



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL GENERAL DR DARIO FERNANDEZ FIERRO**

**“Evaluación de Estrés Oxidativo en pacientes en diálisis peritoneal con  
y sin peritonitis”**

**T E S I S   D E   P O S G R A D O  
P A R A   O B T E N E R   E L   T I T U L O   D E  
E S P E C I A L I S T A   E N   M E D I C I N A   I N T E R N A**

**P R E S E N T A :**

**DRA. ORALIA ALEJANDRA OROZCO GUILLEN.  
RESIDENTE DE 4º AÑO**

**CURSO DE ESPECIALIZACION DE MEDICINA INTERNA**



**MEXICO D.F. 2009**



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.

## **AUTORIZACIONES E INVESTIGADORES:**

**ORALIA ALEJANDRA OROZCO GUILLEN**

Investigador principal y responsable de protocolo de investigación.

Residente de cuarto año de Medicina Interna

Hospital General “Dr. Darío Fernández Fierro”

**DR. LUIS VICENTE GUTIERREZ LARRAURI**

Tutor clínico de Tesis

Médico Internista y Médico Adscrito del servicio de Nefrología

Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE

**DR. MARCO TULIO REYNOSO MARENCO**

Tutor clínico de Tesis

Profesor Adjunto del curso de Medicina Interna

Hospital General “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE

**DRA. LOURDES NORMA CRUZ SANCHEZ**

Tutor metodológico de Tesis

Jefa de la división de Enseñanza e Investigación

Hospital General “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE

**DR. MARIO COLINABARRANCO GONZALEZ**

Coordinador médico de Medicina Interna

Hospital General “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE

# INDICE

	<b>Página</b>
<b>MARCO TEORICO.....</b>	<b>5-15</b>
<b>JUSTIFICACION.....</b>	<b>15</b>
<b>HIPOTESIS.....</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVO.....</b>	<b>16</b>
<b>MATERIAL Y METODOS.....</b>	<b>16-19</b>
<b>ANALISIS ESTADISTICO.....</b>	<b>20</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>21-25</b>
<b>DISCUSION Y CONCLUSIONES.....</b>	<b>26-27</b>
<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>28</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>28-29</b>

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es un síndrome clínico, principalmente secundario a múltiples patologías. Actualmente constituye un problema de salud a nivel mundial, debido a la incidencia y prevalencia crecientes de esta enfermedad en los últimos años. Tan solo en Estados Unidos cerca del 22% de la población la padece, lo que representa alrededor de 8 millones de personas, siendo esta una alta incidencia. Se espera que en el 2010 el número de pacientes con ERC ascienda a 600000 más. En México, más de 300 000 personas, es decir, una de cada 1,000 reciben tratamiento para la enfermedad renal crónica terminal, el número de personas con este padecimiento va en ascenso aproximadamente de un 5 a 6% anualmente. Del millón de personas que se estima sufren enfermedad renal crónica terminal en el mundo 10 a 15% utilizan terapia de diálisis. Una vez que un paciente inicia diálisis tiene una mortalidad aproximada durante el primer año del 1% y cerca de 7% de mortalidad a los 5 años. Dentro de las causas más importantes que generan ERC son la diabetes mellitus y la hipertensión arterial sistémica y a nivel mundial ambas son las enfermedades con mayor prevalencia. En México, debido a la alta prevalencia de diabetes e hipertensión este es el país con más pacientes en diálisis peritoneal en el mundo, se estima que en el año 2010 habrá alrededor de 71,000 pacientes en diálisis, pero como muchos enfermos no reciben tratamiento, la prevalencia será mayor y habrá entre tres y cuatro millones de sujetos con enfermedad renal crónica.<sup>1</sup>

La enfermedad renal crónica se define como una disminución en la función renal, expresada por un filtrado glomerular o por un aclaramiento de creatinina estimados  $<60\text{ml}/\text{min.}/1.73\text{m}^2$ , o como la presencia de daño renal de forma persistente durante al menos tres meses. El daño renal se diagnostica habitualmente mediante marcadores, el principal es la excreción urinaria de albúmina o proteínas elevadas en orina.<sup>2</sup>

Las normas actuales resaltan que el inicio de diálisis debe ser previo a la aparición de manifestaciones urémicas francas (es decir, cuando el aclaramiento de creatinina es de 9 – 14 ml/min para un paciente de 70Kg), para prevenir una malnutrición insidiosa. En los pacientes diabéticos, la diálisis se debe iniciar incluso con aclaramientos de creatinina (Kcr) más elevados, generalmente mayores de 15ml/min. Esto se explica por que la función renal se deteriora más rápidamente en este grupo. La hipertensión, que se asocia a una aceleración rápida de la retinopatía, es difícil de controlar cuando el aclaramiento de creatinina desciende por debajo de 15ml/min. Se cree que en algunos casos, los síntomas urémicos podrían manifestarse con un grado de insuficiencia renal menor en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos.<sup>3</sup>

Las guías K/DOQI aconsejan iniciar diálisis cuando los niveles de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) >100 mg/dl (36 mM), de creatinina sérica de 12 mg/dl (1.060 µM) y un Kcr <10ml/min los cuales representan valores de referencia, por encima de estos (debajo para el caso del Kcr) suelen aparecer manifestaciones urémicas floridas. Estos son valores de orientación puesto que existen algunas particularidades, por ejemplo hay pacientes diabéticos con Kcr de 12-15ml/min que necesitan empezar a dializarse, en tanto que en enfermos con nefropatías intersticiales prolongadas y KCr 7-9ml/min permanecen asintomáticos durante periodos prolongados. Síntomas claves como la falta de apetito, disgeusia, astenia variable y manifestaciones gastrointestinales (náuseas y vómitos), indican que es inminente la necesidad de iniciar diálisis en estos pacientes, especialmente si se detecta la caída o falta de diuresis o retención hidrosalina.

Durante casi 30 años se ha usado la diálisis para conservar la vida de personas en fase terminal de nefropatía. Existen dos tipos de terapia sustitutiva de la función renal estos son la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. La diálisis peritoneal tiene 2 modalidades principales; la diálisis peritoneal continua ambulatoria consiste en infundir líquido 3-5

veces al día con permanencia 4 a 8 horas; la diálisis peritoneal en ciclos continuos o automatizada donde los intercambios de líquido se hacen mediante un aparato de ciclos o cicladora que funciona abriendo y cerrando sistemas, y controla el volumen que se introduce en el tiempo.

La diálisis peritoneal continua ambulatoria constituye una modalidad de restitución de la función renal de gran importancia. Sin embargo, la complicación más frecuente y potencialmente seria es la peritonitis, la cual es de importancia extraordinaria, por los costos que conllevan no solo el diagnóstico, la hospitalización y el tratamiento; sino además de la pérdida de productividad, malnutrición y la ineficacia de la CAPD, debido a esta complicación en un subgrupo de enfermos que necesitan cambiar a hemodiálisis, asociado a una mayor cifra de mortalidad.

La peritonitis ocurre al menos una vez al año en los pacientes incluidos en diálisis y es la causa más importante por la cual se pierde el catéter. Los factores de riesgo asociados a peritonitis en pacientes con Diálisis incluye la edad menor a 20 años, diabetes, grado de escolaridad del paciente, y el uso concomitante de inmunosupresores o infección con el virus de inmunodeficiencia humana (HIV). La falla para mantener el área de salida limpia y seca incrementa el riesgo y esto se ve reforzado por la frecuencia de casos en los meses cálidos y húmedos.

La pérdida del catéter, la hospitalización y la mortalidad relacionada con la peritonitis generalmente esta asociada a las infecciones por gram negativos. Generalmente, el diagnóstico es clínico donde la triada fiebre, dolor abdominal y efluente dializante turbio son altamente sugestivos de inflamación peritoneal. El líquido de diálisis peritoneal deberá mostrar más de 100 células de las cuales más del 50% deberán ser polimorfonucleares.<sup>3,4,5,6.</sup>

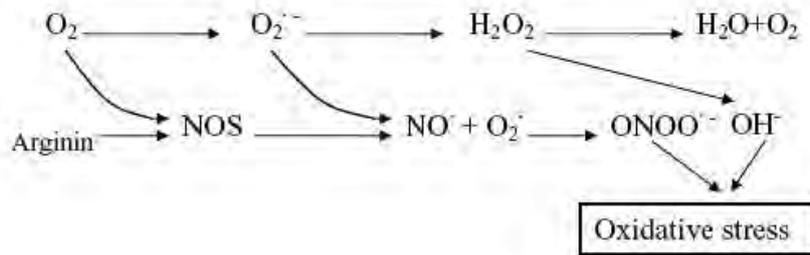
En pacientes con hipertensión arterial, estos llegan a desarrollar enfermedad renal crónica y aunque representa el segundo lugar en frecuencia como causa de esta; las enfermedades cardiovasculares representan la enfermedad mas frecuentes en adultos mexicanos. En la hipertensión arterial existe un aumento de presión en todo el sistema cardiovascular y los vasos responden aumentando su capa muscular, como mecanismo compensatorio entre otros. En los riñones hay engrosamiento de la pared de las arteriolas aferentes con la consiguiente disminución de la función glomerular. Clínicamente se manifiesta por disminución de la depuración de creatinina y microalbuminuria y esta se agrava con la edad y la evolución del padecimiento. Existe evidencia que señala que las infecciones peritoneales se asocian a mayor morbi mortalidad y a mayor estrés oxidante.

### ***Estrés oxidante en enfermedad renal crónica terminal***

El estrés oxidante es un estado patológico en el cual los intermediarios de especies reactivas de oxígeno pueden perpetuar oxidación a nivel celular y en las macromoléculas ya sean carbohidratos, proteínas, bases del DNA y lípidos. Estudios recientes señalan que el estrés oxidativo juega un papel importante en el desarrollo de las complicaciones de los pacientes con enfermedad renal crónica. Al entender el papel del estrés oxidante en la patogénesis de la diálisis asociada a otras patologías (como la peritonitis) nos ayuda a integrar estrategias de prevención y tratamiento.<sup>5</sup>

En los sistemas biológicos las células generan energía aeróbica para producir trifosfato de adenosina (ATP) reduciendo moléculas de oxígeno a agua. La citocromo C oxidasa cataliza reacciones que involucran transferencia de 4 electrones de oxígeno; el consumo de oxígeno a nivel mitocondrial esta asociado con la producción de intermediarios de oxígeno. Alrededor del 1 al 2% del consumo total de oxígeno puede convertirse a

radicales de anion superoxido ( $O_2^{\cdot -}$ ). Dicha formación de  $O_2^{\cdot -}$  genera una cascada para produciendo otras especies reactivas de oxigeno.



El oxido nítrico (NO) esta formado del átomo de nitrógeno guanidino terminal de la L-arginina. La L-arginina es convertida a L-citrulina por varias enzimas, las sintasas de NO. Una de ellas es constitutiva y calcio dependiente y responde a su receptor y a estimulación física, liberando NO por periodos cortos. Es también endotelio dependiente y causa relajación vascular. La NO sintasa inducible, es calcio independiente y sintetiza NO después de la estimulación de citocinas y endotoxinas. El NO es rápidamente oxidado a nitrito y luego a su producto más estable, el nitrato. Se ha establecido dice que el NO esta implicado en la regulación de la permeabilidad peritoneal tras la administración de soluciones glucosadas intraperitoneales durante la diálisis con cambios cortos.<sup>7</sup>

Un radical libre es una molécula o un fragmento de molécula que contiene uno o más electrones no apareados fuera de su orbital. La configuración particular de estos radicales le proporciona propiedades biológicas que los involucran en diferentes situaciones fisiopatológicas. El estrés oxidativo aparece en las células y tejidos cuando se rompe el equilibrio que existe entre las sustancias prooxidantes y las antioxidantes, a favor de las primeras. Las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres derivados del oxígeno (EROs): Radicales del anion superoxido, radicales hidroxilo, radicales de la peroxidación de lípidos en mayor cantidad que las enzimas antioxidantes (superoxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa), tioles (por

ejemplo glutatión peroxidasa, cisteína, albúmina y otros tioles de proteínas), urato, ubiquinol, tocoferol, ascorbato y carotenoides entre otros. La formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) favorece el incremento del estrés oxidante (EO), que condiciona por sí mismo toda una serie de cambios celulares y tisulares, que unido a la hiperglucemia, dislipidemia y la hemostasia, desencadena toda una serie de eventos que conllevan al daño vascular. La existencia de un estrés oxidativo aumentado en la insuficiencia renal crónica es apoyada por la evidencia de los productos de la oxidación aumentados de proteínas, lípidos y carbohidratos tanto en el plasma como en la membrana celular incluyendo aumento en la cantidad de ascorbato total oxidado, glutatión peroxidasa (GSH) reducida y albúmina sérica oxidada así como aumento en plasma de los productos de la peroxidación de lípidos y de la glico-oxidación.

Las especies reactivas de oxígeno pueden alterar las proteínas directamente con la eventual formación de aminoácidos oxidados. La interacción de especies reactivas de oxígeno (EROs) da lugar a la oxidación de los restos laterales de aminoácidos lo cual se traduce en una pérdida o modificación en la función biológica que desempeñan.

Mediante reacciones de agregación, entrecruzamiento y fragmentación, las proteínas modificadas por radicales dan lugar a productos avanzados de la oxidación (PAOP).

Los efectos generados por la oxidación de proteínas pueden provocar dramáticos cambios en cuanto a estructura, estabilidad, función y propiedades biológicas. Los compuestos carbonilos se forman de la oxidación de lípidos y carbohidratos los cuales pueden generar de manera indirecta proteínas de la lipo-oxidación y de la glicación avanzada. Los carbonilos de las proteínas son considerados como los principales marcadores de la oxidación proteica.

En la insuficiencia renal crónica esta aumentada la producción de radicales libres derivados de oxígeno desde estadios tempranos, según sugieren algunos estudios.

Todas las células que forman la estructura renal tanto a nivel vascular, como a nivel glomerular y tubular son capaces de producir grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (EROs) ante determinados estímulos como los fármacos, hipertensión arterial, radiaciones o presión de oxígeno elevada. En la década pasada la evidencia experimental indica que los radicales libres (ROs) juegan un papel muy importante en la fisiopatología de una gran variedad de enfermedades renales.<sup>8</sup>

### ***Toxinas urémicas y diálisis peritoneal***

Algunos estudios sugieren que las toxinas urémicas están involucradas en la progresión de la falla renal. Se sabe ahora que los componentes que se acumulan en la sangre urémica y en sus tejidos tienen un impacto directo sobre las funciones bioquímicas y fisiológicas principales. La mayoría de las complicaciones de la insuficiencia renal crónica avanzada son producto de la acumulación de estas sustancias tóxicas.<sup>9</sup>

### ***Los productos avanzados de la oxidación de proteínas***

La uremia crónica está asociada con un aumento en la cantidad de proteínas modificadas u oxidadas que generan compuestos carbonilos derivados de carbohidratos y lípidos. Sin embargo estos cambios no están completamente estudiados. Se cree que los niveles de proteínas oxidadas están elevadas en pacientes con insuficiencia renal desde antes del inicio de la terapia dialítica. El estrés oxidativo entonces es resultado de la uremia per se. Una posible explicación de eso es que el daño renal está asociado a la síntesis renal de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GSH), el hierro suplementario IV, la restricción en la ingesta de alimentos genera depleción de selenio y por lo tanto de enzimas antioxidantes.<sup>10</sup>

Se ha visto que en los pacientes urémicos no diabéticos existe un aumento en los productos de la oxidación más que en los productos de la glicosilación. La evidencia sugiere que la uremia asociada a estrés oxidativo genera productos avanzados de la oxidación de proteínas estos incluyen proporciones altas de glutatión, albúmina sérica y ascorbato oxidados.<sup>11,12,13.</sup>

Los PAOP son un marcador exquisito del estrés oxidativo, cuyo papel en la fisiopatología de la falla renal y su asociación con las complicaciones de diálisis son de gran importancia. Estos pueden reflejar el grado de activación de los monocitos por las principales citocinas liberadas en la peritonitis. Uno de los PAOP son las di-tirosinas, las cuales resultan del enlace covalente entre dos residuos de tirosina y es un marcador selectivo de daño proteico.<sup>14.</sup>

### ***Estrés Carbonilo y Uremia***

El Estrés carbonilo (EC) consiste en la producción de especies reactivas de radicales carbonilo formadas a partir de pequeñas moléculas de carbono tanto por vía enzimática o metabólica (EO) como por vía no enzimática sin participación del oxígeno. La concentración del estado estacionario de estas especies va a estar determinada por las velocidades relativas de producción y de detoxificación. El aumento de ellas conduce de manera acelerada a la modificación química de las biomoléculas y a toda una serie de eventos relacionados con el daño vascular tales como: crecimiento celular, reparación y remodelación de tejido, apoptosis y necrosis. Dentro de los efectos biológicos de los compuestos carbonilo reactivos (RCOs) se ha demostrado que estos actúan de manera covalente con estructuras de la matriz tisular y alteran no solo su estructura si no también su función. Por otro lado, la resistencia de la acción del calcitriol (1,25 dihidroxi-vitamina D3) asociado con la insuficiencia renal es particularmente atribuido

a la inhibición de algunas toxinas urémicas que interactúan entre los receptores de calcitriol y los elementos de respuesta de la vitamina D. Además los RCOs son activos biológicos que inician una variedad de respuestas celulares. El estrés carbonilo es entonces uno de los contribuyentes principales del desarrollo de las complicaciones asociadas a la uremia.

### ***Peritonitis y estrés oxidativo***

La diálisis peritoneal continua ambulatoria representa una de las modalidades de reemplazo de la función renal, sin embargo la peritonitis es la complicación más común de las más serias presentadas durante la terapia de reemplazo de la función renal. Además de ser la causa mas frecuente de retiro de catéter.<sup>15,16.</sup>

Por lo que resulta muy importante entender los mecanismos involucrados en esta enfermedad, con el fin de mejorar las estrategias terapéuticas y volverlas exitosas.

La eficacia del tratamiento se observa con la mejoría de los síntomas, el aclaramiento del efluente dializante y la desaparición de leucocitos en el líquido de diálisis.

El 60% de todos los pacientes en diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) tienen al menos un episodio de peritonitis durante el primer año en esta modalidad de terapia sustitutiva. La peritonitis repetida, usualmente genera retiro de catéter y conversión a hemodiálisis.<sup>17</sup> El mediador más importante involucrado en la peritonitis es el oxido nítrico (NO), el cual es un mediador de la activación de citocinas, representa un papel esencial en la respuesta inflamatoria sistémica. El oxido nítrico, es una molécula lábil, con un tiempo de vida media de solo 3 segundos. Es rápidamente oxidada por el oxígeno tisular a sus productos finales estables  $\text{NO}^3-$  y  $\text{NO}^2-$ . Sin embargo estas son moléculas lábiles por lo cual en el suero el nitrito es completamente convertido a nitrato por la hemoglobina. Recientemente el oxido nítrico ha sido

reconocido como un producto secretor encargado de activar macrófagos y leucocitos polimorfonucleares, los cuales actúan a través de su metabolito el peroxinitrito, el cual tiene actividades antimicrobianas y antineoplásicas. El mejor índice de la producción de NO es midiendo concentración de nitratos o nitritos. El óxido nítrico puede reaccionar con el anión superóxido para formar peroxinitrito, el cual ha sido implicado en una variedad de patologías como el choque séptico. El peroxinitrito se forma de una reacción de difusión controlada entre los radicales libres del NO y  $O_2^{\cdot-}$ . El peroxinitrito puede reaccionar con  $CO_2$  para formar  $CO_3$  y radicales  $NOO^{\cdot}$ , los cuales inician la bioquímica de los radicales libres, una menor cantidad de peroxinitritos puede sufrir homólisis catalizada por protones para generar NO y  $NO_2$  lo que a su vez puede iniciar la oxidación de los lípidos.

Formación de peroxinitrito ( $^{\cdot}ONOO$ ), y sus interacciones entre NO y radicales libres

Los principales blancos biológicos del estrés oxidante son los lípidos, particularmente los ácidos grasos poliinsaturados, su oxidación genera un sin número de productos secundarios. Uno de ellos es el malondialdehído (MDA), producto de la oxidación de los lípidos más estudiado de la peroxidación. El MDA es una molécula altamente tóxica que aumenta directamente en respuesta a la superproducción de radicales libres. Su interacción con el DNA ha sido referida como un mutágeno. Teóricamente la sobreproducción de óxido nítrico en el sitio de la inflamación puede no solo causar destrucción del patógeno sino que también puede ejercer efectos citotóxicos en los elementos estructurales de la cavidad peritoneal. Por otro lado cualquier deficiencia en la producción de NO puede ser responsable de defectos en la barrera de defensa y de la persistencia de la infección bacteriana. Desde este contexto, es posible que una producción alterada de óxido nítrico este asociada con la peritonitis producida en los

pacientes en DPCA. La concentración de NO podría usarse como indicador de severidad y pronóstico en pacientes en DPCA con peritonitis.

## **Justificación**

En México la diálisis peritoneal es la opción número uno para terapia sustitutiva de la función renal por lo cual es necesario que se invierta en investigación en diálisis, pues el médico mexicano necesita echar mano de los resultados obtenidos para mejorar su práctica clínica.

Para el paciente con enfermedad renal crónica la diálisis peritoneal, representa la mejor opción de modalidad dialítica debido a que esta le ofrece mejor calidad de vida, es mayor funcionalidad además de menor gasto económico para el paciente y su familia.

Por lo cual, preservar la membrana peritoneal evitando la fibrosis resulta muy importante. Los trabajos publicados hasta el momento únicamente han considerado a los pacientes con enfermedad renal crónica y diabetes, no existen hasta ahora estudios hechos en pacientes con enfermedad renal crónica e hipertensión únicamente por lo cual decidimos estudiar el comportamiento de el estrés oxidativo en pacientes hipertensos con enfermedad renal crónica terminal en DPCA.

## **Hipótesis**

La presencia de peritonitis en los pacientes en diálisis peritoneal ambulatoria con hipertensión modifica el nivel de estrés oxidativo en los plasmas y líquido de diálisis de estos pacientes.

## **Objetivo**

Evaluar el estrés oxidante mediante productos de oxidación avanzada de proteínas y nitritos en pacientes con hipertensión arterial sistémica, con IRCT en DPCA con peritonitis bacteriana.

## **Materiales y Métodos**

Se realizó un ensayo clínico descriptivo no-aleatorizado longitudinal. Se utilizaron como población de estudio a los pacientes de ambos sexos que ingresaron a la unidad de diálisis del Hospital Dr. Darío Fernández Fierro del ISSSTE durante el periodo de noviembre del 2008 a julio del 2009.

Criterios de selección de la muestra

Criterios de Inclusión

- Pacientes adultos en diálisis peritoneal por enfermedad renal crónica con hipertensión arterial sistémica en estadio V.
- Tratamiento con diálisis peritoneal continua ambulatoria con solución hiperosmolar glucosada por al menos 6 meses.
- Pacientes que conozcan y firmen la carta de consentimiento informado
- Pacientes que presentaron manifestaciones clínicas y de laboratorio sugestivas de peritonitis bacteriana.

Criterios de No Inclusión

- Pacientes con enfermedad renal crónica secundaria a diabetes mellitus o por trastorno inmunológico sistémico (v. e. Lupus eritematoso sistémico)
- Tratamiento diferente a la diálisis peritoneal continua ambulatoria
- Tratamiento con estatinas, antibióticos sistémicos por causa diferente a peritonitis bacteriana
- Tabaquismo positivo en el último año previo al estudio
- Antecedentes de peritonitis en los últimos tres meses

## Criterios de Exclusión

- Hemólisis de la muestra
- Datos aberrantes

## Criterios de Eliminación

- Pacientes que retiren su consentimiento informado

## Variables de estudio

- Peritonitis Bacteriana (presente / ausente)
  1. La peritonitis bacteriana se definió por síntomas clínicos como dolor abdominal, efluente dializante turbio, confirmada por una cuenta mayor a 100 leucocitos cuya diferencial correspondió a más del 50% de PMN. <sup>2,3,4,5,6.</sup>
  2. Variable independiente cualitativa, nominal dicotómica
- Concentración plasmática de carbonilos libre (nmoles/mg de proteína)
  1. Variable dependiente, cuantitativa, continua
- Concentración en líquido de diálisis de carbonilos libres (nmoles/mg de proteína)
  1. Variable dependiente, cuantitativa, continua
- Concentración plasmática de nitritos ( $\mu$ moles/mg de proteína)
  1. Variable dependiente, cuantitativa, continua
- Concentración en líquido de diálisis de nitritos ( $\mu$ moles/mg de proteína)
  1. Variable dependiente, cuantitativa, continua

## **Descripción Operativa del Estudio**

Se incluyeron en el estudio a 16 pacientes en total, que acudieron al servicio de Nefrología del Hospital Darío Fernández Fierro del ISSTE, de los cuales 8 pacientes presentaron peritonitis y 8 que no presentaron peritonitis. Una vez que se les leyó y firmaron la carta de consentimiento informado para participar en este estudio se les tomo una muestra de sangre periférica de 10 ml en tubos heparinizados, siguiendo las normas del hospital. Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos para extraer el plasma, el cual se alícuota en tres porciones y se congelaron hasta su análisis. Se tomo una alícuota de liquido de diálisis posterior a permanecer en la cavidad peritoneal de 4 a 6 horas; esta se dividió en tres y se congelaron a -20grados hasta su análisis. Se recabaron los datos de laboratorio y se analizaron los expedientes clínicos.

### **Medición de NOx (nitritos + nitratos) en liquido peritoneal y en plasma.**

La cantidad de NOx en el líquido de diálisis y en plasma fue determinado por el método de Griess, indicador colorimétrico de la presencia de nitritos en solución. Las muestras fueron descongeladas y se tomaron 250 µl, a la que se le agregaron 40 µl de E. coli 11775, se incubó durante 1 hora a 37° a 100rpm. Posteriormente se centrifugo la suspensión a 3000rpm durante 5 minutos. Luego se colocó 250 µl del sobrenadante en la celda de lectura y posteriormente se agregó 50 µl de reactivo de sulfanilamida 1% en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 5%, y 50 µl de N-naftiletilendiamida 0.1% en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 5% se agita durante un minuto se mide la absorbancia de las muestras a 554nm y se calcula la concentración de nitritos.

### **Medición de carbonilos en líquido peritoneal y suero**

Se tomaron 50 µl de muestra agregando 10 mM, de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) en HCL 2.5M, dicha muestra se incubó 1 hora a obscuras, agitando cada 15 minutos.

Posteriormente se agregó 1ml de ácido tricloroacético (TCA) al 10% y se centrifugó a 3000rpm por 10 min. El precipitado se resuspendió en TCA al 5% y se centrifugo nuevamente esta muestra durante 10 minutos a 3000rpm. El precipitado se resuspendió en acetato de etilo: etanol (1:1) y se centrifugo a 3000 rpm durante 10 minutos. El líquido resultante se disolvió en 1 ml de 6 M de guanidina en 20 mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se incubó 10 min. a 37 °C. La muestra se leyó en el espectrofotómetro a 375nm.

### **Determinación de proteínas en líquido peritoneal y en suero**

Para realizar la determinación de la cantidad de proteínas en líquido de diálisis y en plasma se tomaron pequeñas cantidades de proteínas del orden de 30 a 100 $\mu\text{g}$  con una precipitación de 10%. A la solución de proteínas se le agregó ión cuprico en tartrato débilmente alcalino. El complejo de Biuret entre el cobre y las proteínas se trató con reactivo de Folin diluido 1:1 con agua destilada. El complejo de tipo Biuret entre el  $\text{Cu}^{++}$  y las cadenas laterales de los residuos aromáticos de las proteínas reducen el reactivo de Folin diluido. Se tomó 250mcg de muestra y se leyó a absorbancia de 550nm.

### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron procesados en el programa computacional Graf Pad – Prisma Versión 4 evaluando medidas de tendencia central, desviación estándar como medida de variabilidad. Los datos fueron normalizados por miligramos de proteínas. Todos los resultados se analizaron para determinar normalidad por la prueba de Shapiro. Las

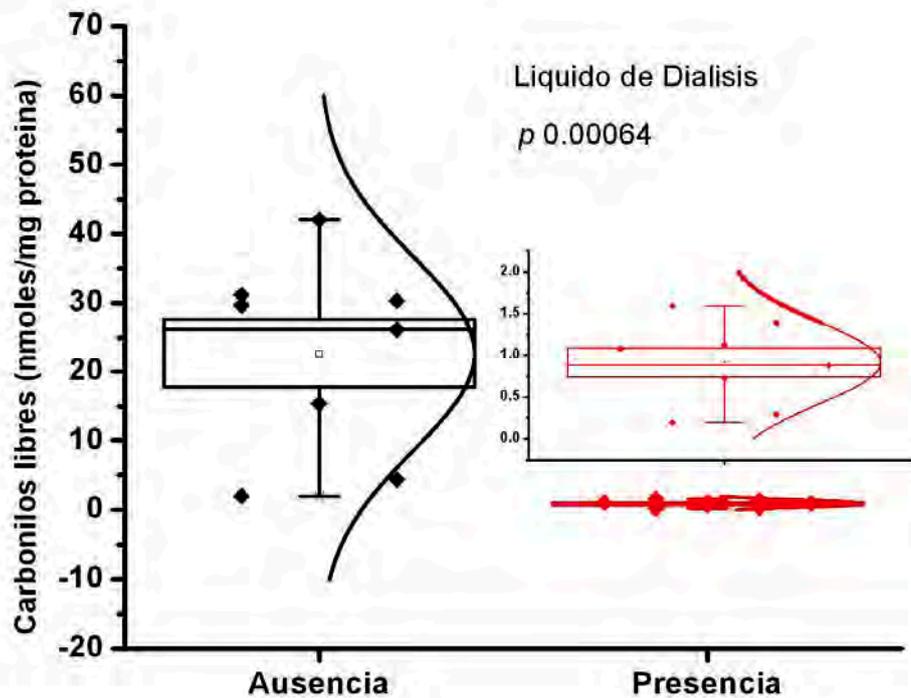
diferencias entre los grupos se analizaron por pruebas T no pareadas. Se determinó como estadísticamente significativo  $p < 0.05$ .

## Resultados

Tabla 1. Datos generales y específicos de los pacientes estudiados

		PERITONITIS	CONTROLES
Demográficas	Edad (años)	50.0±12	37.1±13.4
	Genero (M/F)	6/2	3/5
	Tiempo en DPCA (años)	2.21±1.5	1.7±1.8
	Hemoglobina(mg/dL)	9.8±2.18	11.10±13.4
Sanguíneas	Hematocrito (%)	29±6	31±4
	Leucocitos (mm <sup>3</sup> )	10,402±5,279	7,142±1,503
	Neutrófilos (mm <sup>3</sup> )	8,525±5,405	4,800±1,118
	Urea (mg/dL)	110±35.4	112±41.6
	Creatinina (mg/dL)	10.2±4.2	12.5±3.13
	Albúmina (g/dL)	2.49±0.69	3.28±0.30
	Solución de diálisis 1.5%	2/8	5/8
	Solución de diálisis 2.5%	3/8	2/8
	Solución de diálisis 1.5-2.5%	3/8	1/8
Dializante	Leucocitos (mm <sup>3</sup> )	1841±14065	0
	Polimorfonucleares (mm <sup>3</sup> )	1700±13806	-
	Patógeno aislado (si/no)	4*/4	-

\*: S.epidermidis, S.aureus, E.faecalis y C.urealyticum



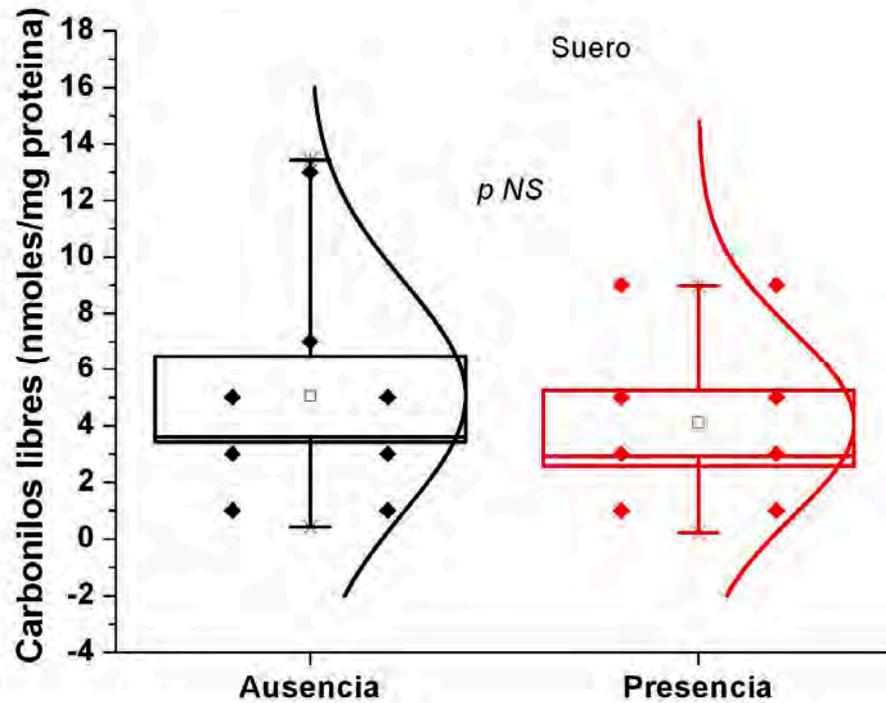
Grafica que muestra concentración de carbonilos libres (nmoles/mg proteína) en el líquido de diálisis de pacientes con y sin peritonitis.

Las muestras de carbonilos libres en el líquido de diálisis de pacientes con y sin peritonitis se comportan de manera normal como lo muestra la campana en la grafica.

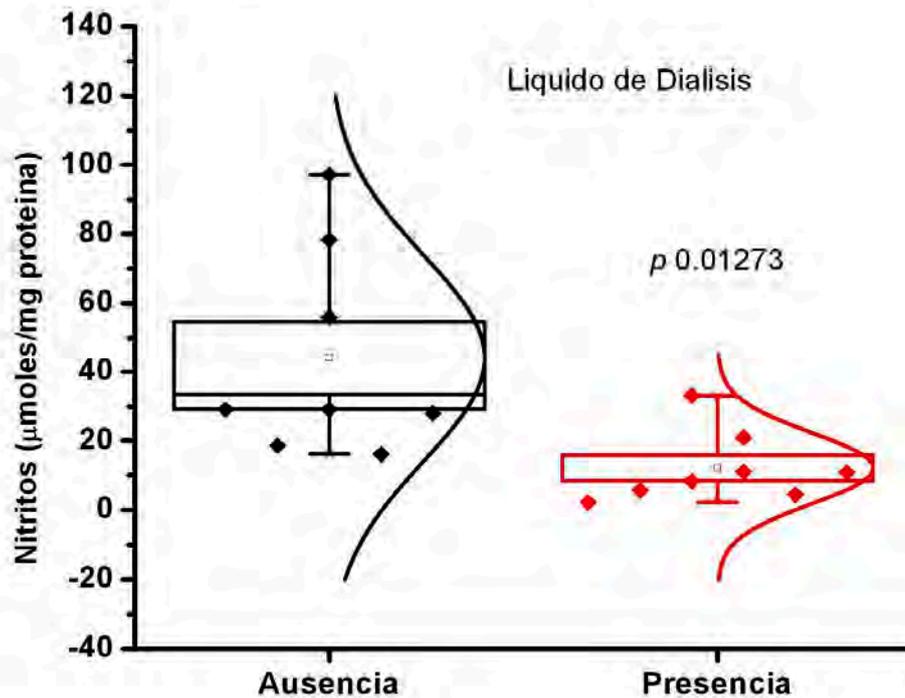
La media de carbonilos en líquido de diálisis representada por el cuadro pequeño es de  $22.634 \pm 4.966$  para pacientes sin peritonitis y de  $0.908 \pm 0.174$ .

Los valores de carbonilos en pacientes sin peritonitis están 25 veces más elevados en pacientes sin peritonitis que en los pacientes con peritonitis.

El Inserto representa el gráfico estadístico en líquido de diálisis de pacientes con peritonitis que fue ampliado.

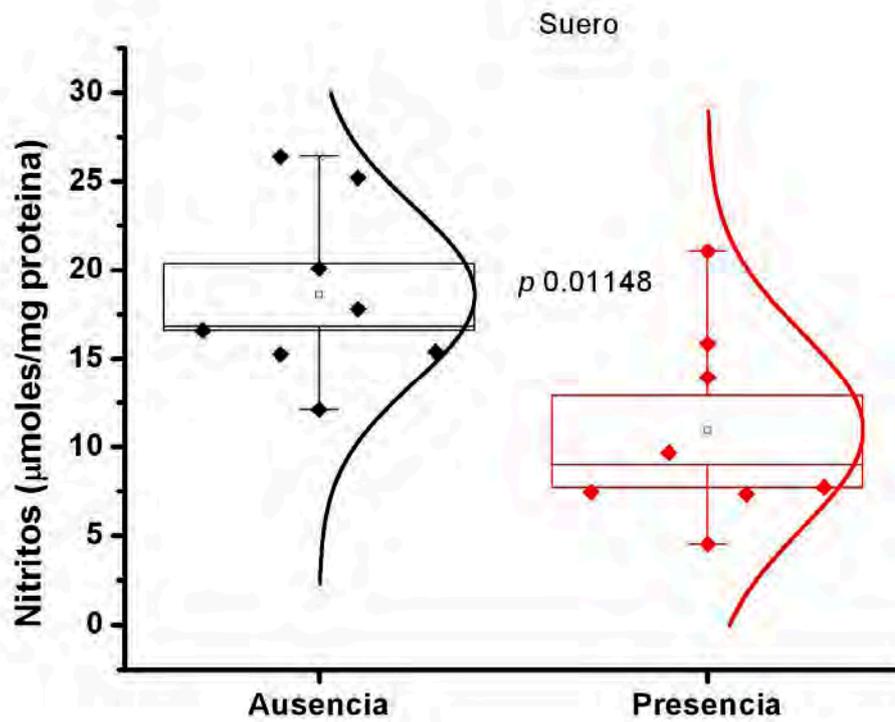


La grafica muestra carbonilos libres en suero de pacientes con y sin peritonitis. Las muestras de carbonilos de pacientes con y sin peritonitis se comportan de manera normal. La media de carbonilos libres en suero de pacientes sin peritonitis es de  $5.036 \pm 1.435$ . En pacientes con peritonitis es de  $4.085 \pm 1.163$  mostrando que no hay diferencia significativa entre grupos.



El gráfico representa la concentración de nitritos en líquido de diálisis de pacientes con y sin peritonitis.

El gráfico muestra que los resultados de pacientes con y sin peritonitis se comportaron de manera normal. La media de nitritos en líquido de diálisis de pacientes sin peritonitis fue de  $44.019 \pm 10.591$ , mientras que los pacientes con peritonitis mostraron una media de  $12.73 \pm 3.615$ . Los pacientes con peritonitis presentaron concentraciones significativamente menores que aquellos que no la presentaron siendo aproximadamente 4 veces menor en pacientes con peritonitis que en los que no sufrieron peritonitis.



El grafico representa la concentración de nitritos en suero en pacientes con y sin peritonitis.

Se observa un comportamiento normal en los resultados de nitritos en suero de ambos pacientes, Se obtuvo una media de  $18.606 \pm 1.768$  para los pacientes sin peritonitis. En el caso de pacientes con peritonitis la media fue de  $10.945 \pm 1.954 \mu\text{moles/mg}$  de proteínas. Existe una concentración mayor de nitritos en pacientes que no presentaron peritonitis.

## **Discusión y Conclusiones**

La falla renal crónica esta asociada con una producción aumentada de radicales libres(ROS) y de estrés oxidativo los cuales son adicionalmente empeorados por el inicio de la terapia dialítica. Existen diferentes mecanismos involucrados con la generación excesiva de ROS en la falla renal. El incremento del estrés oxidativo en pacientes con enfermedad renal crónica y en pacientes en diálisis se ha asociado con la activación de células como macrófagos y monocitos en un ambiente uremico.<sup>5,7,8.</sup>

La hipertensión en os pacientes estudiados favorece el desbalance entre el sistema oxidante y antioxidante. La peritonitis representa la complicación más frecuente en los pacientes en diálisis peritoneal y es la causa más importante de retiro de catéter de diálisis. Uno de los principales mecanismos de respuesta ante la inflamación es la génesis de radicales libres derivados del oxígeno y del óxido nítrico.<sup>18.</sup>

Nuestros datos muestran que los niveles de carbonilos en suero de pacientes con y sin peritonitis son significativamente diferentes, Sin embargo, es de llamar la atención que durante un proceso inflamatorio tan grave como la peritonitis, se esperaría una mayor cantidad de carbonilos libres en el liquido de diálisis de pacientes con peritonitis que en los que no tuvieron peritonitis. La diferencia entre los pacientes sin peritonitis es 25 veces mayor con respecto a los enfermos con peritonitis lo cual sugiere que estos pacientes pueden presentar una respuesta inmunológica deficiente o bien que su estado uremico modifica la respuesta inmunológica antes cualquier agente patógeno.

Con respecto a los nitritos en suero a diferencia del comportamiento de los carbonilos, los pacientes que muestran peritonitis tienen cantidades menores de nitritos en suero, lo cual no concuerda con lo reportado en la literatura, donde se señala la elevación en la cantidad de nitritos en suero en los pacientes que sufren peritonitis.<sup>19.</sup>

En el caso del líquido de diálisis, resulta interesante observar que en los pacientes sin peritonitis encontramos una concentración 4 veces mayor de nitritos que en el líquido de diálisis de los pacientes con peritonitis, lo cual sugiere que la infección asociada al estado urémico favorecen una respuesta inmunológica deficiente ya que en sujetos sanos hay incrementos de óxido nítrico durante los procesos infecciosos.

En la tabla I se observan las medias con desviaciones estándar de las características demográficas, los laboratorios y las características del dializante según los grupos estudiados.

Los datos obtenidos dan pauta para estudiar con mayor detenimiento el comportamiento del estrés oxidativo en pacientes únicamente hipertensos con enfermedad renal crónica en DPCA pues los estudios reportados en la literatura únicamente incluyen a los pacientes con Diabetes Mellitus. Sería interesante evaluar el comportamiento en la concentración de nitritos en líquido de diálisis para evaluar si este grupo de pacientes presentan eventos de peritonitis con mayor frecuencia que los pacientes con niveles de nitritos esperadamente normales o bien si el comportamiento de la concentración de nitritos depende del agente etiológico o el estado urémico.

Al observar la diferencia tan clara entre la cantidad de carbonilos libres en los pacientes con peritonitis con respecto al grupo sin peritonitis, podríamos suponer que los carbonilos representan un marcador de valor pronóstico, puesto que los pacientes con mayor cantidad de carbonilos en suero murieron o cambiaron de modalidad dialítica.

## **Perspectivas**

Este trabajo generara un estudio mas detallado tomando en cuenta una muestra mayor de pacientes con hipertensión arterial sistémica y enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal

Continua ambulatoria en presencia y ausencia de peritonitis.

## **Bibliografía**

- 1.- Peña R J. Transición y equilibrio de la diálisis peritoneal y la hemodiálisis en México en la próxima década. *Nefrol Mex* 2002;23(2):77-80
- 2.- K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. *Am J Kidney Dis* 39(suppl 1):S1-266, 2002.
- 3.-Daugirdas JT. Manual de dialysis. 4ta edición. Cap 26,p442-448 , Cap. p.30 486-502. Cap 31 p.503-515.
- 4.- Peritoneal Dialysis Related Infections. Recommendations 2005. Update. Peritoneal Dialysis International, Vol 25, p 107-131.
- 5.- Henrich W. Principles and practice of dialysis. 4<sup>th</sup> edition. Lippincott Williams and Wilkins.
- 6.-Sanford Guide. The Sanford guide to antimicrobial Therapy 2009.
- 7.- Douma c, Waart D, Zemel D, Imholz A, Koomen G, Struijk D, Krediet R. Nitrate in stable CAPD and during peritonitis. *Adv perit dial* 1995; 11:36-40.
- 8.- Hashimi AF, Mohamen F H, Khazragi AS. Oxidative stress in chonic renal failure patients treated by peritoneal dialysis. *Saudi Medical J* 2004; Vol. 25(9):1186-1192.
- 9.- Lameire N, Vanholder R, De Smet R. Uremic toxins and peritoneal dialysis. *Kid Int* Vol. 59, Suppl 78(2001), pp. S292-S-297.

- 10.- Miyata T, Kurokawa K, Ypersele de Strihou CV. Relevance of oxidative and carbonilo Stress to long-term uremic complications. *Kidney Int.*58 Suppl(2000) S120-S125.
- 11.- Miyata T, Strihou C, Kurokawa K, Baynes J. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of “carbony stress” in long-term uremic complications. *Kid Int Vol.*55(1999)pp 389-399.
- 12.-Witko- Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins?. *Kid Int, Vol. 63, Suppl*84(2003), pp SII-S14.
- 13.-Wiko-Sarsat V, Friedlander M, Khoa T N, Capeillere-Blandin C, Nguyen A, Canteloup S. Advanced oxidation protein products as novel mediator of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol*, 1998, 161:2524-2532.
- 14.- Deschamps- Latsha B y Witko-Sarsat V. Importance of oxiditively modified proteins in chronic renal failure. *Kidn Int Vol* 59. Suppl. 78(2001) pp S-108-S113.
- 15.- Duranay M, Ylmaz F M, Ylmaz G, Akay H, Parpucu H Yücel D. Association between nitric oxide and oxidative stress in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients peritonitis. *Sand J Clin Lab Invest* 2007; 67: 654-660.
- 16.-Yang CW, Hwang T L, Wu CH, Wu MH, Lai PC, Huang J Y, Yu CC, Shyr M, Huang CC. Peritoneal nitric oxide is a marker of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* (1996)II: 2466- 2471.
- 17.- Choi K, Jeong TK, Lee S C, Kim S W, Kim H. Nitric Oxide is a Marker of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Adv perit dial* 1988;14:173-179.
- 18.- Duranay M, Yilmaz FM, Akay H, Parpucu H, Yucel D. Association between nitric oxide and oxidative stress in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients peritonitis. *S J of Clin and Lab Invest*, 67:6, 654-660.

19.- Sun Park M, Bahl Lee H. AGE Accumulation in peritoneal membrane and cavity  
Turing peritoneal dialysis and its effect on peritoneal structure and function. Perit Dial.  
Int, Vol. 19(1999) Supplement2.1999.