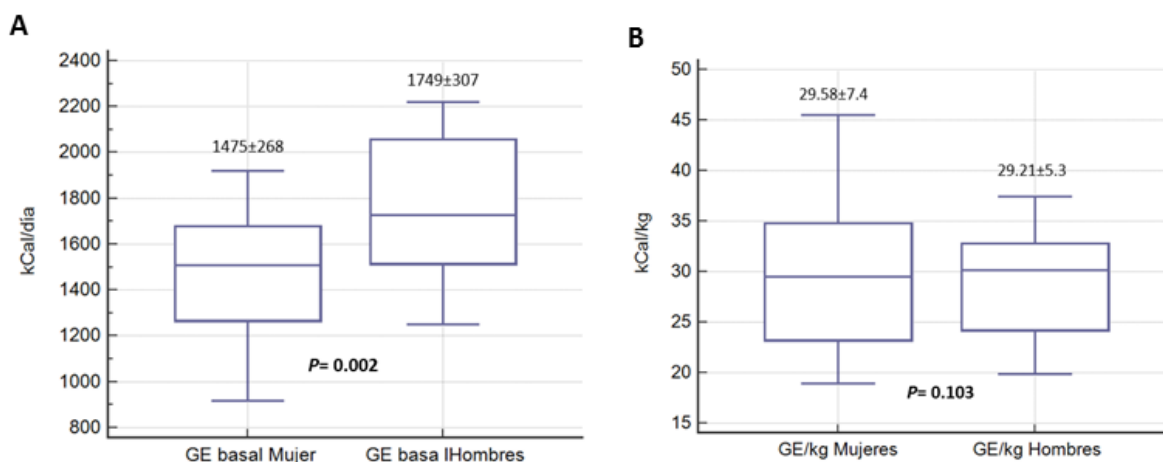
**Tabla 1. Descripción de los pacientes incluidos en el estudio.**

Paciente	Género	Edad (años)	Peso seco (kg)	Talla (cm)	IMC	Etiología ERC
1	F	37	52.2	147	25.5	GEFS
2	F	35	61.9	143	30.2	END
3	F	19	40.0	160	15.6	END
4	M	26	59.3	175	19.3	END
5	M	22	65.0	159	26.7	GEFS
6	M	37	55.8	168	19.7	IgAN

F=femenino; M=masculino; IMC= índice de masa corporal; GEFS=glomeruloesclerosis focal segmentaria; END etiología no determinada; IgAN=nefropatía por IgA.

El promedio del GE basal en el total de los 48 estudios fue de  $1612 \pm 317$  kCal. Para mujeres el GE basal fue en promedio  $1475 \pm 268$  kCal y para hombres  $1749 \pm 307$  kCal, siendo ésta diferencia estadísticamente significativa  $P=0.001$  (Figura 1). Sin embargo, cuando el GE basal se ajustó al peso seco de cada paciente para mujeres fue un promedio de  $29.58 \pm 7.4$  y en hombres  $29.21 \pm 5.3$ , lo cual no fue significativo ( $P=0.103$ ) (Figura 4).

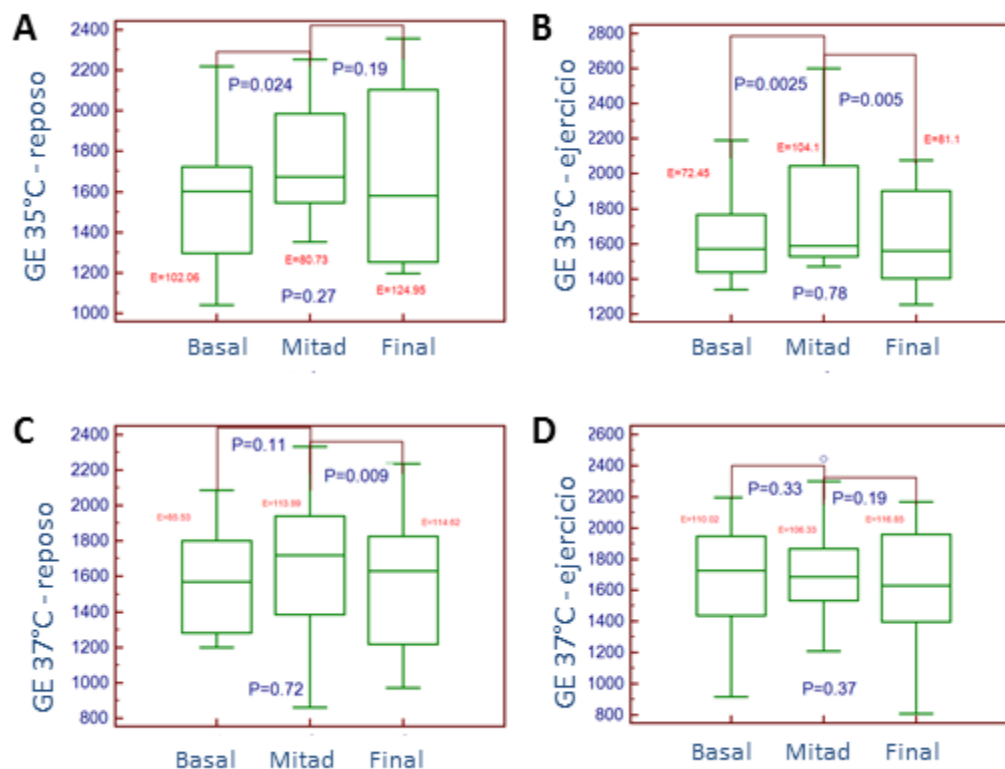
**Figura 4. Comparación del gasto energético basal entre mujeres y hombres.**



A. Comparación del GE basal entre mujeres y hombres. B. Comparación de calorías del GE basal por kilogramo de peso seco. GE=gasto energético

Con dializante a 35°C y en reposo el GE promedio basal fue de 1569±353 kCal, a la mitad de la sesión fue 1751±280 kCal y al final 1669±433kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.27$ ), sin embargo existe un incremento significativo del GE basal al GE a la mitad de la sesión ( $P=0.024$ ). Con dializante a 35°C y con ejercicio el GE promedio basal fue 1631±250 kCal, a la mitad de la sesión 1784±360 kCal y al final 1620±281 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.78$ ), sin embargo se observó un incremento significativo del GE basal al GE a la mitad de la sesión ( $P=0.0025$ ), y posteriormente un descenso significativo del GE a la mitad de la sesión al GE final ( $P=0.005$ )(Figura 5).

**Figura 5. Comparación del gasto energético basal, a la mitad de la sesión y final con temperatura de dializante a 35 y 37°C y en reposo o con ejercicio.**



**A.** Comparación del GE (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y en reposo; **B.** Comparación del GE (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y con ejercicio; **C.** Comparación del GE (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y en reposo; **D.** Comparación del GE (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y con ejercicio. GE= gasto energético.

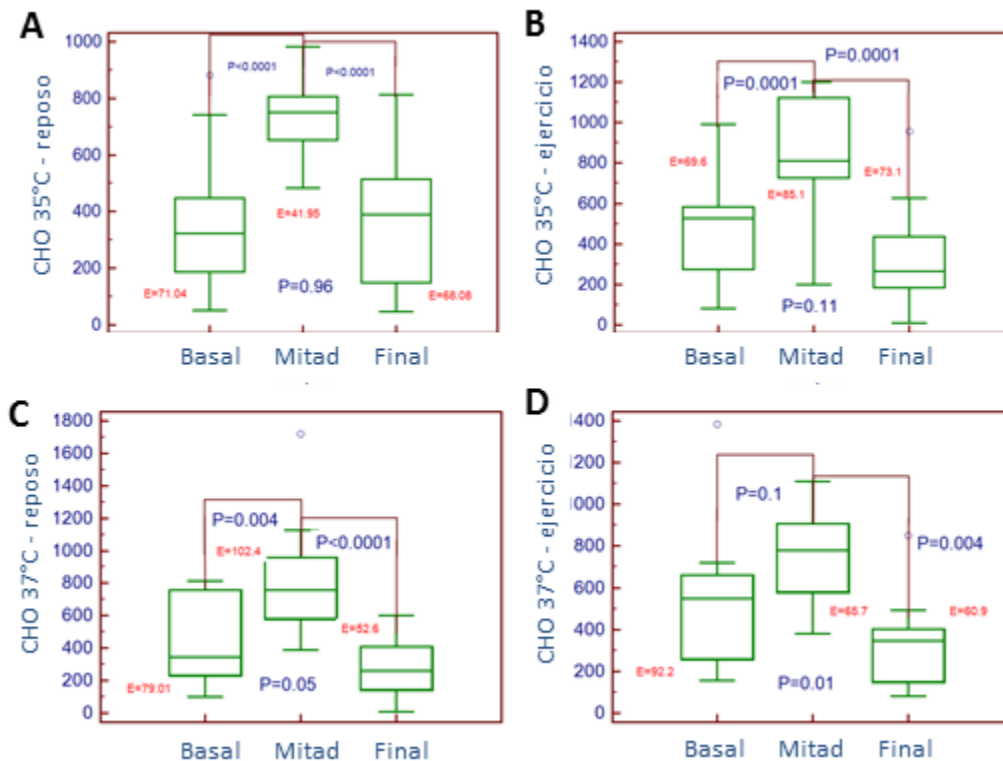
Con dializante a 37°C y en reposo el GE promedio basal fue de 1576±296 kCal, a la mitad de la sesión fue de 1667±395 kCal y al final 1550±397 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.72$ ), hubo un descenso significativo de GE a la mitad de la sesión al GE final ( $P=0.009$ ). Con dializante a 37°C y con ejercicio el GE promedio basal fue de 1673±381 kCal, a la mitad de la sesión fue de 1724±368 kCal y al final 1630±404 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.37$ ), no se produjeron cambios estadísticamente significativos entre las mediciones ( $P>0.05$ ) (Figura 5).

Con dializante a 35°C y en reposo el consumo calórico a partir de carbohidratos basal fue de 362±353 kCal, a la mitad de la sesión 736±145 kCal y al final 365±236 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.96$ ), sin embargo existe un incremento significativo de basal a la mitad de la sesión ( $P<0.0001$ ) y un descenso significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P<0.0001$ ). Con dializante a 35°C y con ejercicio el consumo calórico a partir de carbohidratos basal fue de 463±241 kCal, a la mitad de la sesión fue de 854±295 kCal y al final 339±253 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.11$ ), también ocurrió sin un incremento significativo de basal a la mitad de la sesión ( $P<0.0001$ ) y un descenso significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P<0.0001$ ) (Figura 6).

Con dializante a 37°C y en reposo el consumo calórico a partir de carbohidratos basal fue de 430±274 kCal, a la mitad de la sesión 820±354 kCal y al final 269±182 kCal, el análisis de varianza fue estadísticamente significativo ( $P=0.05$ ). Con dializante a 37°C y con ejercicio el consumo calórico a partir de carbohidratos basal fue de 536±337 kCal, a la mitad de la sesión fue de 752±228 kCal y al final 333±211 kCal, el análisis de varianza fue estadísticamente significativo ( $P=0.01$ ) (Figura 6).

Con dializante a 35°C y en reposo el consumo calórico a partir de grasas basal fue de 881±390 kCal, a la mitad de la sesión 690±222 kCal y al final 955±412 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.52$ ), sin embargo se produjo una disminución significativa de basal a la mitad de la sesión ( $P=0.0001$ ) y un incremento significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P=0.0002$ ). Con dializante a 35°C y con ejercicio el consumo calórico a partir de grasas basal fue de 829±313 kCal, a la mitad de la sesión fue de 613±303 kCal y al final 995±455 kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.06$ ), sin embargo ocurrió una disminución significativa de basal a la mitad de la sesión ( $P=0.0001$ ) y un incremento significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P=0.0001$ ) (Figura 7).

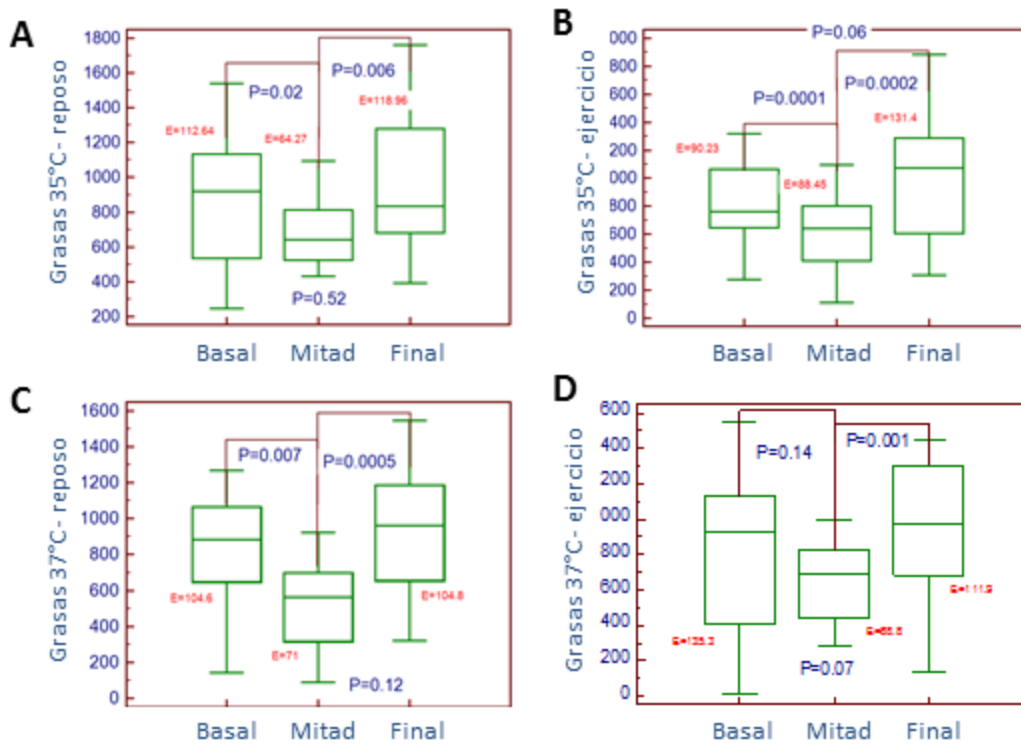
**Figura 6. Comparación del consumo calórico a partir de carbohidratos basal, a la mitad de la sesión y final con temperatura de dializante a 35 y 37°C y en reposo o con ejercicio.**



**A.** Comparación del consumo calórico a partir de carbohidratos (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y en reposo; **B.** Comparación del consumo calórico a partir de carbohidratos (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y con ejercicio; **C.** Comparación del consumo calórico a partir de carbohidratos (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y en reposo; **D.** Comparación del consumo calórico a partir de carbohidratos (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y con ejercicio. CHO= carbohidratos.

Con dializante a 37°C y en reposo el consumo calórico a partir de grasas basal fue de  $807 \pm 362$  kCal, a la mitad de la sesión  $533 \pm 246$  kCal y al final  $936 \pm 363$  kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.12$ ), sin embargo se produjo una disminución significativa de basal a la mitad de la sesión ( $P=0.0007$ ) y un incremento significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P=0.0005$ ). Con dializante a 37°C y con ejercicio el consumo calórico a partir de grasas basal fue de  $536 \pm 337$  kCal, a la mitad de la sesión fue de  $752 \pm 228$  kCal y al final  $333 \pm 211$  kCal, el análisis de varianza no fue estadísticamente significativo ( $P=0.07$ ), pero se produjo un incremento significativo de la mitad de la sesión a la medición final ( $P=0.001$ ). (Figura 7).

**Figura 7. Comparación del consumo calórico a partir de grasas basal, a la mitad de la sesión y final con temperatura de dializante a 35 y 37°C y en reposo o con ejercicio.**

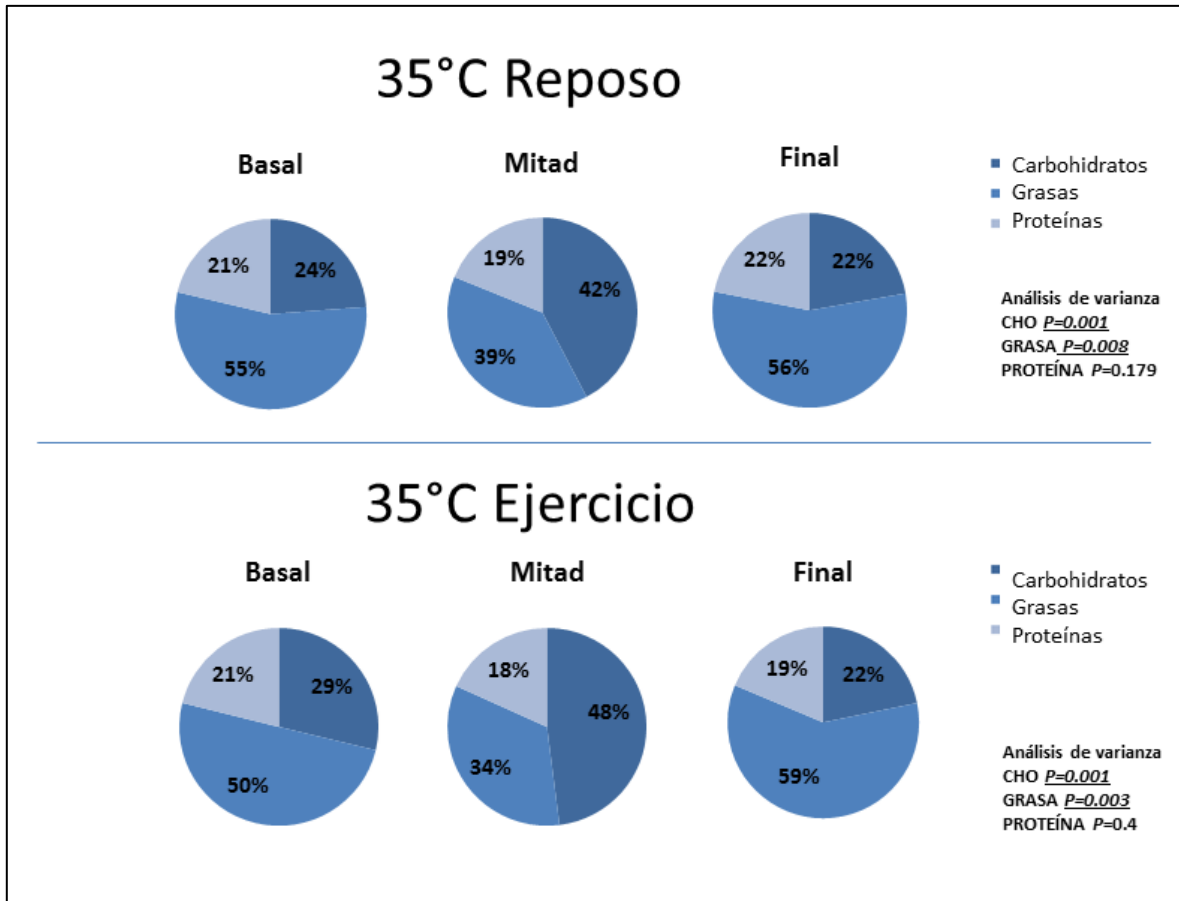


**A.** Comparación del consumo calórico a partir de grasas (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y en reposo; **B.** Comparación del consumo calórico a partir de grasas (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 35°C y con ejercicio; **C.** Comparación del consumo calórico a partir de grasas (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y en reposo; **D.** Comparación del consumo calórico a partir de grasas (kCal/día) basal, a la mitad de la sesión y final con dializante a 37°C y con ejercicio.

Con temperatura de dializante a 35°C en reposo, el porcentaje de los sustratos metabólicos basal para carbohidratos fue  $24 \pm 16.9\%$ , grasas  $55 \pm 18.5\%$  y proteínas  $21 \pm 4.9\%$ ; a la mitad de la sesión carbohidratos  $43 \pm 7.2\%$ , grasas  $39 \pm 7.5\%$  y proteínas  $19 \pm 2.5\%$ ; al final de la sesión carbohidratos  $22 \pm 14.0\%$ , grasas  $56 \pm 13.8\%$  y proteínas  $22 \pm 4.5\%$ . El análisis de varianza fue significativo para carbohidratos ( $P=0.001$ ) y grasas ( $P=0.008$ ) (Figura 8).

Con temperatura de dializante a 35°C y ejercicio, el porcentaje de los sustratos metabólicos basal para carbohidratos fue  $29 \pm 15.5\%$ , grasas  $50 \pm 14.8\%$  y proteínas  $21 \pm 2.6\%$ ; a la mitad de la sesión carbohidratos  $48 \pm 15.7\%$ , grasas  $34 \pm 14.8\%$  y proteínas  $18 \pm 3.1\%$ ; al final de la sesión carbohidratos  $22 \pm 17.0\%$ , grasas  $60 \pm 20.7\%$  y proteínas  $19 \pm 8.7\%$ . El análisis de varianza fue significativo para carbohidratos ( $P=0.001$ ) y grasas ( $P=0.003$ ) (Figura 8).

**Figura 8. Comportamiento de porcentaje de sustratos metabólicos con dializante a 35°C en reposo y con ejercicio intradialítico.**

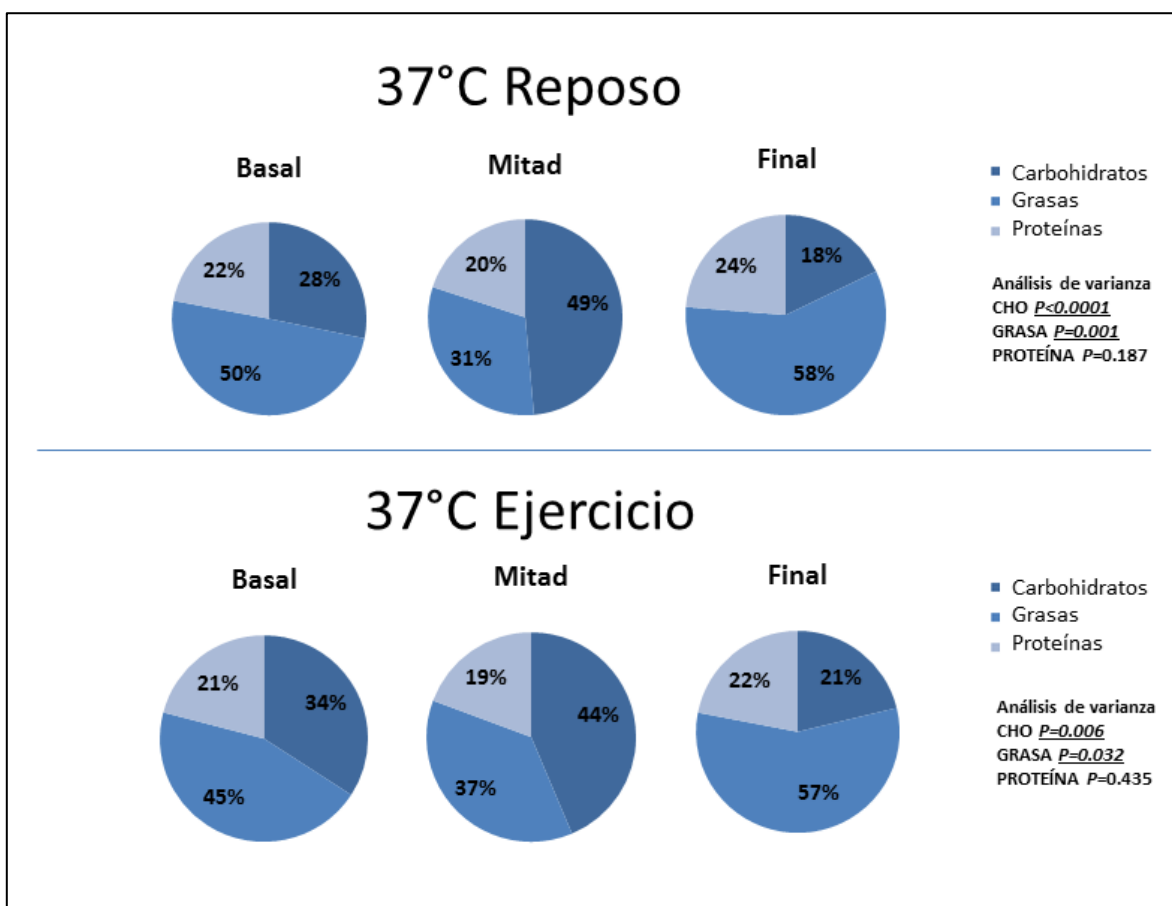


CHO= carbohidratos.

Con temperatura de dializante a 37°C en reposo, el porcentaje de los sustratos metabólicos basal para carbohidratos fue  $28 \pm 19.7\%$ , grasas  $50 \pm 19.7\%$  y proteínas  $22 \pm 3.34\%$ ; a la mitad de la sesión carbohidratos  $49 \pm 12.94\%$ , grasas  $31 \pm 12.84\%$  y proteínas  $20 \pm 5.69\%$ ; al final de la sesión carbohidratos  $18 \pm 11.73\%$ , grasas  $58 \pm 13.23\%$  y proteínas  $24 \pm 5.32\%$ . El análisis de varianza fue significativo para carbohidratos ( $P < 0.0001$ ) y grasas ( $P = 0.001$ ) (Figura 9).

Con temperatura de dializante a 37°C y ejercicio, el porcentaje de los sustratos metabólicos basal para carbohidratos fue  $34 \pm 22.03\%$ , grasas  $45 \pm 23.8\%$  y proteínas  $21 \pm 4.5\%$ ; a la mitad de la sesión carbohidratos  $44 \pm 9.8\%$ , grasas  $37 \pm 9.9\%$  y proteínas  $19 \pm 3.5\%$ ; al final de la sesión carbohidratos  $21 \pm 13.7\%$ , grasas  $57 \pm 17.1\%$  y proteínas  $22 \pm 6.4\%$ . El análisis de varianza fue significativo para carbohidratos ( $P = 0.006$ ) y grasas ( $P = 0.032$ ) (Figura 9).

Figura 9. Comportamiento de porcentaje de sustratos metabólicos con dializante a 35°C en reposo y con ejercicio intradialítico.



CHO= carbohidratos.



## Discusión y conclusiones

El gasto energético basal en nuestra población indica que a pesar de ser muy homogénea en cuanto a edad, distribución en cuanto a género y estabilidad en hemodiafiltración muestra una amplia variación tal como es esperado para este parámetro, con un valor promedio similar al de la población general sin insuficiencia renal<sup>24</sup>. Además el GE basal en nuestro grupo de pacientes fue similar al descrito por otros grupos para pacientes con ERC avanzada<sup>15</sup>.

Observamos además una diferencia significativa en cuanto al GE basal entre hombres y mujeres, sin embargo una vez que el GE se divide por el peso corporal, observamos que las kilocalorías aportadas por kilogramo de peso no tuvieron diferencia estadísticamente significativa. Debido a que el GE se ha relacionado con la producción de toxinas urémicas<sup>25</sup>, este hallazgo es de gran relevancia ya que ha sido discutido por el grupo de Dougirdas y Levin<sup>26</sup> quienes consideran que las recomendaciones actuales de las guías para prescripción de diálisis basadas en superficie corporal, pueden ser inapropiadas sobre todo en el caso de las mujeres quienes tienen menor GE, pero al ajustarse por kilogramo es similar al de los varones, por lo que no deberían recibir una dosis mayor de diálisis.

En este estudio evidenciamos que se produce un incremento significativo en el GE durante la primera mitad de la sesión de hemodiafiltración con dializante a 35° independiente de reposo o ejercicio, también se observó éste incremento en GE en esta fase cuando se utilizó dializante a 37°C, aunque éste no fue estadísticamente significativo. Éste incremento puede ser reflejo de los mecanismos de homeostasis que son echados a andar posterior a la conexión al sistema, así como a una respuesta inflamatoria derivada del contacto de la sangre con los materiales del circuito. La acumulación de calor que favorece el dializante a 37°C puede ser un factor que actúe inhibiendo el metabolismo como medida de homeostasis térmica. Al haber un estímulo que se encuentra elevando la temperatura central, el GE disminuirá para mantener la homeostasis térmica.

En la medición final observamos que existe una fuerte tendencia a disminuir el GE, contrario a lo que esperábamos ya que el estímulo producido por la hemodiafiltración es constante, y por lo tanto esperaríamos que el GE permaneciera estable. Ha sido evidenciado en múltiples estudios que se produce un incremento de la temperatura corporal durante hemodiálisis<sup>27,28</sup>. Es posible que la disminución del GE al final de la sesión sea consecuencia del mecanismo de compensación para mantener la homeostasis térmica.

En la medición basal encontramos que los pacientes se encontraban consumiendo predominantemente grasas. Encontramos que a la mitad de la sesión se produjo un incremento significativo en el porcentaje de consumo de carbohidratos y al final de la sesión éste mismo desciende de forma significativa. Inversamente, el porcentaje de grasas consumido a la mitad de la sesión disminuye significativamente, para incrementarse de nuevo al final de la sesión. Las proteínas permanecen estables a lo largo de la sesión. Estos resultados se observaron tanto en reposo o con ejercicio, o con temperatura de dializante a 35 o 37°C.

No encontramos un impacto significativo en el comportamiento del GE con ejercicio intradialítico. Consideramos que el ejercicio intradialítico aeróbico de bajo impacto no genera una demanda nutricional adicional, y conserva los beneficios en cuanto a depuración de urea, depuración de fosforo, reacondicionamiento muscular, entre otros, y por lo tanto tendría impacto favorable en la mortalidad de éstos pacientes. Bajo ésta justificación, recomendamos que el ejercicio intradialítico sea realizado por todo paciente en medida que su condición clínica lo permita.

## Bibliografía

1. Kopple et al, McCollum Award Lecture, 1996: Protein-energy malnutrition in maintenance dialysis patients, *American Journal of Clinical Nutrition* 1997;65:1544-57.
2. Moncef El M'Barki Kadiri et al , Factors Predicting Malnutrition in Hemodialysis Patients, *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2011;22(4):695-704.
3. USRDS: Excerpt from the United States Renal Data System 1999 Annual Data Report. Patient mortality and survival in ESRD. *Am J Kidney Dis* 34(suppl 1): S74–S86, 1999.
4. A. Rashid Qureshi et al, Inflammation, Malnutrition, and Cardiac Disease as Predictors of Mortality in Hemodialysis Patients, *J Am Soc Nephrol* 13: S28–S36, 2002
5. Fried LF, Lee JS, Shlipak M et al. Chronic kidney disease and functional limitation in older people: health, aging and body composition study. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 750–756.
6. Robinson-Cohen C, Katz R, Mozaffarian D et al. Physical activity and rapid decline in kidney function among older adults. *Arch Intern Med* 2009; 169: 2116–2123.
7. Ali Momeni, Effect of Intradialytic Exercise on Echocardiographic Findings in Hemodialysis Patients, *IJKD* 2014;8:207-11.
8. Radu Racotta, *Metabolismo energético en el humano*, Instituto Politecnico Nacional, 1ra ed, 2001; pp 9-36
9. César Teijón López, *Bioquímica metabólica*, 1r ed, Editorial Tébar, 2001; pp11-112.
10. Byrd-Bredbenner, C., Beshgetoor, D., Moe, G., & Berning, J, *Perspectivas en nutrición*, octava ed. 2010; México: McGrawHill.
11. Gisolfi CV, Mora F. *The Hot Brain: Survival, Temperature and the Human Body*. Massachusetts: MIT Press, 2000:1-13, 94-119, 157-63, 171-4, 191-215.
12. Folk GE, Riedesel ML, Thrift DL. *Principles of Integrative Environmental Physiology*. Iowa: Austin and Winfield Publishers, 1998.
13. van der Sande FM, Effect of dialysate temperature on energy balance during hemodialysis: quantification of extracorporeal energy transfer, *Am J Kidney Dis*. 1999 Jun;33(6):1115-21.
14. C. Ronco, *Nutrition and Kidney Diseases: a New Era*, Karger 2007, pp 1-59.
15. Kuhlmann U et al, Resting metabolic rate in chronic renal failure , *J Ren Nutr* 2001;11:202-6.

16. Horáček J et, Resting energy expenditure and thermal balance during isothermic and thermoneutral haemodialysis--heat production does not explain increased body temperature during haemodialysis, *Nephrol Dial Transplant*. 2007 Dec;22(12):3553-60
17. Shaul G. et, al, Introduction: Uremia Research and Toxicity, *Journal renal nutrition* 2006 Jul;16(3):237-40
18. Gallar-Ruiz P et al, Body composition in patients on haemodialysis: relationship between the type of haemodialysis and inflammatory and nutritional parameters, *Nefrologia* 2012;32(4):467-76.
19. Borrelli S., Minutolo R. Effect of hemodiafiltration with endogenous reinfusion on overt idiopathic chronic inflammation in maintenance hemodialysis patients: A multicenter longitudinal study. *Hemodial Int*. 2014 May 28.
20. Chun-Ting Chen, Muscle Wasting in Hemodialysis Patients: New Therapeutic Strategies for Resolving an Old Problem, *The Scientific World Journal*, Volume 2013, Article ID 643954.
21. Parsons TL, Exercise training during hemodialysis improves dialysis efficacy and physical performance *Arch Phys Med Rehabil*. 2006 May;87(5):680-79.
22. Parsons TL Exercise training during hemodialysis improves dialysis efficacy and physical performance. *Arch Phys Med Rehabil*. 2006 May;87(5):680-7.
23. Makhlough A, Effect of intradialytic aerobic exercise on serum electrolytes levels in hemodialysis patients. *Iran J Kidney Dis*. 2012 Mar;6(2):119-23.
24. Fortová M<sup>1</sup>, Sulková SD,. Resting energy expenditure during hemodialysis, Et al *Vnitr Lek*. 2006 Jan;52(1):26-33.
25. Sivakumar Sridharan, Energy metabolism, body composition, and urea generation rate in hemodialysis patients, *Hemodialysis International*, 2013;17:502-509.
26. John T. Daugirdas,\* Nathan W. Levin et al, Comparison of Proposed Alternative Methods for Rescaling Dialysis Dose: Resting Energy Expenditure, High Metabolic Rate Organ Mass, Liver Size, and Body Surface Area, *Semin Dial*. 2008; 21(5): 377–384.
26. Maggiore Q, Pizzarelli F, Santoro A et al. The effects of control of thermal balance on vascular stability in hemodialysis patients: results of the European randomized clinical trial. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 280–290.
27. Lopot F, Sulková S, et al, Temperature and thermal balance monitoring and control in dialysis. *Hemodial Int* 2003; 7: 177–183.