



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO  
MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI



**ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LA  
ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN ADULTOS**

R-2017-3601-48

TESIS DE POSGRADO  
PRESENTA

DR. RAÚL ALEJANDRO ANDRADE MORENO  
PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA

ASESORES

DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA  
DRA. MARÍA EUGENIA GALVÁN PLATA

CD.MX.,2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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).

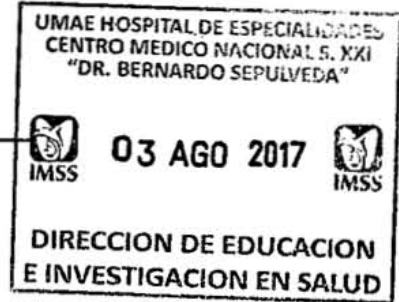
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

**CARTA DICTAMEN**

**ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD RENAL  
CRÓNICA EN ADULTOS**



\_\_\_\_\_  
**DRA. DIANA G. MENEZ DIAZ**  
**JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACIÓN EN SALUD**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI**



\_\_\_\_\_  
**DRA. MARÍA EUGENIA GALVÁN PLATA**  
**PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI**



\_\_\_\_\_  
**DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES NEFROLÓGICAS**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI**

# CARTA DICTAMEN



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



## Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601 con número de registro 13 CI 09 015 184 ante COFEPRIS  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 06/04/2017

**DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA**

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

### **ESTUDIO DEL ESTRES OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN ADULTOS**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2017-3601-48

ATENTAMENTE

**DR. (A) CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**  
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por su apoyo incondicional y absoluto; con quienes comparto este triunfo pues también es de ellos.

A mi prometida con quien comparto lo verdaderamente importante de la vida y cuyo apoyo ilimitado me ha permitido seguir adelante.

A mi hermano por ser mi aliado durante todo el camino; por su impulso alegre y constante que me ayuda a continuar día a día.

A mis tíos en especial a mi tía Ade; y aunque algunos de ellos ya no están presentes siempre serán el motor que impulsó mi camino.

A todos mis maestros, siempre serán una parte fundamental del camino

A todos mis amigos; quienes han compartido parte de su vida conmigo, y por enseñarme cosas que no se pueden aprender en los libros

A todos mis compañeros con quienes compartí algunos de los momentos más especiales de mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, Allis Vivere  
Tradición y honor.

El presente proyecto se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del Instituto Mexicano del Seguro Social con la dirección del Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya y la Dra. María Eugenia Galván Plata y con el auspicio parcial de fondos provenientes del Instituto Mexicano del Seguro Social y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México.

## CONTENIDO

Resumen.....	1
Datos de la Tesis .....	2
Introducción .....	3
Concepto De Oxidación y Estrés Oxidativo .....	7
Estrés Oxidativo y Daño Renal.....	14
Justificación .....	21
Planteamiento del Problema .....	23
Consideraciones Éticas .....	26
Variables .....	29
Recursos, Financiamiento y Factibilidad .....	30
Material y métodos .....	31
Diseño Del Estudio.....	31
Selección de participantes.....	32
Obtención de las muestras.....	33
Análisis Estadístico.....	39
Resultados.....	41
Discusión .....	53
Conclusiones .....	58
Referencias.....	59
Anexos .....	63
Carta de Consentimiento Informado.....	64
Definición de variables .....	69
Obtención de la muestra.....	72
Hoja de recolección de datos.....	74

## RESUMEN

**Contexto:** El estrés oxidativo ha sido asociado como un contribuyente importante de la patogénesis y el desarrollo de complicaciones en enfermedades crónicas, dentro de las cuales se encuentran la enfermedad renal crónica.

**Objetivo:** El propósito de este estudio fue investigar los cambios en el estado antioxidante y oxidativo inducido por la enfermedad renal crónica (ERC) en pacientes en estadio temprano (ERC1) vs terminal (ERC5).

**Diseño:** Estudio transversal analítico, donde se estudiaron diferentes marcadores de estrés oxidativo en muestras de suero de participantes divididos en dos subgrupos: (A) sujetos con ERC en estadio 1; (B) sujetos con ERC en estadio 5

**Materiales y métodos:** Se midió la actividad de dos antioxidantes(AOx): glutatión total (GSH), y vitamina C (VC) y dos oxidantes (Ox): malondialdehído (MDA) y productos tardíos de la glucosilación (AGEs). Paralelamente se obtuvieron valores clínicos y bioquímicos de todos los participantes. El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó mediante métodos estadísticos paramétricos o no paramétricos según se requirió (prueba t de Student o U de Mann-Whitney). Se buscó correlación entre la severidad de la ERC y los marcadores bioquímicos de estrés oxidativo, así como de la función renal. El valor de  $p < 0.05$  se consideró significativo.

**Consideraciones éticas:** El proyecto se aprobó por el comité local de investigación en salud (R-2017-3601-48). Este estudio cumplió con la normatividad de la Ley General de Salud y del Código de Helsinki vigentes.

**Resultados:** El análisis mostró una elevación significativa en la cuantificación de los productos avanzados de la glucosilación (AGE's) en el paciente con enfermedad renal crónica estadio 5 con respecto a pacientes en el estadio 1 ( $p < 0.0001$ ). El malondialdehído mostró un comportamiento similar ( $p < 0.0001$ ). En cuanto al grupo de los antioxidantes, la vitamina C mostró una disminución importante en el paciente con enfermedad crónica en estadio 5 con respecto a pacientes en el estadio 1 ( $p < 0.0001$ ). Los niveles de glutatión (GSH) mostraron también una disminución marcada. ( $p = 0.0029$ ) Como se esperaba la creatinina se encontró considerablemente elevada en el estadio 5, que va de la mano con la disminución en la tasa de filtración glomerular en este tipo de pacientes ( $< 0.0001$ ). En las mediciones de rutina, se han observado también diferencias estadísticas entre el grupo 5 en comparación con el grupo 1. El resto de las mediciones permanecieron sin cambios.

**Conclusiones:** Este estudio demostramos que los pacientes con ERC terminal tienen notablemente afectados los biomarcadores relacionados con el estrés oxidativo.

**Palabras clave:** Biomarcadores, estrés oxidativo, enfermedad renal crónica, adultos, antioxidantes



## DATOS DE LA TESIS

<b>DATOS DEL ALUMNO</b>	<b>DATOS DEL ALUMNO</b>
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre: Teléfono: Universidad: Facultad o Escuela: Carrera: No de Cuenta:	Andrade Moreno Raúl Alejandro 55320747 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Especialidad en Medicina Interna 408000075
<b>DATOS DE LOS ASESORES</b>	<b>DATOS DE LOS ASESORES</b>
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre:  Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre:	Gallardo Montoya Juan Manuel  Galván Plata María Eugenia
<b>DATOS DE LOS COLABORADORES</b>	<b>DATOS DE LOS COLABORADORES</b>
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre:  Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre:  Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre:	Villela Torres María de la Luz  Valdez Caballero Patricia  Gutiérrez Deras María Fernanda
<b>DATOS DE LA TESIS</b>	<b>DATOS DE LA TESIS</b>
Título:  No de Páginas Año Número de Registro	Estudio del estrés oxidativo en los diferentes estadios de la enfermedad renal crónica en adultos 84 2018 R-2017-3601-48

## INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Renal Crónica (ERC), es el término genérico para un grupo heterogéneo de desórdenes afectando la estructura y la función renal durante al menos tres meses; ésta consiste en la pérdida progresiva, permanente e irreversible de las funciones renales, (*id est*, tasa de filtrado glomerular  $< 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ), provocando el desarrollo del síndrome urémico.<sup>1</sup> Este síndrome resulta de los efectos biológicos de los metabolitos que no son excretados o metabolizados por los riñones y son retenidos en el cuerpo, afectando prácticamente cualquier órgano, con manifestaciones cardiovasculares, endocrinas, neurológicas, hematológicas y osteoarticulares, entre otras.<sup>2</sup>

Cuando la capacidad de los riñones para filtrar ha disminuido por abajo de  $15 \text{ mL/min/1.73m}^2$ , la enfermedad se conoce como Enfermedad Renal Crónica avanzada o terminal y cuyo único tratamiento es la diálisis o hemodiálisis.<sup>2</sup>

Actualmente la enfermedad renal crónica se clasifica tomando en cuenta criterios de filtrado glomerular, Marcadores de daño renal, así como albuminuria de la siguiente manera.<sup>3</sup> (Ver cuadro 1, 2, 3)

Cuadro 1		
Estadio	Velocidad de Filtración Glomerular VFG (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	Descripción
1	> 90	Daño renal con VFG normal o alta
2	60 - 89	Daño renal con ligero descenso de la VFG
3	3a 45 - 59	Daño renal con descenso moderado de la VFG
	3b 30 - 44	
4	29 - 16	Daño renal con descenso grave de la VFG
5	< 15	Daño severo de la función renal y con requerimiento de terapia sustitutiva

La ERC es una enfermedad silenciosa, ésta solo produce síntomas en estadios avanzados, por lo que la mayoría de las personas acuden para tratamiento en etapas tardías de la enfermedad. <sup>2</sup>

Cuadro 2	
Marcadores de Daño Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albuminuria (Tasa de Excreción de Albumina <math>\geq 30</math> mg/24 horas; Razón albumina-creatinina <math>\geq 30</math> mg/g [<math>\geq 3</math> mg/mmol])</li> <li>• Anormalidades en el seguimiento urinario</li> <li>• Alteraciones en electrolitos y otras anormalidades debido a defectos tubulares</li> <li>• Anormalidades detectadas por Histopatología</li> <li>• Anormalidades detectadas en Estudio de Imagen</li> <li>• Historia de Trasplante renal</li> </ul>

Cuadro 3				
Razón Albumina Creatinina (ACR)				
Categoría	REA (mg/24 horas)	(mg/mmol)	(mg/g)	Termino
A1	<30	<3	<30	Normal a moderadamente incrementada
A2	30–300	3–30	30–300	Moderadamente incrementada
A3	>300	>30	>300	Severamente incrementada

Según estadísticas internacionales, México es considerado como uno de los países con mayor incidencia de ERC, y donde existe la mayor tasa mortalidad entre este tipo de pacientes. Además, se considera a América Latina como la región del Mundo con la tasa más alta de mortalidad entre pacientes con ERC a nivel mundial. <sup>4</sup>

### Causas de la Insuficiencia Renal Crónica

Existen diferentes factores para el desarrollo de ERC, las dos más frecuentes son la diabetes mellitus y la hipertensión arterial sistémica descontroladas; sin embargo, existen múltiples causas (Ver cuadro 4).

<b>Cuadro 4</b>	
<b>Causas de la Enfermedad Renal Crónica</b>	<b>Factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad renal crónica</b>
Glomerulopatías	Historia familiar de enfermedades renales
Infecciones urinarias de Repetición	Bajo peso al nacer
Enfermedades tubulointersticiales	Obesidad
Enfermedad poliquística renal	Bajo peso al nacer
Daño o trauma directo al riñón	Tabaquismo y drogas de abuso
Lupus eritematoso sistémico y otras enfermedades autoinmunes	Dislipidemia
Litiasis renal	Dieta rica en proteínas.
Uso prolongado de analgésicos u otros fármacos nefrotóxicos	Hiperuricemia
Diabetes mellitus (1, y 2)	Enfermedad cardiovascular
Hipertensión arterial	Edad avanzada
	Bajo nivel educativo o social

En países desarrollados la ERC esta generalmente asociada a edad avanzada, diabetes, hipertensión, obesidad y enfermedad cardiovascular. <sup>1</sup> En México la principal

causa de enfermedad renal crónica es la diabetes mellitus (43%), hipertensión arterial (17%), glomerulopatías crónicas (14,4%), no determinadas (9.2%), enfermedad poliquística renal (4,7%), malformaciones congénitas de la vía urinaria (4%), nefropatía lúpica (3,3%) y otras (4,4%).<sup>5</sup>

### Complicaciones de la Enfermedad Renal Crónica

Existen múltiples complicaciones asociadas a ERC (cuadro 5), sin embargo, la enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de muerte en pacientes con ERC.<sup>1,2</sup> Los estudios recientes se han centrado en el desarrollo de terapias nuevas para reducir la mortalidad y la morbilidad por ECV en los pacientes con ERC. Los factores de riesgo cardiovascular conocidos, tales como hipertensión arterial, diabetes mellitus y la hiperlipidemia,<sup>5</sup> están fuertemente asociados con un mal pronóstico, sin embargo, actualmente se sabe que existen también factores de riesgo no tradicionales para la enfermedad cardiovascular en los pacientes con ERC tales como el estrés oxidativo.<sup>6</sup>

<b>Cuadro 5</b>	
Consecuencias del Síndrome Urémico	
Cardiovasculares	Hipertensión, sobrecarga Hídrica, Insuficiencia Cardíaca
Hematológicas	Anemia, hipercoagulabilidad, hemorragia, susceptibilidad a infecciones
Endocrinas	Hiperparatiroidismo, resistencia a la Insulina, disfunción tiroidea, infertilidad
Osteoarticulares	Osteomalacia, enfermedad adinámica del hueso
Neurológicas	Polineuropatía, disfunción cognitiva
Gastrointestinales	Anorexia, náusea, vómito
Dermatológicas	Atrofia cutánea, prurito, calcifilaxis
Otras	Desnutrición, hipercalemia, acidosis metabólica

El estrés oxidativo resulta de un exceso en la producción de las especies reactivas de oxígeno (EROs) y/o en la reducción de los antioxidantes como mecanismos de defensa, está bien documentado que en el paciente urémico existe una asociación directa con la disfunción endotelial, la inflamación, la aterosclerosis acelerada y su relación con la enfermedad cardiovascular. <sup>7,8</sup>

## **CONCEPTO DE OXIDACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO**

Se denomina reacción de reducción-oxidación, o reacción redox a aquella transformación química en la que existe transferencia de electrones de un compuesto a su contraparte. El compuesto reducido de un sistema transfiere electrones a la forma oxidada de otro, provocando un cambio en sus estados de oxidación. Los elementos que tienden a ceder electrones fácilmente y a oxidarse se les conoce como agentes reductores, mientras los que reciben electrones y se reducen se les llama agentes oxidantes. El conjunto de un oxidante y un reductor se le conoce como sistema redox. <sup>9</sup>

El estrés oxidativo describe un estado de daño tisular causado por el desbalance entre la generación de compuestos oxidantes y mecanismos antioxidantes insuficientes. Los radicales libres son parte de estas moléculas dentro de ellos se encuentran las especies reactivas de oxígeno (EROs). Estas representan un tipo de moléculas que derivan del metabolismo del oxígeno y existen en todos los organismos aeróbicos.<sup>10</sup> La mayoría son de origen endógeno y son subproductos de reacciones normales y esenciales, como la generación de energía mitocondrial y las reacciones catalizadas por el sistema P450. Entre los factores externos se incluyen las infecciones por bacterias,

parásitos, hongos y virus.<sup>11</sup>

La mayor parte de las reacciones redox se llevan a cabo en compartimientos especiales dentro de las células como membranas lipídicas, no obstante, ni los lípidos, proteínas o carbohidratos pueden recibir un electrón, sin embargo, existen estructuras no proteínicas que se conocen como grupos prostéticos capaces de recibir electrones sin convertirse en radicales libres. Un ejemplo de estos grupos son el hierro y el cobre. Otro grupo biológicamente importante son las vitaminas C, E, la coenzima Q, la bilirrubina y algunos carotenoides.<sup>10</sup>

A pesar de este sistema de protección, pueden existir fugas en el sistema y generar daño tisular con inflamación crónica, situación que ocurre frecuentemente en algunas enfermedades.<sup>8</sup>

## **Radicales libres**

La mayoría de los compuestos que forman a los seres vivos están compuestos de carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N). Todos son no metales y se encuentran unidos por enlaces covalentes. Para mantenerse estables requieren 8 electrones (e-) en su último nivel de energía y que éstos se encuentren en pares. Para poder llegar a este nivel de estabilidad los elementos se unen y comparten electrones, a esto se le conoce como enlace covalente. Estos enlaces son sumamente estables. El rompimiento del enlace puede ser de dos tipos: heterolítico u homolítico. En el primero la separación implica que un átomo o molécula se quede con el par de electrones completo

y el otro se quede sin nada, al adjuntarse un electrón de más adquiere carga negativa (anión) y al perderlo positiva (catión). En el segundo al romperse cada una de las moléculas conserva su electrón lo que indica que ninguna tendrá pareja, esto genera moléculas muy inestables conocidas como radicales libres. <sup>13</sup> (Figura 1)

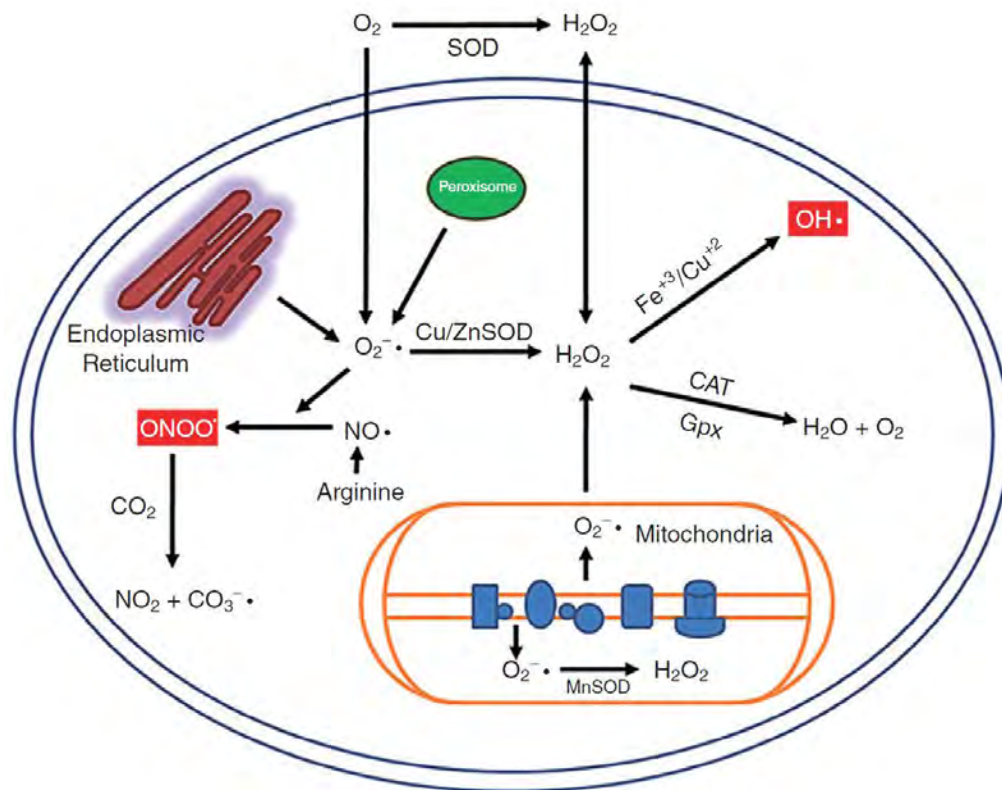


Figura 1. Formación de radicales libres <sup>6</sup>

Un radical libre (RL) se puede definir como cualquier especie atómica o molecular con uno o más electrones desapareados. Los radicales libres son moléculas altamente reactivas, esta reactividad depende del tipo de radical del que se trate, así como de la molécula con la cual reaccione. <sup>9</sup>

La historia de los RL como intermediarios reactivos inicia desde 1900 con los



experimentos de Gomberg, sin embargo, hasta 1960-69 Fridovich y McCord descubrieron una enzima que eliminaba radicales libres a nivel fisiológico. Años más tarde la comunidad científica reconoció su trabajo, y actualmente se sabe que esa enzima es la superóxido dismutasa (SOD) que interviene en la eliminación del radical superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ).<sup>12</sup>

En un inicio se pensaba que los RL eran puramente dañinos pues se asociaban a una gran cantidad de patologías como el cáncer, diabetes, fibrosis, alteraciones cardíacas, neurológicas, renales, etc. Actualmente se sabe que los radicales libres y el estrés oxidativo juegan un papel esencial como segundos mensajeros y forman parte de las vías de señalización en los procesos de proliferación y diferenciación celular. Todo esto ha llevado a una serie de investigación con el fin de entender los efectos de los radicales libres en el metabolismo normal y patológico.<sup>13</sup>

Si dos RL se encuentran pueden unir sus electrones desapareados formando de nuevo un enlace covalente. Si los dos RL son la misma especie química se produce una reacción de dismutación. Si el RL se une a una molécula que no es un radical se logra estabilizar, sin embargo, seguirá teniendo un electrón desapareado dentro de la molécula generando un nuevo radical libre, a esto se le conoce como reacción en cadena de los radicales libres y ocurre de varias maneras:<sup>9,13</sup>

Un radical libre puede ser un agente reductor: cuando dona su electrón desapareado a una molécula no radical, la molécula receptora se convierte en un RL, pero al mismo tiempo en un anión ya que tendrá un electrón de más.

Un radical libre puede ser una agente oxidante cuando acepta un electrón de una molécula no radical, la molécula que dona quedará con un electrón desapareado por lo que se convertirá en radical libre. <sup>9,13</sup>

Existen diferentes tipos de radicales libres sin embargo para las ciencias que estudian a los seres vivos, los más importantes son los que se forman con el oxígeno y el nitrógeno, mismos a los que se les conoce como especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) respectivamente, ya que ambas involucran al oxígeno es importante entender la química de éste. <sup>12,13</sup>

Entre los radicales libres se encuentran los derivados del oxígeno molecular, ( $O_2$ ) destacan el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ), el oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) y el ácido hipocloroso ( $HOCl$ ).<sup>9,10</sup>

## **Antioxidantes**

El organismo cuenta con sistemas antioxidantes para contrarrestar el efecto de las EROs. Se dividen en antioxidantes de tipo enzimático como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx) y las tiorredoxinas, las cuales son producidas por el organismo y otras no enzimáticas que se adquieren en la dieta como las vitaminas en particular la E (α-tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina A (β-caroteno) y el tripéptido glutatión (GSH), el cobre y el selenio. <sup>14</sup>

El antioxidante no enzimático más activo es el GSH el cual puede destruir  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ , y oxidantes clorados. El sistema del glutatión como antioxidante está constituido por el glutatión reducido y por la actividad de la enzima glutatión reductasa que se encarga de reducir sistemáticamente el glutatión oxidado; la transferrina y la ceruloplasmina se consideran proteínas antioxidantes.<sup>15</sup>

La vitamina E protege a la membrana celular de la peroxidación lipídica formando radicales tocoferoxil de baja reactividad. La vitamina C destruye  $O_2^{\bullet-}$ , y  $OH^-$ , Proteínas de inflamación como ferritina, transferrina y albumina tienen un efecto antioxidante no enzimático secuestrando la transición de hierro.<sup>16</sup> (Figura 2.)

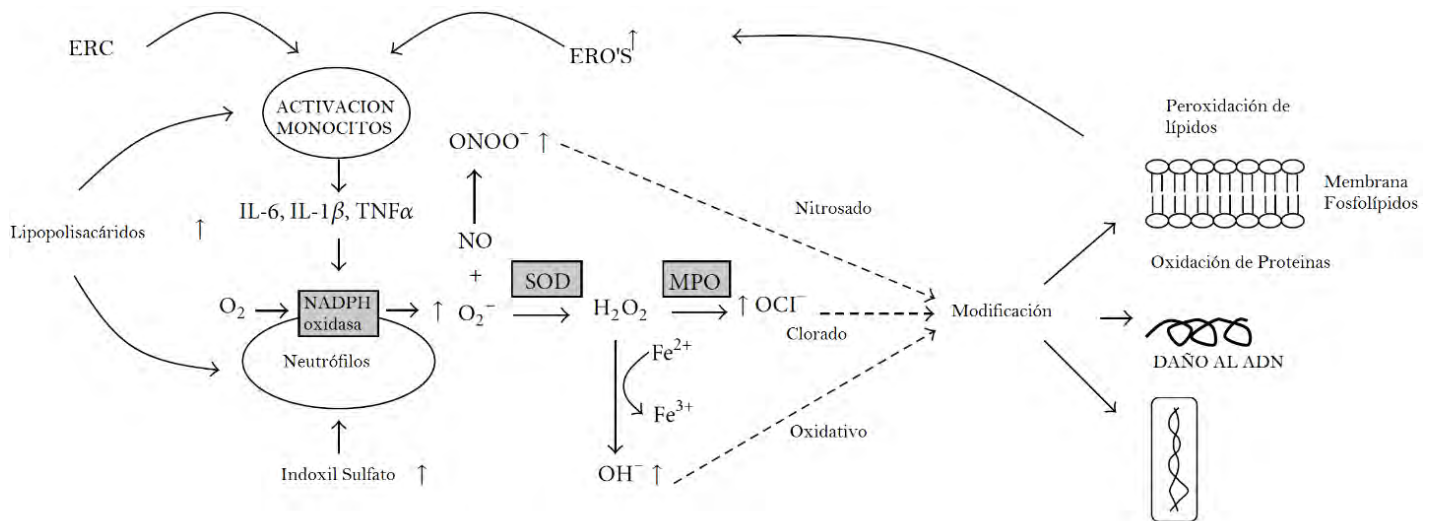


Figura 2. Síntesis de especies reactivas de oxígeno en pacientes con enfermedad renal crónica.<sup>12</sup>

## ESTRÉS OXIDATIVO

El balance oxidante-antioxidante ha sido estudiado ampliamente en varias

enfermedades y en los trastornos del sistema renal. En los últimos años se ha visto que el estrés oxidativo está presente en una gran variedad de condiciones patológicas y se cree que funcione como agente patogénico en muchas de esas condiciones.<sup>17</sup>

Existen evidencias experimentales que implican a EROs como mediadores primarios en la patogénesis de daño tisular por: procesos isquémicos, tóxicos y reacciones antígeno anticuerpo. Las EROs producen lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares generando daño de la integridad celular y alteración de la capacidad de transporte celular y la producción de energía. Además, existe daño microvascular principalmente mediado por citoquinas del tipo proinflamatorias y lesiones morfológicas con alteración de la permeabilidad y la hemodinamia renal.<sup>18,19</sup>

Un gran número de investigaciones que avalan la importancia de conocer el estado oxidativo; de manera que pensar en la terapéutica antioxidante se convierte en un pilar central del tratamiento preventivo y curativo de algunas enfermedades.<sup>20</sup>

Se ha propuesto que el estrés oxidativo está involucrado en varios estados patológicos como enfermedades cardiovasculares, infecciosas, cáncer, diabetes y trastornos neurodegenerativos.<sup>21,22</sup> Estas enfermedades tienen mayor incidencia en la uremia y en particular en los pacientes sometidos a diálisis. Esto podría constituir una evidencia que apunta hacia la probable existencia de un aumento de la exposición a estrés oxidativo en el curso de un deterioro renal crónico.<sup>19</sup>

El desplazamiento del equilibrio redox hacia la producción de ERO y otras toxinas

naturaleza oxidante, en relación con la capacidad de defensa antioxidante está favorecido en múltiples enfermedades por varios factores.<sup>23</sup> Uno es que el paciente con enfermedades crónicas por lo general tiene un pobre estado nutricional, por lo que cuenta con reservas deficientes en vitaminas y minerales que tienen una importancia capital en los mecanismos de defensa antioxidante. Se ha demostrado una marcada disminución de vitamina E, ácido ascórbico y glutatión reducido en pacientes con enfermedad renal crónica.<sup>24</sup> Se ha demostrado recién la acumulación de sustancias de naturaleza prooxidante en sangre y otros tejidos. Estos incluyen la homocisteína capaz de generar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante su metabolismo,<sup>25</sup> la carboximetil-lisina y la pentosidina. Estos compuestos se producen como consecuencia de la glucosilación y autoxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Estos a su vez pueden provocar la activación de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos capaces de generar grandes cantidades de EROs.<sup>26</sup>

## **ESTRÉS OXIDATIVO Y DAÑO RENAL**

Los oxidantes tienen una vida media de segundos, sin embargo, pueden persistir durante horas o semanas en los lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos después de ser modificados por radicales de oxígeno, lo que los hace excelentes marcadores de estrés oxidativo.<sup>27</sup>

El estrés oxidativo masivo podría aumentar tanto la peroxidación lipídica como el nivel de oxidación de proteínas, estas alteraciones son factores de riesgo para desarrollar complicaciones a largo plazo contribuyendo al progreso de la enfermedad renal crónica.<sup>28</sup> Los productos finales de glucosilación avanzada (pentosidina y carboximetil) y la

peroxidación lipídica (malondialdehidolisina) están elevados en el plasma y en la matriz de proteínas de pacientes urémicos varias veces superiores a lo normal.<sup>29</sup>

Durante la peroxidación lipídica, se producen reacciones en cadena dependientes de radicales de peroxilo junto con moléculas pequeñas de acilaldehídos de los ácidos grasos insaturados, rompiéndose a moléculas más pequeñas y productos más estables por ejemplo acroleína, malonildialdehído (MDA), 4-hidroxinonenal (HNE) o sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS). Los F2-isoprostanos son los productos primarios de la oxidación del ácido araquidónico y sirven como marcadores estables de marcadores de radicales libres de la membrana fosfolipídica de la célula.<sup>30</sup>

Las proteínas son blanco de daño mediado por factores oxidativos, como consecuencias producen productos resistentes a la proteólisis. Sin embargo, aún no se han encontrado marcadores de oxidación. Cuando los componentes oxidativos interactúan con los ácidos nucleicos contribuye a la mutagénesis y oncogénesis. Recientemente se ha visto daño en el ácido nucleico de los leucocitos en los pacientes con enfermedad renal crónica terminal. La determinación de 8-hidroxi 2 cromatografía (8OHdG) se utiliza para evaluar el daño del ADN de los leucocitos.<sup>31</sup>

El estrés oxidativo y la inflamación tienen características en común en los pacientes con enfermedad renal crónica terminal, se cree que tienen asociación con la disfunción endotelial, contribuyendo al incremento del riesgo cardiovascular. Se ha considerado que la presencia de inflamación y el tiempo de duración de la diálisis están determinados por el estrés oxidativo en pacientes con hemodiálisis.<sup>23</sup> Secundariamente

existe una asociación entre los niveles de F2-isoprostano y la proteína C reactiva.<sup>30</sup> En un estudio de 64 pacientes con ERC terminal vieron que existe una correlación significativa entre las proteínas de fase aguda y los marcadores de estrés oxidativo y el estallido respiratorio de los monocitos, lo que pone a los monocitos como protagonistas de la desregulación asociada a los pacientes con esta enfermedad.<sup>16</sup>

Recientemente se ha postulado que el estrés oxidativo sería otro factor a tener en cuenta en la patogénesis de la ERC progresiva.<sup>32</sup> De hecho, en estos últimos años el estrés oxidativo se ha señalado como un importante mediador patológico en muchas y muy diversas situaciones clínicas como la carcinogénesis, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y HTA, enfermedades neurodegenerativas y envejecimiento.<sup>33</sup>

Además, desde el punto de vista nefrológico, el estrés oxidativo también puede estar implicado en una amplia variedad de situaciones clínicas y experimentales,<sup>29</sup> enfermedades glomerulares del tipo glomerulonefritis membranosa, nefropatía IgA, antimembrana basal glomerular o enfermedad por cambios mínimos.<sup>34</sup> En la insuficiencia renal aguda post-isquémica o inducida por fármacos como acetaminofen, aminoglucósidos y cefalosporinas. En alteraciones asociadas al trasplante. En la nefropatía obstructiva y en la pielonefritis. En el deterioro funcional asociado a la ablación de masa renal y en la ERC.<sup>35</sup> Aumenta además los niveles de productos finales de oxidación lipídica (AGE's) y la presencia de anticuerpos específicos dirigidos a las lipoproteínas de baja densidad (LDL).<sup>36</sup>

La mayor parte de los estudios realizados en este sentido se han basado en la medición directa de productos oxidantes, de forma indirecta midiendo productos de la peroxidación lipídica en los tejidos renales, así como en la protección de la función renal en modelos experimentales mediante el uso de oxidantes.<sup>25,27</sup>

Estudios realizados en pacientes con distintos grados de ERC, sugieren que los enfermos renales están en una situación de estrés oxidativo si los comparamos con individuos sanos, y que el grado de estrés oxidativo está correlacionado con el grado de ERC. Pero también existen trabajos en los que se ha observado una superinducción de enzimas antioxidantes en condiciones de estrés oxidativo lo que demuestra claramente que el aumento de actividad antioxidante es la consecuencia del exceso de oxidación, en un intento de restaurar parcialmente la homeostasis celular.

Que los ROS están implicados en el daño renal progresivo se basa por tanto en varias líneas de evidencia: En la ERC está aumentada la producción de ROS. Distintas estrategias antioxidantes ejercen efectos beneficiosos en modelos de injuria renal crónica. El estrés oxidativo puede inducir en el riñón sano cambios similares a los vistos en la ERC.<sup>37</sup>

### **Diálisis Y estrés oxidativo**

Al ser el único tratamiento disponible para los pacientes con ERC terminal se han estudiado los efectos biológicos del tratamiento dialítico, donde se ha demostrado un incremento de los lipoperóxidos en plasma y membranas de células sanguíneas de los



pacientes que se someten a hemodiálisis (HD).<sup>24</sup> Se ha descrito también que la apoptosis de los leucocitos de sangre periférica, característica de estos pacientes, está asociada con el estrés oxidativo, por depleción intracelular de grupos tiol. Todo esto contribuye al empeoramiento progresivo del paciente.

Existen varias líneas de evidencia que indican que la ERC es un estado pro-oxidante, las cuales se pueden simplificar de la siguiente manera:

- 1.- Se han encontrado niveles elevados de lípidos, proteínas y DNA oxidados en pacientes con ERC. <sup>20, 23,24</sup>
- 2.- Parámetros oxidativos como lipoproteínas modificadas por ácido hipocloroso o productos avanzados de la glucosilación están presentes en las lesiones aterosclerosas de los pacientes con ERC. <sup>21,22, 36</sup>
- 3.- Hay evidencias también de que existen defectos en el sistema defensivo antioxidante, que conduce a un descenso en la neutralización de las acciones de las EROs. Este defecto de poder antioxidante se puede considerar también como un marcador de estrés oxidativo. <sup>20</sup>

La patogenia del estrés oxidativo en la ERC es obviamente multifactorial e incluye diferentes causas. A medida que progresa el deterioro de la función renal se acumulan en el organismo una serie de moléculas que denominamos toxinas urémicas. Se han descrito toda una serie de estas toxinas que contribuirían al daño vascular. <sup>29</sup> Estas sustancias retenidas pueden comportarse como substrato de posteriores modificaciones oxidativas en un medio urémico, motivo por el que alguna de ellas vería aumentada su

toxicidad. Existen gran variedad de factores comórbidos que ya por sí solos son capaces de aumentar el estrés oxidativo y, por otra parte, no menos despreciable, los pacientes que reciben tratamiento con Hemodiálisis o Diálisis Peritoneal están expuestos a otras circunstancias que pueden agravarlo. Sin embargo, el efecto que tienen las técnicas de sustitución renal sobre el balance oxidativo permanece sin aclarar.<sup>30</sup>

### Sistema de defensa antioxidante en la ERC

La medición del estatus antioxidante de los pacientes con enfermedad renal crónica es difícil de determinar en forma fidedigna, sin embargo, esto se puede estimar midiendo determinaciones en plasma de niveles de vitamina C y GSH-Px, contenido eritrocitario de SOD, GSH, GSH- Px y vitamina E, revelando deficiencia en pacientes con enfermedad renal crónica.<sup>16</sup> (Cuadro 6)

<b>Cuadro 6 Estrés Oxidativo en enfermedad renal crónica terminal</b>			
<b>Marcadores de estrés oxidativo</b>		<b>Antioxidantes</b>	
Peroxidación lipídica	Acroleína	Enzimáticos	Superóxido dismutasa
	Malonildialdehído		Catalasa
	4 hidroxinonenal		Glutación peroxidasa
	Sustancias reactivas Acido tiobarbitúrico		
	F2 isoprostanos		
	Productos avanzados de oxidación lipídica		
	Anticuerpos LDL oxidados.		
Oxidación proteica	Productos avanzados de oxidación de proteínas	No enzimático	Glutación Vitamina E Vitamina C Ferritina Transferrina Albumina
Oxidación de carbohidratos	Productos finales de glucosilación avanzada		
Oxidación de ácidos nucleicos	8 hidroxil 2 deoxiguanosina		

En pacientes con enfermedad renal crónica el balance entre la capacidad oxidante y antioxidante va aumentando conforme aumenta el estrés oxidativo. Se han demostrado graves deficiencias en los diferentes componentes de mecanismos de defensa antioxidante que favorecen este, por ejemplo, reducir niveles de vitamina C en la dieta (restringir frutas y vegetales para prevenir hipercalcemia, y pérdida de vitamina durante la diálisis), reducir niveles de vitamina E y niveles de selenio provocando una deficiencia del sistema carroñero de GSH. Así como a su vez existen factores que contribuyen al incremento de la actividad oxidantes como son la uremia, inflamación crónica y factores asociados con RRT. La hemodiálisis probablemente se asocie a la provocación de estrés oxidativo, a través del daño primario a la membrana bio-incompatible y un desafío de endotoxinas.<sup>39</sup>

En pacientes con hemodiálisis existe un incremento de niveles de EROS usando quimioluminiscencia. Los neutrófilos de pacientes urémicos demuestran una sobreproducción de EROS. Los niveles en sangre de los productos de oxidación lipídica y proteína se incrementan conforme progresa la enfermedad. El estrés oxidativo promueve la formación de AGEs, independientemente de los niveles de glucosa.<sup>16</sup>

En pacientes con enfermedad renal crónica, suplementos de vitamina E han reducido la susceptibilidad oxidativa de LDL previniendo el estrés oxidativo asociado a la terapia de la anemia o mejora la respuesta a la eritropoyetina. Los glóbulos rojos contienen altos niveles de antioxidantes, en particular GSH reducido, por lo que el incremento de estos provoca un aumento de la capacidad antioxidante.<sup>16</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Se ha evidenciado que el estrés oxidativo (EO) está involucrado en varios estados patológicos como enfermedades cardiovasculares, infecciosas, cáncer, diabetes y trastornos neurodegenerativos. Estas enfermedades tienen mayor incidencia en la uremia y en particular en los pacientes sometidos a diálisis, lo cual podría constituir una evidencia que apunta hacia la probable existencia de un aumento de la exposición a EO en el curso de un deterioro renal crónico.<sup>40</sup>

Cuando se estudian los mecanismos fisiopatológicos básicos de los trastornos renales se aprecia que en todos están presentes factores que predisponen al desequilibrio oxidativo. Los fenómenos isquémicos o tóxicos que pueden dañar al túbulo de manera aguda, así como el daño glomerular de origen inmunológico, pueden acompañarse de la generación excesiva de especies reactivas del oxígeno (EROs).<sup>41</sup>

Brevemente diremos que el EO aparece en las células y tejidos cuando existe una perturbación del equilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes a favor de las primeras. Las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres derivados del oxígeno que son especies intermedias de las reacciones químicas, y que se diferencian de otras especies químicas, en que tienen orbitales con electrones desapareados. Esto les hace ser extraordinariamente inestables y reactivas, y su avidez por electrones para completar el orbital, es lo que provoca sus ataques a estructuras moleculares. Entre las principales EROs destacan el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), el oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) y el

ácido hipocloroso (HOCL).<sup>42, 43</sup>

Durante la última década se ha dedicado considerable esfuerzo a investigar el papel de los radicales libres en la patogenia de las enfermedades. En el caso del riñón, el estrés oxidativo representa un punto de convergencia del mecanismo de daño renal provocado por nefropatías resultantes de muy diversas etiologías. Así, el daño que puede sufrir el riñón expuesto a isquemia, agentes nefrotóxicos o infecciosos, como también a obstrucciones de la vía urinaria, se asocia con un predominio pro-oxidante en relación con las defensas antioxidantes. Un blanco frecuente del ataque de los agentes pro-oxidantes son los lípidos de las membranas de las células renales, que ocasionan la peroxidación de estos. Esta lipoperoxidación compromete la integridad de la membrana basal y del epitelio de los órganos, por lo que también puede afectar las funciones de transporte realizadas en el túbulo renal.<sup>44, 45</sup>

Por lo tanto, las EROs podrían activar la secreción de moléculas inflamatorias y estas, a su vez, ejercer efectos mediados por radicales libres, originando un círculo vicioso que perpetúa la respuesta inflamatoria.<sup>46</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Está bien documentado que el estrés oxidativo es una de las causas contribuyentes en el avance y desarrollo de la enfermedad renal crónica, aumentando la morbilidad y mortalidad de manera significativa a medida que disminuye la tasa de filtrado glomerular, lo cual se traduce en peores desenlaces en comparación con pacientes en etapas tempranas de la enfermedad.

Actualmente no existen estudios concluyentes en población mexicana, que describan cuales son los cambios en la expresión de marcadores de estrés oxidativo en pacientes con enfermedad renal crónica. Por lo anterior, se requiere conocer los posibles cambios en el estado oxidativo y antioxidante para establecer medidas de prevención pertinentes e intervenciones de tratamiento oportunas.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles son los cambios en la expresión de los marcadores anti oxidativos y de estrés oxidativo durante la evolución de la enfermedad renal crónica en adultos?

## **HIPÓTESIS**

Existen cambios en la composición bioquímica del suero de pacientes con ERC y la severidad está directamente relacionada con la progresión de la ERC en adultos.

## **OBJETIVO GENERAL**

El presente trabajo tiene como objetivo investigar los posibles cambios en el estado antioxidante inducidos por la ERC en diferentes estadios. Es posible que los biomarcadores de estrés oxidativo y antioxidativo sean de utilidad para estimar el daño inducido por la ERC.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1.- Determinar las concentraciones de antioxidantes en suero (Vitamina C y glutatión total) en pacientes con ERC estadio I y estadio V.

2.- Determinar las concentraciones de oxidantes en suero (MDA y AGEs en pacientes con ERC estadio I y estadio V.

## **DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio clínico, transversal, comparativo

## **UNIVERSO DE TRABAJO**

Pacientes de ambos géneros mayores de 18 años de edad, menores de 70 años de edad, con Enfermedad Renal Crónica con o sin terapia sustitutiva renal mediante diálisis peritoneal o hemodiálisis, de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”.

## **LÍMITE DE ESPACIO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Se calculó esperando detectar una diferencia en los marcadores antioxidantes como oxidantes de al menos 0.2 entre los grupos con enfermedad renal. Considerando una potencia del 80% y una significancia del 95%. Con estos parámetros, el tamaño de muestra es de 32 pacientes en cada grupo en el programa estadístico MedCalc versión 12.4



## CONSIDERACIONES ÉTICAS

La obtención de la muestra sanguínea y procesamiento de datos se llevaron a cabo con base en los principios de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial "Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos" (Helsinki, 1964, enmienda 1975-2000) y la actual Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos.

El protocolo de investigación fue evaluado y registrado en el Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud N° 3601 de la UMAE Hospital de Especialidades. Todos los datos y la información personal recopilada en este estudio fueron sujetos a la confidencialidad médica y sólo pudieron ser reunidos para el procesamiento y la evaluación en forma anónima. Todas las muestras e información necesaria de todos los sujetos, fue recabada después de su firma del consentimiento informado para participar en el estudio.

Debido a la naturaleza del estudio este trabajo no interfería con las actividades normales del participante, no se administraron medicamentos o sustancias que pudiesen afectar a los pacientes, únicamente se recolectó una muestra de 3-5 mL de sangre. Esta recolección se realizó con métodos tradicionales ampliamente aceptados en la práctica clínica del laboratorio, en ningún caso se sometió a los pacientes a mayor estrés del que se encuentra cualquier tipo de paciente que acude al servicio de Medicina Interna.

Previamente al estudio se les explicó a los pacientes los procedimientos que se realizaron, y los análisis bioquímicos que se efectuarían, mismos que no representaron

ningún gasto extra para el voluntario o sus familiares ya que todos los procedimientos y los materiales consumibles de este estudio les fueron proporcionados de manera gratuita.

Una vez que se les fue explicado y fueron contestadas a entera satisfacción todas sus preguntas y dudas se les solicitó que firmaran el “Consentimiento Informado” (ver anexo 1)

El trabajo en su totalidad se apegó a las normas éticas descritas en el Reglamento de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, así como a las normas y reglamentos del IMSS.

## **BENEFICIOS Y POSIBLES RIESGOS**

### **Beneficios:**

Conocer la relación existente entre los antioxidantes y los marcadores de estrés oxidativo durante el desarrollo y evolución de la enfermedad renal crónica, así como también en los pacientes nefrópatas sometidos a terapia sustitutiva renal mediante diálisis peritoneal o hemodiálisis.

Riesgos:

Mínimos, solamente aquellos relacionados con la venopunción al momento de tomar las muestras sanguíneas. Dicho procedimiento se realizó con técnicas de asepsia estandarizadas internacionalmente con la finalidad de prevenir el daño a los tejidos blandos y/o flebitis.

### **Intervención y evaluación**

Para llevar a cabo el control y la evaluación de cada paciente se utilizó un formato de historia clínica en el cual se recabaron las variables de interés (Anexo 1). Los antioxidantes y los oxidantes en el plasma, así como los parámetros de laboratorio indispensables en el control del paciente nefrópata (biometría hemática, química sanguínea y perfil lipídico).

Para este fin, se recabó una muestra de 8 mL de sangre venosa por punción en una de las venas del antebrazo. Los pacientes fueron valorados por un médico residente de medicina interna con la finalidad de verificar los procedimientos arriba señalados.

## **VARIABLES**

### **Variable independiente:**

- Niveles Plasmáticos de Malondialdeído.
- Concentración sérica de LDL.

### **Variable dependiente:**

- Presencia de enfermedad renal crónica clasificada por la tasa de filtrado glomerular.

### **Co-variables.**

- Diabetes Mellitus.

## **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

El presente proyecto se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del Instituto Mexicano del Seguro Social con la dirección del Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya y la Dra. María Eugenia Galván Plata y con el auspicio parcial de fondos provenientes del Instituto Mexicano del Seguro Social y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Tipo de estudio**

Este estudio es piloto, prospectivo, observacional, descriptivo y transversal

### **Universo y muestra de estudio**

#### **Población**

Se estudiaron al menos 32 pacientes con edad entre los 18 y 70 años de uno u otro sexo. Los grupos quedaron establecidos de la siguiente manera:

G1 = Sujetos con diagnóstico de ERC en estadio 1

G2 = Sujetos con diagnóstico de ERC en estadio 5 sometidos o no a tratamiento con diálisis peritoneal

Todos ellos provenientes de áreas urbanas del área de influencia del Hospital de Especialidades del CMN "Siglo XXI".

## **DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se realizó un estudio piloto, transversal prospectivo, comparativo de la actividad de varias sustancias relacionadas con el estrés oxidativo en pacientes con ERC en diferentes fases de la enfermedad.

Como sustancias AOx se midieron vitamina C (Vit C), glutatión total (GSH), y ácido úrico (AU). Como oxidantes se midieron los productos avanzados de la glucosilación (AGEs) y malondialdehído (MDA). Como moléculas estables se midieron urea, Creatinina y la glucosa en el suero de todos los participantes.

## **SELECCIÓN DE PARTICIPANTES**

### **Criterios de inclusión**

+ Para todos los grupos:

-Sujetos de 18 a 70 años de edad

Los grupos fueron pareados por edad y sexo.

+ El grupo de ERC

Se clasificaron los grupos entre el estadio 1 y del 5 de acuerdo a la clasificación de la KDOQI para enfermedad renal.

La valoración del TFG se determinó utilizando la fórmula de Cockcroft /MDRD.

### **Criterios de exclusión**

Pacientes con otras enfermedades crónicas concomitantes con la enfermedad renal (cáncer, enfermedad neurológica, enfermedad pulmonar, enfermedad metabólica

endocrina no diabética.)

### **Criterios de eliminación**

Participantes que una vez iniciado el estudio decidieran abandonarlo por cualquier motivo.

Una vez seleccionados a los participantes, se le solicitó que acudieran en ayuno de al menos 10 horas para la obtención de muestras sanguíneas.

### **OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS**

#### **Muestras sanguíneas**

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante la punción de una vena del antebrazo y colectada en tubos de ensayo estériles (Vacutainer Becton Dickinson Immunocytometry Sistemas-EDIBs, EE.UU.). Todas las muestras se transportaron en un termo con hielo y una vez recuperado el suero, este fue alicatado en tubos de 0.6 mL y almacenado a -20°C.



## **ANÁLISIS BIOQUÍMICOS**

### **Mediciones bioquímicas**

Además de la medición de sustancias relacionadas con el estrés oxidativo se realizaron análisis de rutina que incluyeron biometría hemática completa así como química sanguínea de los siguientes analitos: glucosa, (GLU) urea, (UR) ácido úrico (AU), creatinina (CREAT), colesterol (COL), triglicéridos (TG), Volumen de Sedimentación Glomerular (VSG), albumina (ALB) y proteínas reactiva C (PCR) todas estas mediciones se realizaron en el laboratorio central del Hospital de Especialidades CMN "Siglo XXI", utilizando estuches de diagnóstico comerciales y medidos en equipos automatizados.

### **Glucosa**

La glucosa es fosforilada por una hexocinasa (HK) en presencia de adenosintrifosfato (ATP) y iones de magnesio para producir glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosindifosfato (ADP). La glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) oxida específicamente G-6-P a 6-fosfogluconato con la consecuente reducción de dinucleótido de Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) a dinucleótido de nicotinamida adenina fosfato reducido (NADPH). Un micromol de NADPH se produce por cada micromol de glucosa consumida. El NADH producido absorbe luz a 340 nm y puede ser detectado espectrofotométricamente como un incremento en la absorbancia.

## **Urea**

La urea representa el producto final de catabolismo proteico y es depurado por los riñones mediante filtración glomerular. Se utilizó el procedimiento de nitrógeno de urea (diacetil) el cual es una modificación del método descrito por Marsh. El monóxido diacetil reacciona con la urea para formar un color rosa, que puede ser medido colorimétricamente a 520 nm.

## **Triglicéridos**

Los triglicéridos son hidrolizados enzimáticamente por la lipasa a ácidos grasos libres y glicerol. El glicerol es fosforilado por el adenosín trifosfato (ATP) con glicerol cinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato y adenosín difosfato (ADP). Glicerol-3-fosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato (DAP) por el glicerol fosfato oxidasa (GPO) produciendo peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

## **MARCADORES ANTIOXIDANTES Y ESTRÉS OXIDATIVO**

### **Determinación de la peroxidación lipídica (MDA)**

El malondialdehído es el producto final de la peroxidación de los ácidos grasos y un marcador de la actividad de los radicales libres.<sup>47</sup> Para la medición de la concentración de peroxidación lipídica en plasma o tejidos se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) descrito por Wade y van Rij<sup>48</sup> Aunque el TBA no sólo se limita a la medición del

MDA, es el método más empleado para determinar la oxidación lipídica y por lo tanto el estrés oxidativo. En resumen, a una alícuota de muestra se le agregó 200  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético al 25%, y se incubó a 4  $^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos, posteriormente se centrifugó a 4  $^{\circ}\text{C}$ , 5000 x g durante 3 min., y el sobrenadante (100  $\mu\text{L}$ ) fue neutralizado con NaOH (JT Baker) 4 M. A 1 mL de la solución anterior se le adicionó 1 mL de TBA (AcrosOrganics, Bélgica) al 0.7 % y se incubó a 90  $^{\circ}\text{C}$  durante 60 min. La reacción de color se midió espectrofotométricamente (532 nm) en la fase orgánica (1-butanol). Se utilizó al tetrametoxipropano como estándar. La concentración de MDA (medido como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico TBAR) se expresó en  $\mu\text{mol/L}$ .

### **Determinación de productos avanzados de la glucosilación**

Para la determinación de AGEs, utilizamos el procedimiento fluorescente AGEs, usando una placa negra de 96 pozos y un fluorómetro (Fluoroskan acent FL Thermo). Se usaron 100  $\mu\text{L}$  of plasma desproteinizado con TCA a la concentración de 0.3 g/L. Posteriormente añadimos 200  $\mu\text{L}$  cloroformo, se agitó y centrifugó a 14,000 rpm por 5 min. Finalmente a 200  $\mu\text{L}$  del sobrenadante se le colocó en la multiplaca por triplicado y se leerá la intensidad de fluorescencia a 355 nm EM y 440 nm EX. Los resultados se expresaron en unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF) corregida por la cantidad de proteínas plasmáticas (medidas por absorbencia a 280 nm) para muestras plasmáticas. Para asegurarnos de que las lecturas del fotofluorómetro son adecuadas, se corrió una curva de calibración con sulfato de quinina como estándar, el cual utiliza los mismos filtros de EX y EM descritos arriba (360 y 440 nm respectivamente).

## **Medición de vitamina C**

Para la medición de vitamina se utilizó el procedimiento descrito por Prieto <sup>49</sup>. 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. La curva de calibración se preparó con ácido ascórbico y se lee a 695 nm.

## **Medición de la actividad del glutatión total (GSH)**

La actividad del glutatión total se analizó mediante el método de Beutler et al. <sup>50</sup> GSH-Peroxidasa se encarga de degradar al terbutilidroperóxido (t-BOOH) en presencia de GSH que es consumido. El GSH remanente es medido con el 5,5' ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB). La mezcla de reacción contiene 1 mL de GSH (Amresco) 2 mmol en PBS 400 mmol (pH 7.0), EDTA 4 mmol, 0.5% de azida de sodio 1 mmol, 250  $\mu$ L de muestra biológica y agua bidestilada para aforar a 4 mL. Tras la incubación a 37 °C durante cinco minutos, se añadió 1 mL de T-BOOH 1.25 mmol precalentado y se volvió a incubar por cuatro minutos más. Al final de ese periodo se recuperó 1 mL y se le añadieron 4 mL de ácido fosfórico (High Purity de México), se centrifugó a temperatura ambiente, y a 2000 x g durante 10 minutos. Se recuperaron 2 mL del sobrenadante y se le añadió 2 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 400 mmol y 1 mL del reactivo de DTNB. La absorbencia se midió a 412 nm. Los blancos y los estándares se prepararán de manera similar. La actividad de GSH-Px se expresa como U/mg de proteína.

## Medición de la albúmina

El contenido de albumina se analizó utilizando el reactivo de verde de bromocresol<sup>51</sup> que consiste en que 250 mL del reactivo se mezclan con 3 microlitros de muestra, se incuba durante 3 min. y se lee a 630 nm en el lector de placas (Eliread, Kontrolab, ciudad y país) para la curva de calibración se utiliza albumina sérica de bovino. El colorante anionico – verde de bromocresol – se une a la albumina presente en la muestra formando un complejo que se colorea de verde. La absorbancia medida se comparó con una curva estándar y el contenido de albumina se expresa en g/dL.<sup>52</sup>

## **ANALISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se almacenaron en una base de datos para su análisis. Las diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros de los grupos se evaluaron mediante el uso de la prueba paramétrica t de Student o no paramétrica de U Mann-Whitney, según fue el caso. Dado que no todos los parámetros bioquímicos se apegan a una distribución normal, se obtuvieron los valores de mediana (cuartil inferior - cuartil superior).

Todos los resultados que siguieron una distribución normal se expresaron como la media  $\pm$  error estándar (ES). El nivel de significación fue de  $p < 0.05$ . Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa de computo Prism V.4.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA).

## **LOGÍSTICA**

### **Recursos humanos**

En el presente proyecto trabajamos en colaboración un médico residente de medicina interna, un médico internista una química y un investigador todos ellos del Instituto Mexicano del Seguro Social.

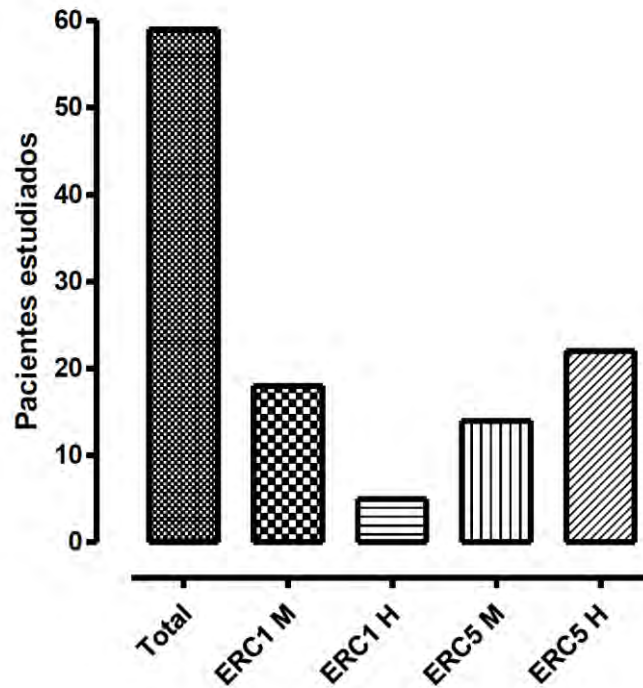
El médico residente y la médico internista se encargaron de reclutar a los pacientes, realizar las evaluaciones clínicas correspondientes y de recabar toda la información pertinente acerca de los pacientes y su padecimiento (ver anexo 4) y se encargaron de obtener las muestras sanguíneas de los participantes.

La pasante de Biología (MFGD), la M en C (MLV), la química (PVC) y el investigador (JMG) realizaron las determinaciones bioquímicas y el análisis estadístico de los datos.

Entre todos se revisaron constantemente los resultados, así como la bibliografía correspondiente, y elaboraron los informes parciales y final, así como de la redacción del artículo para una posible publicación

## RESULTADOS

Para el presente estudio se reclutaron 59 pacientes valorados en la consulta externa de valoración preoperatoria en el Servicio de Oftalmología, con una población compuesta de 54.23% (32) mujeres y 45.76% (27) hombres. (Gráfica 1).

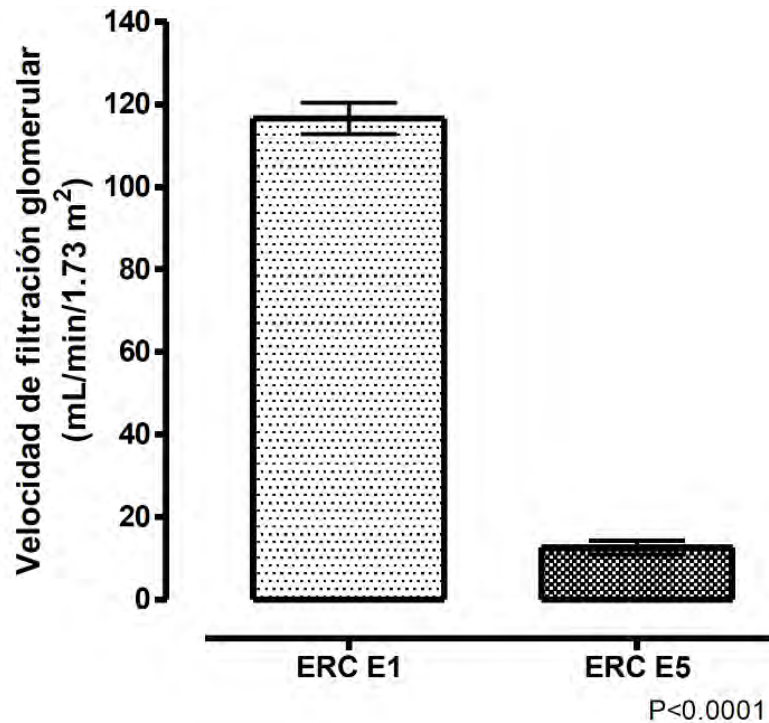


Gráfica 1. Detalle de la población estudiada

La edad promedio al momento del diagnóstico del grupo con estadio 1 fue de 44.57 años ( $\pm 8.75$  DE) con una edad máxima de 54 años y una mínima de 35 años. Con respecto al grupo con estadio 5 fue de 61.06 ( $\pm 7.57$  DE) con una edad mínima de 53 años y una edad máxima de 69 años; la diferencia entre los grupos fue significativa.  $p < 0.0001$



La tasa de filtración glomerular para estadificar a los pacientes en grupos quedó de la siguiente manera: (gráfica 2)



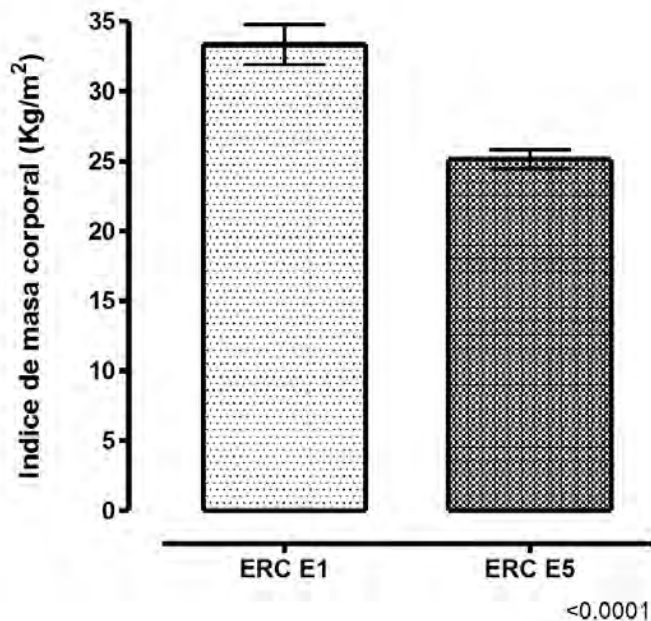
Gráfica 2. Velocidad de Filtrado glomerular en pacientes con ERC1 y ERC5

Entre las variables clínicas al momento de la evaluación destaca lo siguiente:

El promedio de la talla fue de 1.60 ( $\pm$  0.1012) en el estadio 1 contra 1.59 ( $\pm$  0.093) del estadio 5 sin que existiera diferencia entre los grupos.  $p=0.919$ .

Con respecto al peso se encontró un promedio en el estadio 1 de 84.96 ( $\pm$  16.98) a diferencia del estadio 5 con un promedio de 69.29 ( $\pm$  12.26)  $p=0.001$ .

En cuanto al IMC se cuantificó 33.35 ( $\pm$  6.89) en el estadio 1 a comparación del estadio 5 de 25.13 ( $\pm$  4.04)  $p<0.001$  (Gráfica 3)



Gráfica 3. IMC en pacientes con ERC1 y ERC5

Para la PAS se observó un promedio de  $124.8 (\pm 16.75)$  contra  $135.6 \pm 19.43$  en el estadio 1 y el estadio 5 respectivamente.  $p=0.0315$

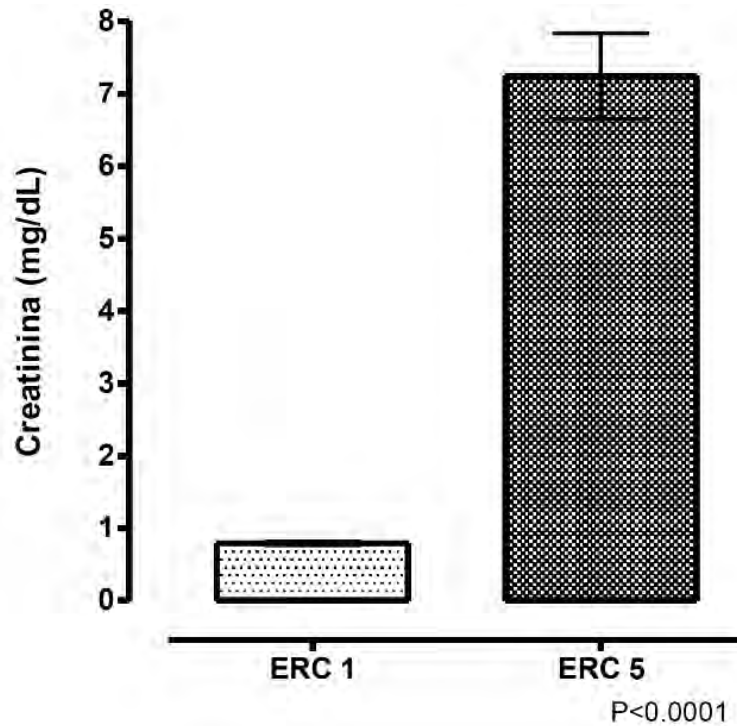
Para la PAD se observó  $79 (\pm 11.11)$  y  $84.25 (\pm 11.18)$  en estadio 1 y 5 respectivamente.  $p=0.083$ .

En cuanto a la PAM el promedio en el estadio 1 fue de  $94.26 (\pm 12.23)$  y de  $101.4 (\pm 11.47)$  para el estadio 5.  $p=0.0273$ .

En promedio la Presión de Pulso en el estadio 1 fue de  $45.78 (\pm 10.89)$ , contra  $51.39 (\pm 18.66)$ .  $p=0.197$

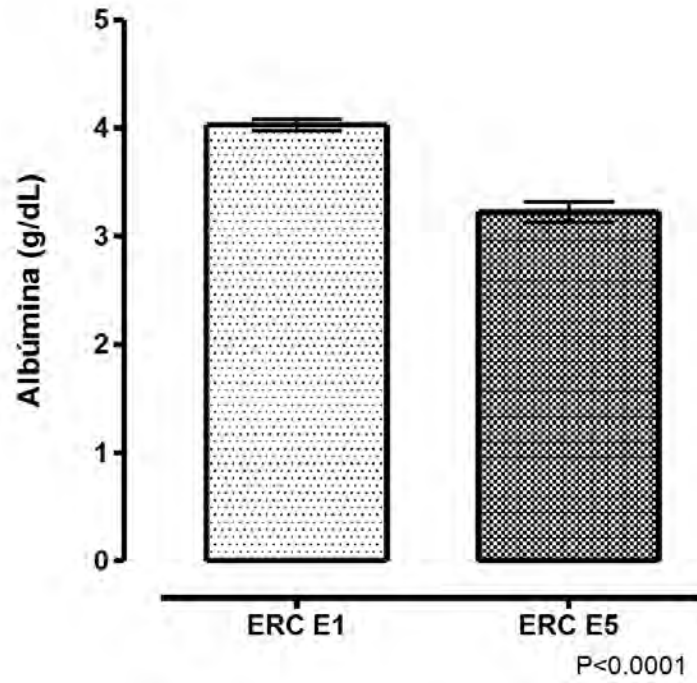
<b>Cuadro 1</b>			
<b>Características de la población</b>			
	<b>Estadio 1 n=23</b>	<b>Estadio 5 n=36</b>	<b>Valor de p</b>
Edad años	44.57 ± 8.75	61.06 ± 7.57	<0.0001
Peso kilogramos	84.96 ± 16.98	69.29 ± 12.26	0.001
Talla centímetros	1.6 ± 0.1012	1.59 ± 0.093	0.919
IMC kg/m <sup>2</sup>	33.35 ± 6.89	25.13 ± 4.04	<0.001
Presión Arterial Sistólica mmHg	124.8 ± 16.75	135.6 ± 19.43	0.0315
Presión Arterial Diastólica mmHg	79 ± 11.11	84.25 ± 11.18	0.083
Presión Arterial Media mmHg	94.26 ± 12.23	101.4 ± 11.47	0.0273
Presión de Pulso mmHg	45.78 ± 10.89	51.39 ± 18.66	0.197
Tasa de Filtrado Glomerular (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	116.6 ± 18.32	12.55 ± 10.36	<0.001
<p>Los valores se expresan como el promedio ± la desviación estándar. El valor de p expresa las diferencias estadísticas entre los pacientes del Estadio 1 versus Estadio 5 determinado por la t de Student.</p> <p style="text-align: right;">mmHg=Milímetros de mercurio IMC=Índice de Masa Corporal</p>			

El análisis bioquímico reveló como era esperado una diferencia significativa entre los dos grupos en la medición de Urea y creatinina. ( $29.33 \pm 7.398$  contra  $101.7 \pm 50.55$  y  $0.79597 \pm 0.1208$  contra  $7.245 \pm 3.555$ )  $p < 0.001$  (Gráfica 4)

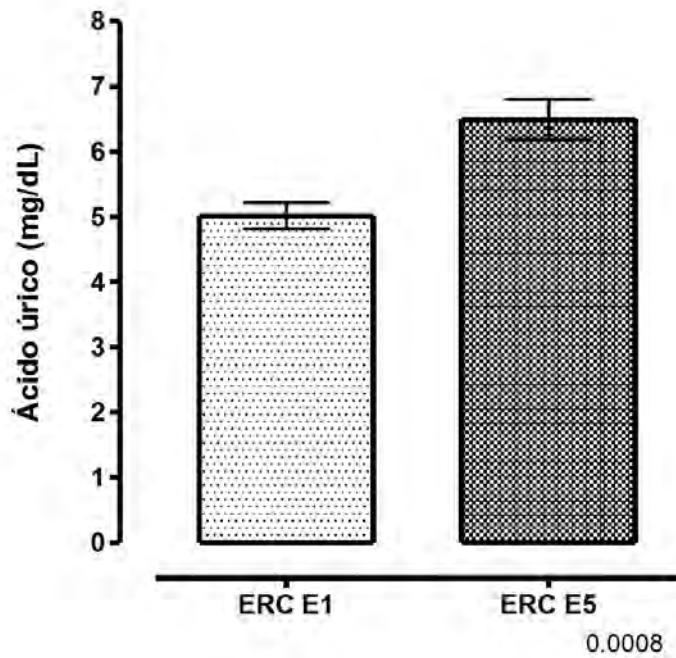


Gráfica 4. Diferencia de creatinina en pacientes con ERC1 y ERC5

Es importante notar que se observaron diferencias importantes en los niveles de Albumina, así como de ácido úrico ( $4.025 \pm 0.214$  contra  $3.22 \pm 0.562$ )  $p < 0.0001$  y ( $5.01 \pm 0.957$  contra  $.492 \pm 1.837$ )  $p = 0.008$  entre los pacientes estadio 1 con respecto a o 5, respectivamente. (Gráfica 5 y 6)



Gráfica 5. Medición de albumina en pacientes con ERC1 y ERC5



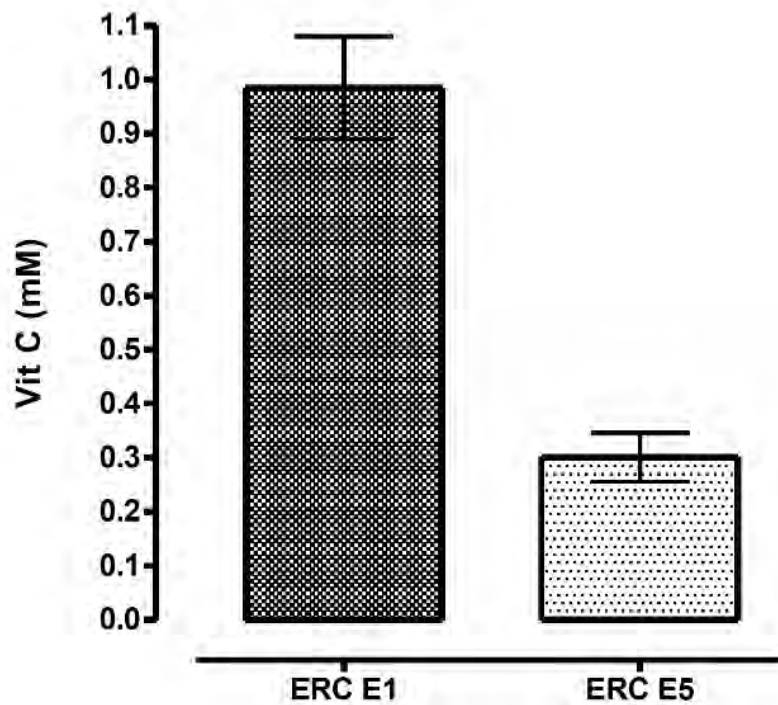
Gráfica 6. Medición de Ácido úrico en pacientes con ERC1 y ERC5

En la biometría hemática, se observaron cambios asociados a la enfermedad crónica con hemoglobina medida de  $(14.57 \pm 1.85)$  contra  $(11.21 \pm 1.92)$   $p=0.001$  entre los pacientes con estadio 1 contra pacientes con estadio 5. No se observaron cambios significativos en la comparación de pacientes al analizar Hemoglobina glucosilada,  $(7.65 \pm 1.750)$  contra  $7.0375 \pm 1.535$   $p=0.4206$ , VSG  $(20.20 \pm 15.6)$  contra  $28 \pm 8.12$   $p=0.319$  ni PCR  $(0.306 \pm 0.465)$  contra  $0.447 \pm 0.559$   $p=0.579$ .

<b>Cuadro 2</b>			
<b>Análisis Bioquímico</b>			
	<b>Estadio 1-2 n=36</b>	<b>Estadio 4-5 n=23</b>	<b>Valor de p</b>
Glucosa mg/dL	$185.6 \pm 18.35$	$187.3 \pm 85.38$	0.9353
Urea mg/dL	$29.33 \pm 7.398$	$101.7 \pm 50.55$	<0.001
Creatinina mg/dL	$0.79597 \pm 0.1208$	$7.245 \pm 3.555$	<0.001
Colesterol mg/dL	$181.2 \pm 18.35$	$148 \pm 47.67$	0.0023
Triglicéridos mg/dL	$160.1 \pm 44.63$	$153.3 \pm 94.14$	0.784
Albúmina g/L	$4.025 \pm 0.214$	$3.22 \pm 0.562$	<0.0001
Ácido Úrico mg/dL	$5.01 \pm 0.957$	$6.492 \pm 1.837$	0.008
Hemoglobina Glucosilada HbA1c %	$7.65 \pm 1.750$	$7.0375 \pm 1.535$	0.4206
Hemoglobina g/dL	$14.57 \pm 1.85$	$11.21 \pm 1.92$	0.001
PCR mg/dL	$0.306 \pm 0.465$	$0.447 \pm 0.559$	0.579
VSG mm/hr	$20.20 \pm 15.6$	$28 \pm 8.12$	0.319
Los valores se expresan como el promedio $\pm$ la desviación estándar. El valor de p expresa las diferencias estadísticas entre los pacientes del Estadio 1 versus Estadio 5 determinado por la t de Student.			

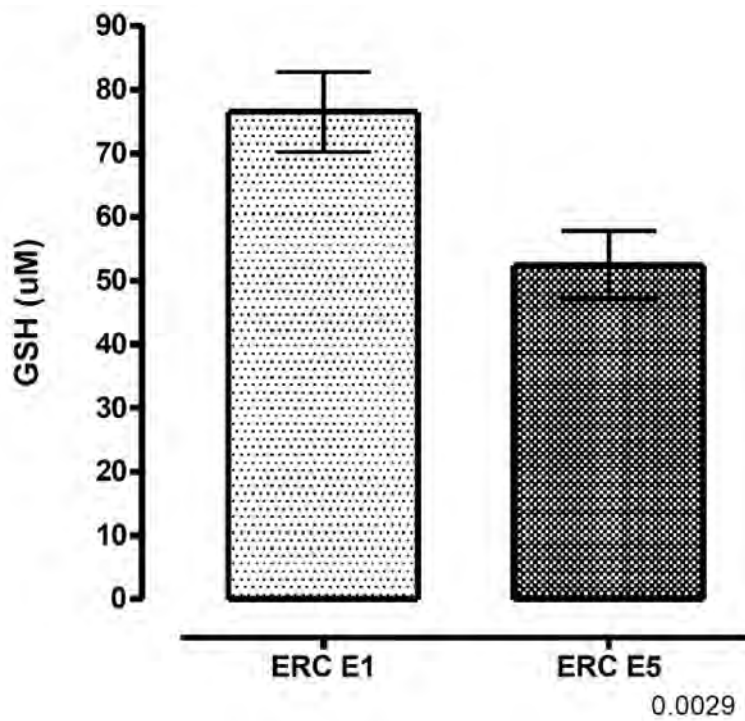
mg/dL=Miligramos sobre Decilitro  
g/L=gramos sobre Litro  
mm/hr= Milímetros sobre Hora  
PCR= proteína C reactiva  
VSG= velocidad de sedimentación glomerular

Al analizar la actividad antioxidante en nuestra población se observó una disminución en los niveles de vitamina C entre el estadio 1 con respecto al estadio 5 ( $0.984 \pm 0.571$  contra  $.301 \pm .219$ )



Gráfica 7. Medición de Vitamina C en pacientes con ERC1 y ERC5

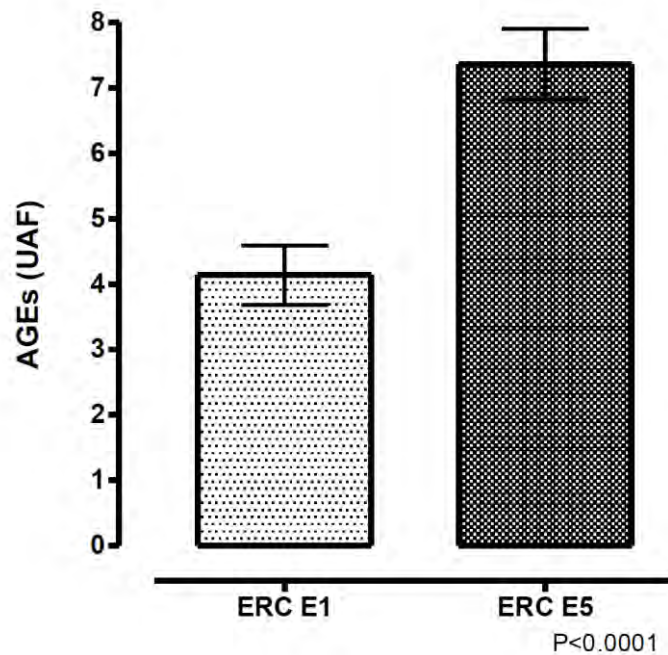
De manera similar, se observó la disminución significativa del GSH entre los dos grupos con  $76.5 \pm 30.06$  y  $52.45 \pm 32.32$  en el estadio 1 y el estadio 5 respectivamente.  $p=0.0029$



Gráfica 8. Medición de Vitamina GSH en pacientes con ERC1 y ERC5

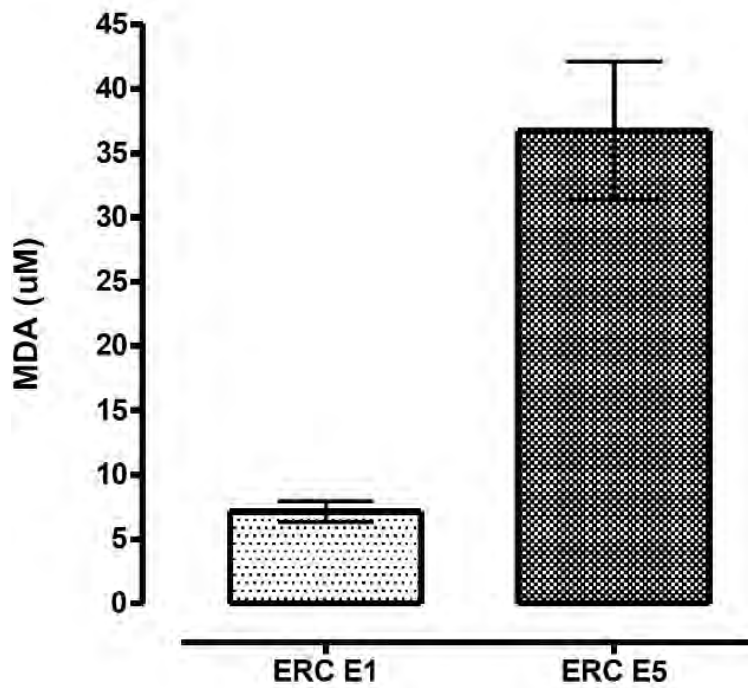


La evaluación de la actividad oxidante en nuestros pacientes, reflejada en la medición de AGEs demostró una elevación significativa en pacientes con estadio 5 a comparación de los pacientes con estadio 1 ( $4.136 \pm 2.185$  contra  $7.359 \pm 3.238$ )  $p < 0.0001$



Gráfica 9. Medición de AGEs en pacientes con ERC1 y ERC5

De igual manera la medición del malondialdehído mostró una elevación significativa en el estadio 5 con respecto al estadio 1. ( $7.13 \pm 4.24$  contra  $36.73 \pm 25.11$ )  $p < 0.0001$



Gráfica 10. Niveles de MDA en pacientes con ERC1 y ERC5

<b>Cuadro 3</b>			
<b>Análisis del estado Oxidativo</b>			
	<b>Estadio 1-2 n=36</b>	<b>Estadio 4-5 n=23</b>	<b>Valor de p</b>
AGES UAF	4.136 ± 2.185	7.359 ± 3.238	<0.0001
MDA µmol	7.13 ± 4.24	36.73 ± 25.11	<0.0001
Vitamina C mM	0.984 ± 0.571	.301 ± .219	<0.0001
GSH µmol	76.5 ± 30.06	52.45 ± 32.32	0.0029
<p>Los valores se expresan como el promedio ± la desviación estándar. El valor de p expresa las diferencias estadísticas entre los pacientes del Estadio 1 versus Estadio 5 determinado por la t de Student.</p> <p style="text-align: right;">UAF=Unidades Arbitrarias de Fluorescencia µmol= micro mol mM=mili Mol</p>			

## DISCUSIÓN

Con base en los datos obtenidos por laboratorio central encontramos que la tasa de filtrado glomerular tiene una caída significativa en pacientes con a ERC1 con respecto a los pacientes con ERC5 consistente con lo reportado ampliamente en la literatura. (ver gráfica 2)

En las mediciones demográficas encontramos que ambos grupos se encuentran muy similares en la estatura, sin embargo, al realizar las comparaciones en el peso, los con pacientes con ERC5 se encuentran con una disminución marcada de peso de aproximadamente 15 kg. (69.29 vs 84.96 comparación de las medias). Todos estos aspectos concuerdan con lo previamente reportado en la literatura mundial ya que el desgaste nutricional está ampliamente relacionado con la enfermedad renal crónica. (ver gráfica 3)

En cuanto a las presiones arteriales, si bien las diferencias no son estadísticamente tan grandes si existen tendencia hacia valores más altos de presiones arteriales (PAS, PAD, PAM, PP) en pacientes con ERC5. (ver cuadro 1)

En las mediciones de laboratorio de rutina, (glucosa, urea, creatinina, albumina, ácido úrico) encontramos que los pacientes con ERC1 están prácticamente dentro de los valores normales, no encontramos diferencias significativas en los valores de glucosa (ambos grupos con un promedio de 186.45 mg/dl)

La urea, esta notablemente aumentada en el paciente con ERC5 en comparación con el paciente ERC1. La creatinina se encontró en valores muy semejantes a la población sana (0.79 mg/dL ERC 1) en comparación con los pacientes con ERC5 que tienen un promedio de 7.24 mg/dL. (ver gráfica 4)

La albumina coincidente con lo reportado con ERC terminal, caracterizada, por desnutrición, inflamación y aterosclerosis entre otras características clínicas. ésta se encuentra disminuida notablemente en los pacientes con ERC5 a comparación del paciente con ERC1 lo que sugiere que los pacientes de nuestra institución, se comportan de manera similar a lo que se reporta para esta enfermedad en otras latitudes. (ver gráfica 5)

El ácido úrico ha demostrado ser una molécula con varias propiedades químicas en los mamíferos entre ellas ser una sustancia con capacidad antioxidante y que algunos autores han considerado que esta molécula por si misma aporta entre el 30-50% de la capacidad oxidativa total sanguínea de los mamíferos. Los pacientes con enfermedad renal ERC1 tienen aproximadamente 5 mg/dL en tanto que los pacientes con ERC5 tienen 6.5 mg/dL esto sugiere que o bien esta molécula no se está depurando de manera regular o que se encuentra incrementada como una sustancia antioxidante. Pensamos que ambas situaciones están ocurriendo. (ver gráfica 6)

El propósito de la presente tesis ha sido estudiar los cambios bioquímicos en los antioxidantes como oxidantes, en los pacientes con diferente estadio de ERC. En esta tesis se presentan resultados de pacientes con ERC1 vs ERC5.

En párrafos anteriores los resultados concuerdan con lo que se ha descrito previamente en relación con esta enfermedad

En los siguientes párrafos describiremos algunos datos que pensamos son novedosos tanto en el ámbito nacional como en el internacional y que pudieran tener importancia clínica en un futuro muy próximo, ya que estos marcadores actualmente son considerados como moléculas no tradicionales de inflamación en las enfermedades crónicas.

En este sentido encontramos que la vitamina C disminuye a una tercera parte en los pacientes con ERC5 en relación a lo observado en los pacientes con ERC1. Esto significa que existe una caída muy importante en el antioxidante exógeno más destacado y que sugiere que la vitamina C es consumida por el incremento de los oxidantes. (ver gráfico 7)

El GSH es un tripéptido con elevada capacidad antioxidante localizado en el interior de las células principalmente, pero que también tiene el mismo efecto antioxidante el medio extra celular, en este estudio hemos encontrado que el GSH total también está disminuido en los pacientes con ERC5 en comparación con los de estadio 1 esta disminución prácticamente es del 50% y que va de la mano con la disminución de la vitamina C. (ver gráfico 8)

En conclusión, podemos afirmar que los antioxidantes como la vitamina C y el GSH disminuyen en el paciente con ERC debido a el desgaste de las mismas o en el caso de la GSH a la producción ineficiente de la misma, causando una disminución en la actividad antioxidante y el incremento del proceso oxidativo en estos pacientes.

Con respecto a los oxidantes, en este trabajo optamos por estudiar los cambios en el MDA una molécula relacionada con la peroxidación de los lípidos y los AGEs, que están relacionados con la toxicidad de la glucosa, y que produce una afectación importante a las proteínas plasmáticas particularmente la albumina.

El MDA, así como los AGEs se incrementan de manera importante en los pacientes con ERC5, siendo casi 9 veces mayor que la observada en ERC1. (ver gráficas 9, 10) En estudios previos se ha reportado que conforme progresa la enfermedad renal se incrementa el proceso aterosclerótico, y es sabido que, en los pacientes con ERC, la mortalidad esta notablemente elevada debido a complicaciones cardiovasculares

Es posible que el incremento en la aterosclerosis este íntimamente relacionado con la oxidación de los lípidos, y que en este trabajo queda demostrado como se aprecia en la gráfica.

La glucosilación es un proceso que ocurre de manera natural en los tejidos cuando estos se encuentran en presencia de concentraciones altas de glucosa, se puede deber a procesos enzimáticos como no enzimáticos, ambos se presentan en los organismos vivientes. En este estudio hemos organizado los cambios que se dan en los pacientes

con nefropatía diabética, la cual cursa con constantes o frecuentes elevaciones de la glucosa plasmática, por tanto, las moléculas sanguíneas que están expuestas a estos niveles altos de glucosa, pueden ser fácilmente glucosiladas, un ejemplo es la elevación de la hemoglobina glucosilada como se observa en el cuadro 2. La medición de las moléculas glucosiladas en los organismos, se manifiestan por la elevación de los productos tardíos de la glucosilación (AGEs) y que en paciente con ERC se elevan, siendo más manifiesto en estadio 5 (7 UAF) mientras que en el paciente con ERC1 está en 4 UAF, esto sugiere que conforme progresa la enfermedad renal se incrementan los productos glucosilados, como lo mostramos en la figura.

El estudio demostró un incremento en la actividad oxidativa y una disminución de los niveles de antioxidantes entre los sujetos al disminuir su tasa de filtración glomerular. Esta relación sugiere que los cambios en los parámetros de los estados de Antioxidantes y Oxidativos están muy relacionados con la progresión y severidad de la Enfermedad Renal Crónica (ERC). Este estudio podría mostrar la potencial aplicación en la medición de marcadores de estrés oxidativo para determinar el daño inducido por la ERC.



## **CONCLUSIONES**

Tomando en cuenta tanto las manifestaciones clínicas, como los resultados bioquímicos de rutina y aunados a los valores disminuidos en los antioxidantes y elevación de los marcadores oxidantes, podemos concluir que durante la evolución de la ERC se manifiestan cambios importantes en la anti oxidación (Vitamina C, GSH) como en la oxidación (MDA, AGES) podemos afirmar que el balance en favor de la oxidación se incrementa conforme evoluciona la ERC.

Es importante que este tipo de estudios se realice en todas las etapas de la ERC, partiendo desde los sujetos sanos hasta los pacientes que se encuentren en terapia sustitutiva de la función renal como la DP, y la HD.

Aunque no es el propósito de esta tesis, queremos manifestar que se encuentran en desarrollo nuevos trabajos que continuarán en ese sentido.

## REFERENCIAS

1. Levey, A., Coresh, J. Chronic Kidney Disease. *Lancet* 2012; 379:165-80
2. Vanholder, R. et al. Clinical management of the uraemic syndrome in chronic kidney disease. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016; 4: 360-37
3. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Inter. Suppl.* 2013; 3: 1-150
4. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 *Lancet* 2016; 388: 1459-544
5. Méndez-Duran, A. Epidemiología de la Insuficiencia renal crónica en México. *Dial Traspl* 2010; 31: (1) 7-11
6. Small, D., Coombes, J., Bennett, N., Johnson, D., Gobe, G. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology* 2012; 17: 311-321
7. Cachofeiro, V., Goicochea, M., Garcia de Vinuesa, S., Oubiña, P., Lahera, V. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International* 2008 74 (Suppl 11), S4-S9
8. Sung, C., Hsu, Y., Chen, C., Lin, Y., Wu, C. Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013; 1-15
9. Koolman, J., Röhm, K. H. *Bioquímica: Texto y Atlas*. 3era ed. Madrid: Médica Panamericana 2004; 32
10. Sack, M., Fyhrquist, F., Saijonmaa, O., Fuster, V., Kovacic, J. Basic Biology of Oxidative Stress and the Cardiovascular System *JACC* Jul 2017; 70 (2) 196-21
11. Ivanov, A., Bartosch, B., Isaguliant, M. Oxidative Stress in Infection and Consequent Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2017, 3 pages, 2017
12. McCord, J., Edeas, M. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2015 59:139-142
13. Laguna, J., Piña, E., Martínez-Montes, F., Pardo-Vázquez, J., Rivero-Rosas, H. Radicales libres y estrés oxidativo. *Bioquímica de Laguna*. 6ª ed. 2009. P189-203
14. Birben, E., Sahiner, U., Sackesen C, Erzurum, S., Kalayci O. Oxidative Stress and

Antioxidant Defense. The World Allergy Organization journal. 2012;5(1):9-19

15. Cross, C., Haliwell, B., Borish, E., Pryor, W., Ames, B., Saul, R., Harman, D. Oxygen radicals and human disease. Davis conference. *Ann Internal Med* 1987; 107(4) 526-545
16. Imig, J., Ryan, M. Immune and Inflammatory role in renal disease. *Compr Physiol*. 2013; 957-976
17. Costa-Hong, V., Bortolotto, L., Jorgetti, V., Consolim-Colombo, F., Krieger, E., Galvão de Lima, J. La insuficiencia renal crónica parece ser un estado de aumento de estrés oxidativo. *Arq Bras Cardiol* 2009; 92(5): 398-403
18. Kao, M., et al. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *Journal of Human Hypertension* 2010; 24, 1–8
19. Jan, Galle. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (11): 2135-2137
20. Canaud, B., Cristol, J., Morena, M., Moragues-Leray, H., Bosc, J., Vaussenat, F. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif*. 1999 (17): 99-106
21. Himmelfarb, J., Stenvinkel, P., Ikizler, T., Hakim, R. The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int*. 2002; (62): 1524-1538
22. Kitiyakara, C., Wilcon, C.S. Antioxidants for hypertension. *Nephrol. Hypertens*. 1998; (7): 531-538,
23. Nguyen-Khoa, T., Massy, Z., De Brandt, J., Kedebé, M., Salama, L., et al. Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 335-340
24. Galli, F., Canestrari, F., Buoncristiani, U. Biological effects of oxidant stress in haemodialysis: possible roles of vitamin E. *Blood Purif* 1999;17:79-94.
25. Miyata, T., van Ypersele de Strihou, C., Kurokawa, K. and Baynes, J. Alternation in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of carbonyl stresses in long term uremic complications. *Kidney Int*. 1999; (55) 389-399,
26. Akpolat, T., Akpolat, I., Ozturk, H., Sarikaya, S., Cosar, A., Bedir, A. Effect of vitamin E and pentoxifylline on glycerol-induced acute renal failure. *Nephron* 2000; (84) 243-7.
27. Sharma, A., Arora, M., Goyle, A., Jain, R., Gupta, H., Gupta, R. Lipid peroxide levels in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India* 1999; 47: 296-7

28. Roselaar, S., Nazhat, N., Winyard, P., Jones, P., Cunningham, J., Blake, DR. Detection of oxidants in uremic plasma by electron spin resonance spectroscopy. *Kidney Int* 1995; (48):199-206
29. Vanholder, R. et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003 (5): 1934-43
30. Handelman, G., Walter, M., Adhikarla, R., Gross J, Levin NW et al. Elevated F2-isoprostanes in patients on long-term hemodialysis. *Kidney Int* 2001; 59: 1960-1966
31. Luo, Y., Henle, E., Linn, S. Oxidative damage to DNA constituents by iron-mediated Fenton reactions. *J. Biol. Chem.* 1996; (271): 21167-21176,
32. Hasselwander, O., Young, I. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free Rad Res* 1998; 29:1-11
33. Pham-Huy, L., He, H., Pham-Huy, C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS.* 2008;4(2):89-96.
34. Roppo, R., Camilla, R., Amore, A., Peruzzi, L. Oxidative Stress in IgA Nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2010;116:c196-c199
35. Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K., Stenvinkel, P., Wanner, C., Zoccali, C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-1280,
36. Sakata, N., Imanaga, Y., Meng, J., Tachinawa, Y. Takebayashi, S. et al. Increased advanced glycation end products in atherosclerotic lesions of patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis* 1999; 142: 67-77
37. Ozbek, E. Induction of oxidative stress in kidney. *J Nephrol* 2012; 465897, 2012
38. Meitern, R., Sild, E., Lind, M. et al. Effects of Endotoxin and Psychological Stress on Redox Physiology, Immunity and Feather Corticosterone in Greenfinches. Saino N, ed. *PLoS ONE.* 2013;8(6):e67545.
39. Sakaguchi, S., Furusawa, S. Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2006 47: 167–177.
40. González-Rico M., Puchades M., García Ramón R., Saez G., Tormos M., Miguel, A. Effect of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Nefrología.* 2006; 26(2):218-25.
41. Yung L., Leung F., Yao X., Chen Z., Huang Y. Reactive oxygen species in vascular

wall. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2006;6(1):1-19.

42. Hicks J., Torres-Ramos Y., Sierra-Vargas M. Estrés oxidante, concepto y clasificación. *Rev Endocrinol Nutr*. 2006; 14:223-6.
43. Valco, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M., Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Intern J Biochem Cell Biol*. 2007; 39:44-84.
44. Ferretti, G., Bacchetti, T., Masciangelo, S., Pallotta, G. Lipid peroxidation in hemodialysis patients: Effect of vitamin C supplementation. *Clin Biochem*. 2008; 41:3816.
45. Karamouzis, I., Sarafidis, P., Karamouzis, M., Iliadis S., Haidich A., Sioulis A., et al. Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol*. 2008; 28:397404.
46. Tian, N., Moore, R., Braddy, S., Rose, R., Gu, J., Hughson, MD., et al. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293 (6):H3388-95.
47. Valenzuela, A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci* 1991; 48:301-309
48. Wade, C., van Rij, A. Plasma thiobarbituric acid reactivity: Reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxy radicals on the quantitation of plasma lipid peroxides. *LifeSci* 1988; 43: 1085-93
49. Prieto, P., Pineda M., Aguilar, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 1999; 269:337-341
50. Beutler, E., Duron, O., Mikus, B. Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
51. Bradford, M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248
52. Dumas, B., Watson, W., Biggs, H. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta*. 1997 Feb 3;258(1):21-30.

## **ANEXOS**

- 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO**
- 2. DEFINICIÓN DE VARIABLES**
- 3. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA (CUAL)**
- 4. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Coordinación de Investigación en Salud  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO:

#### “ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN ADULTOS”

Número de Registro: \_\_\_\_\_

#### **Propósito del estudio:**

Lo (La) estamos invitando a participar en un estudio de investigación médica que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS. Este estudio tiene como objetivo evaluar los niveles plasmáticos de varios marcadores bioquímicos relacionados con el la inflamación y el estrés oxidativo de pacientes en las diferentes etapas de la nefropatía.

Nosotros justificamos la realización de este proyecto para conocer cuál es el comportamiento de estos marcadores en diferentes etapas de la enfermedad renal para poder entender mejor los eventos bioquímicos que ocurren en el organismo; predecir si la enfermedad está asociada a los incrementos en la sangre de esos marcadores y su relación con la evolución de la enfermedad.

Esto permitirá realizar una detección más temprana de las complicaciones de la enfermedad renal y de valorar si el tratamiento que reciben los pacientes puede mejorarse.

Nosotros le invitamos a que participe de manera voluntaria y sin remuneración económica a colaborar como sujeto de estudio.

Este estudio está dirigido a pacientes con la enfermedad que usted cursa (enfermedad renal crónica) y cumple con los criterios que especifica este estudio, los cuales han sido revisados por los médicos especialistas.

De manera similar, invitaremos a otros pacientes que al igual que usted padece esta enfermedad en alguno de sus cinco estadios.

Por favor lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.

## **Procedimientos**

Si usted acepta participar ocurrirá lo siguiente:

a) Le pediremos que durante su visita al hospital acepte la realización de una evaluación clínica, que consiste en una exploración médica de rutina, así como un interrogatorio general sobre su estado de salud. Posteriormente le tomaremos una muestra de sangre, (para lo que deberá presentarse con un ayuno de 8 horas realizando todo este procedimiento en aproximadamente 15 a 20 minutos.)

b) Tomaremos una muestra de sangre venosa de uno de sus brazos, aproximadamente 8 mL (equivalente a unas 4 cucharaditas de su sangre), para realizarle varios estudios de laboratorio. Nos tardaremos aproximadamente 10 minutos en tomarle la muestra de sangre.

Los estudios de laboratorio que le realizaremos incluyen: la medición de su nivel de glucosa en ayuno, colesterol total, triglicéridos, creatinina y varios otros marcadores antioxidantes y oxidantes en su sangre, además se le realizarán las pruebas propias del estudio.

El propósito de realizarle los estudios clínicos y de laboratorio es para conocer sus condiciones generales de salud y de su control metabólico oxidativo.

En caso de que usted lo desee le entregaremos los resultados de sus estudios de laboratorio rutina en aproximadamente 72 horas.

## **Posibles riesgos y molestias**

Las molestias o riesgos asociados con los procedimientos de evaluación clínica (medición de peso, talla, cintura, tensión arterial, etc.). Se trata de estudios clínicos no invasivos que no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno.

Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas. En algunas ocasiones el procedimiento para tomarle una muestra de sangre puede causar un poco de dolor o molestias menores, es posible que se le pueda formar un moretón.

## **Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio**

Usted no recibirá un pago por su participación en este estudio, ni este estudio implica gasto alguno para usted o sus familiares. No recibirá ningún beneficio directo al participar en este estudio más allá de recibir los resultados de laboratorio de rutina que le haremos y que le proporcionarán información sobre su estado de salud general ya que el conocer sobre su estado de salud pudiera ser un beneficio para usted.



Si bien los beneficios directos para usted pudieran no existir, los resultados del presente estudio contribuirán al avance en el conocimiento de los cambios bioquímicos relacionados con el estrés oxidativo de la Enfermedad Renal crónica en cualquiera de sus etapas; los resultados de este estudio brindarán información relevante para el mejor manejo de personas como usted.

### **Resultados o información nueva sobre alternativas de tratamiento**

Durante el transcurso de este estudio, le informaremos de cualquier hallazgo nuevo (ya sea bueno o malo) que sea importante para la decisión de participar o continuar participando en este estudio u otros; por ejemplo, si hubiera cambios en los riesgos o beneficios por su participación en esta investigación o si hubiera nuevas alternativas de tratamiento que pudieran cambiar su opinión sobre su participación en este estudio.

Si le llegamos a proporcionar información, nuevamente le solicitaremos su consentimiento para seguir participando en este estudio.

Debido a que este estudio requiere la toma de una muestra de sangre

[  ] No autorizo que se tome la muestra.

[  ] Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

[  ] Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

### **Participación o retiro**

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS.

Es decir, que, si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS.

### **Privacidad y confidencialidad.**

La información que nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla/o (nombre, teléfono y dirección y cualquier otro dato personal) será almacenada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad.

El equipo de investigadores, y los médicos o las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos que usted así lo desee y nos lo manifieste expresamente. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o su bienestar (por ejemplo, si llegara a sufrir algún daño físico o si llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley.

Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, por ejemplo, no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número o código especial que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número o código en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

### **Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio**

Si tiene preguntas o requiere de mayor información sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 17:00 horas, de lunes a viernes con la Dra. María Eugenia GALVAN PLATA, que es co-investigador médico de este estudio, a los teléfonos: (01 55) 5627 6900 ext. 21909 en el Servicio de Medicina interna del Hospital de Especialidades o con el Dr. Juan Manuel GALLARDO al teléfono (01 55) 5627 6900 ext. 21371 en la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas ubicada en la planta baja del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS localizado en la Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc, Ciudad de México.

En caso de presentarse una emergencia derivada del estudio, usted puede dirigirse a su clínica de adscripción y/o acudir al Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS.

### **Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación**

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

**Declaración de consentimiento informado**

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio. Además, he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha entregado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Lugar y fecha

**Nombre y Firma del encargado de obtener el consentimiento informado**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Nombre del encargado de obtener el consentimiento informado

\_\_\_\_\_  
Firma del encargado de obtener el CI

\_\_\_\_\_  
Lugar y fecha

**Firma de los testigos**

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo1

\_\_\_\_\_  
Domicilio el Testigo1

\_\_\_\_\_  
Parentesco con participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Lugar y fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Domicilio del Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Parentesco con participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Lugar y fecha

## DEFINICION DE VARIABLES



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Coordinación de Investigación en Salud  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas

### ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN ADULTOS

#### Marcadores de oxidación y anti oxidación

<b>Variables</b>	<b>Tipo y naturaleza de la variable</b>	<b>Descripción</b>	<b>Notas</b>
Productos avanzados de la Glucosilación AGE's (UAF)	Primaria Cuantitativa continua	Moléculas glucosiladas generalmente proteicas, fluorescentes sugestivas de glucosilación no enzimática.	Medición total. Control de calidad por curva de calibración
Malondialdehído MDA ( $\mu\text{M}$ )	Primaria Cuantitativa continua	Marcador de lipoperoxidación. Ácidos grasos. Marcador actividad de radicales libres	Medición normalizada. Control de calidad por curva de calibración
Vitamina C (mM)	Primaria Cuantitativa continua	Antioxidante exógeno. Hidrosolubre	Medición total. Control de calidad por curva de calibración.
GSH ( $\mu\text{M}$ )	Primaria Cuantitativa continua	Tripéptido, responsable de la protección de moléculas durante el estrés oxidativo	Medición total. Control de calidad por curva de calibración.

### Parámetros Demográficos y variables clínicas generales

Variable	Tipo y naturaleza de la variable	Descripción	Notas
Sexo	Secundaria Cualitativa	Hombre o mujer	
Edad (años)	Secundaria Cuantitativa continua	Número de años cumplidos	
Estatura (m)	Secundaria Cuantitativa continua	Altura en metros	
Peso (kg)	Secundaria Cuantitativa continua	Peso en kilogramos	
Superficie corporal (m <sup>2</sup> )	Secundaria Cuantitativa continua	Calculada con base en la estatura y el peso	
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	Secundaria Cuantitativa continua	Calculada con base en la estatura y el peso	
Presión arterial sistólica (PAS) (mmHg)	Secundaria Cuantitativa continua	Medida en milímetros de mercurio	
Presión arterial diastólica (PAD) (mmHg)	Secundaria Cuantitativa continua	Medida en milímetros de mercurio	
Presión arterial media (PAM) (mmHg)	Secundaria Cuantitativa continua	Calculada con base en las PAS y PAD en milímetros de mercurio	

## Mediciones en plasma

Variable	Tipo y naturaleza de la variable	Descripción	Notas
Ácido úrico (mg/dL)	Primaria Cuantitativa continua	Producto de la degradación de las purinas, puede servir de marcador de daños renal y también de anti oxidación	Medición total. Control de calidad por curva de calibración
Albúmina (mg/dL)	Secundaria Cuantitativa continua	Proteína plasmática sanguínea de origen hepático. Indicador de estado nutricional	Medición total. Control de calidad por curva de calibración
Glucosa (mg/dL)	Secundaria Cuantitativa continua	Carbohidrato relacionado con el metabolismo de los azúcares, glicemia: definición conceptual: determinación del nivel de glucosa en sangre. Definición operacional: nivel de glucosa en sangre, con el paciente en ayunas y medido en g/dL	Medición total. Control de calidad por curva de calibración

## DEFINICIONES OPERACIONALES

Estrés oxidativo: Es el daño tisular o molecular resultante del desequilibrio entre la sobreproducción de radicales libres (o especies reactivas) del oxígeno y la capacidad del sistema biológico para eliminarlos y reparar el mismo.

## **OBTENCIÓN DE LA MUESTRA**

La colección de la sangre se realizará en condiciones controladas ambientales de luz y temperatura entre las 8 y 10 de la mañana con el propósito de evitar variaciones circadianas.

Se les solicitará a los pacientes que se abstengan de comer cualquier tipo de alimento y bebida endulzada al menos durante las ocho últimas horas antes de la recolección de sangre. Se colectará la sangre por venopunción de una vena del brazo utilizando para ello un tubo de vidrio borosilicado (Vacutainer BD, México DF. MEX).

Inmediatamente después de la colección de sangre, se mantendrá entre 4 a 8 °C hasta su centrifugación y separación del suero el cual se conservará a – 20°C hasta su análisis bioquímico.

Para la colección de sangre se requiere de:

- Tubos de vidrio o de polipropileno con capacidad mínima de 8 mL
- Guantes desechables
- Cubrebocas
- Hielo en hielera (para conservar las muestras mientras la sangre es recolectada)
- Centrifuga (para centrifugar las muestras antes de ser congeladas)

- Cinta de electricista color blanco para etiquetar los tubos con la clave y los datos del paciente.

- Marcador de tinta indeleble y resistente al agua

Una vez obtenida la sangre (al menos unos 3 mL) centrifugarla, lo antes posible y separar el suero del paquete globular, tanto el suero como el paquete globular se colocarán juntos y se les unirá con una liga, para luego ser almacenados en el congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ .





CODIGO \_\_\_\_\_

Datos demográficos

Sexo <input type="checkbox"/> 1). Hombre <input type="checkbox"/> 2). Mujer  Edad (años cumplidos) _____  Fecha de Nacimiento (día / mes / año) <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 20px;"> </td> <td style="width: 20px;"> </td> <td style="width: 20px;">/</td> <td style="width: 20px;"> </td> <td style="width: 20px;"> </td> <td style="width: 20px;">/</td> <td style="width: 20px;"> </td> <td style="width: 20px;"> </td> </tr> </table> Nacionalidad <input type="checkbox"/> 1). Mexicana <input type="checkbox"/> 2). Otra  Lugar de Nacimiento _____ <input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural			/			/			Lugar de Residencia _____ <input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural  Derechohabiente <input type="checkbox"/> 1). Si <input type="checkbox"/> 2). No <input type="checkbox"/> 3). No sabe  Tipo de derechohabiente <input type="checkbox"/> 1). Asegurado trabajador <input type="checkbox"/> 2). Beneficiario  Institución <input type="checkbox"/> 1). IMSS	Ocupación <input type="checkbox"/> 1). Agricultor Obrero <input type="checkbox"/> 2). Empleado <input type="checkbox"/> 3). Negocio propio <input type="checkbox"/> 4). Hogar <input type="checkbox"/> 5). Estudiante <input type="checkbox"/> 6). Jubilado Pens <input type="checkbox"/> 7). Desempleado  Estado civil <input type="checkbox"/> 1). Soltero <input type="checkbox"/> 2). Casado <input type="checkbox"/> 3). Viudo <input type="checkbox"/> 4). Divorciado <input type="checkbox"/> 5). Unión libre
		/			/					

Socioeconómicos

Escolaridad <input type="checkbox"/> 1). Ninguna <input type="checkbox"/> 2). Primaria <input type="checkbox"/> 3). Secundaria <input type="checkbox"/> 4). Preparatoria <input type="checkbox"/> 5). Técnica <input type="checkbox"/> 6). Profesional <input type="checkbox"/> 7). Posgraduado	Ingreso Mensual Familiar <input type="checkbox"/> 1). Menor de 1000 <input type="checkbox"/> 2). de 1001 a 5000 <input type="checkbox"/> 3). de 5001 a 10000 <input type="checkbox"/> 4). de 10001 a 15000 <input type="checkbox"/> 5). mayor de 15001	Actividad física <input type="checkbox"/> 1). Ninguna Sedentario <input type="checkbox"/> 2). Muy baja <input type="checkbox"/> 3). Baja media <input type="checkbox"/> 4). Media <input type="checkbox"/> 5). Media alta <input type="checkbox"/> 6). Alta
--	---	---

Antecedentes heredofamiliares

Sus padres han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardiacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas	Sus hermanas (os) han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardiacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas
--	---

Dx. de Ingreso

\_\_\_\_\_

Dx. de Egreso

\_\_\_\_\_

Medicamentos en el último mes (Dosis y frecuencia)


CODIGO \_\_\_\_\_

Antecedentes personales

<p>Patologías</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Insufic. Renal</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Insufic. Cardíaca</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). A Vasc. Cerebral</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Cardio Isquémico</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enf. Pulmonar</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumor o Ca.</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enf. Mentales</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enf. Sist. Nervioso</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 9). Alt Osteo-Musculares</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 10). Alt. Visuales</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 11). Alt. Auditivas</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 12). Cirugías</p> <p>Transfusiones</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Si.</p> <p><input type="checkbox"/> 2). No</p> <p><input type="checkbox"/> 3). No sabe</p> <p>Fecha de la última:</p> <p>_____/_____/_____  día mes año</p>	<p>En caso de mujeres:</p> <p>FUM</p> <p>_____/_____/_____  día mes año</p> <p>Embarazos</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Si</p> <p><input type="checkbox"/> 2). No</p>
---	--

Antecedentes personales

<p>Diabetes mellitus</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si</p> <p><input type="checkbox"/> 2) No</p> <p><input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p>Tx de DM</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si, sin tratamiento</p> <p><input type="checkbox"/> 2) Si, con tratamiento oral y sin insulina</p> <p><input type="checkbox"/> 3) Si, con tratamiento con insulina</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico:</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Menos de 2 años</p> <p><input type="checkbox"/> 2). 2.1 a 4.11 años meses</p> <p><input type="checkbox"/> 3). 5 a 9.11</p> <p><input type="checkbox"/> 4). 10 a 14.11</p> <p><input type="checkbox"/> 5). 15 a 19.11</p> <p><input type="checkbox"/> 6). mas de 20 años</p>	<p>HTA</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si</p> <p><input type="checkbox"/> 2) No</p> <p><input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p><input type="checkbox"/> 1) HAS sin control</p> <p><input type="checkbox"/> 2) HAS controlada</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico:</p> <p><input type="checkbox"/> 1). – de 2 años</p> <p><input type="checkbox"/> 2). 2.1 a 4.11</p> <p><input type="checkbox"/> 3). 5 a 9.11</p> <p><input type="checkbox"/> 4). 10 a 14.11</p> <p><input type="checkbox"/> 5). 15 a 19.11</p> <p><input type="checkbox"/> 6). + de 20</p>	<p>Hipercolesterolemia</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si</p> <p><input type="checkbox"/> 2) No</p> <p><input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si, sin tratamiento</p> <p><input type="checkbox"/> 2) Si, con tratamiento</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico</p> <p>_____ años</p> <p>Síntomas y signos encontrados:</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Cefalea</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2).</p> <p>Palpitaciones</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Visión borrosa</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Disnea</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Dolor Precord</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Sin síntomas</p>
---	--	--

CODIGO \_\_\_\_\_

Exploración física

Temperatura axilar (°C) [ ][ ] . [ ] Frecuencia cardiaca (lat/min) [ ][ ] Frecuencia respiratoria (Resp/min) [ ][ ]	Estatura (cm) [ ][ ][ ] . [ ] Peso (kg) [ ][ ][ ] . [ ] IMC (kg/m2) [ ][ ][ ] . [ ] Diámetro del cuello (cm) [ ][ ][ ] . [ ] Diámetro de la cintura (cm) [ ][ ][ ] . [ ] Diámetro de la cadera (cm) [ ][ ][ ] . [ ] Relación Cint/Cad [ ][ ] . [ ][ ] Porcentaje de grasa [ ][ ][ ] . [ ][ ] Peso magro [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] Peso magro seco [ ][ ][ ][ ] . [ ][ ][ ]	Valoración nutricional según índice de masa corporal (IMC): [ ] Bajo peso (- de 19.8) [ ] Normopeso (de 19.8 a 26) [ ] Sobrepeso (de 26.1 a 29) [ ] Obeso (+ de 29)  Niveles de presión arterial encontrada al ingreso.
---	---	---

Datos de laboratorio

Hemoglobina [ ][ ][ ] . [ ][ ] g/dL Hematocrito [ ][ ] . [ ][ ] % Glucosa sérica [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Urea [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Ac. Úrico [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Creatinina [ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Colesterol [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL HDL - C [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL LDL - C [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL VLDL mg/dL Triglicéridos [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Proteínas totales [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Albúmina [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Globulina [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Rel. Alb/Glob Bilirrubina total [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Bilirrubina directa [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL % saturación transferrina.....Ferritina..... Gasometría (pH/pCO2/HCO3)	Bilirrubina indirecta [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Transaminasa oxalacética (AST, TGO) [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Transaminasa pirúvica (ALT, TGP) [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L GGT [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Deshidrogenasa láctica [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Fosfatasa Alca [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Fosfatasa Acida [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L CPK [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Amilasa [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Lipasa [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] U/L Sodio [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mEq/L Potasio [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mEq/L Cloro [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mEq/L Calcio [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Fosforo [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL Magnesio [ ][ ][ ] . [ ][ ][ ] mg/dL PTH pg/dl Proteinuria ..... Hematuria .....
--	---

Datos de laboratorio

EGO	AOx
Proteínas totales [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Albúmina [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Prot Urin 24 h [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Creatinina [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Volumen [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Vol/min. Dep Creat [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Glucosa [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Albúmina [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Ac. Úrico [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Osmolaridad [ ][ ] . [ ][ ] mOsm/Kg	Tioles [ ][ ] . [ ][ ] mM Vit C [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL Ac. Úrico [ ][ ] . [ ][ ] mg/dL SOD [ ][ ] . [ ][ ] UI Catalasa [ ][ ] . [ ][ ] UI
EOx AGEs [ ][ ] . [ ][ ] UAF MDA [ ][ ] . [ ][ ] uM NOx [ ][ ] . [ ][ ] uM AOPP [ ][ ] . [ ][ ] uM H2O2 [ ][ ] . [ ][ ] uM Carbonilos [ ][ ] . [ ][ ] uM DC [ ][ ] . [ ][ ] uM/L	Otros IL-1 [ ][ ] . [ ][ ] UI IL-6 [ ][ ] . [ ][ ] UI TNF-a [ ][ ] . [ ][ ] UI TGF-b [ ][ ] . [ ][ ] UI Endotelina [ ][ ] . [ ][ ] UI PCR [ ][ ] . [ ][ ] UI E-CAM-1C [ ][ ] . [ ][ ] UI VCAM-1 [ ][ ] . [ ][ ] UI BNP [ ][ ] . [ ][ ] UI Troponina [ ][ ] . [ ][ ] ng/mL