



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

**DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE  
ANGIOTENSINA-(1-7) Y ANGIOTENSINA-II EN  
PACIENTES EN HEMODIAFILTRACIÓN CRÓNICA**

**T E S I S**

QUE PRESENTA

**DR. EDGAR ALLÁN CASTILLO LÓPEZ**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

**NEFROLOGÍA**

TUTOR: DR. HÉCTOR ALEJANDRO PÉREZ-GROVAS GARZA

COTUTOR: DR. GUSTAVO PASTELIN HERNÁNDEZ

ASESOR: DRA. MARTHA FRANCO GUEVARA

COASESOR: DR. LUIS ALFONSO MARISCAL RAMÍREZ



MÉXICO, D.F.

2010



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE  
ANGIOTENSINA-(1-7) Y ANGIOTENSINA-II EN  
PACIENTES EN HEMODIAFILTRACIÓN CRÓNICA**

**T E S I S**

**QUE PRESENTA**

**DR. EDGAR ALLÁN CASTILLO LÓPEZ**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:**

**NEFROLOGÍA**

**TUTOR: DR. HÉCTOR ALEJANDRO PÉREZ-GROVAS GARZA**

**COTUTOR: DR. GUSTAVO PASTELIN HERNÁNDEZ**

**ASESOR: DRA. MARTHA FRANCO GUEVARA**

**COASESOR: DR. LUIS ALFONSO MARISCAL RAMÍREZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2010**

---

Dr. José Fernando Guadalajara Boo  
Director de Enseñanza  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

---

Dra. Martha Franco Guevara  
Jefe Del Departamento de Nefrología  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

---

Dr. Gerardo Gamba Ayala  
Jefe del Departamento de Nefrología  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

---

Dr. Héctor Alejandro Pérez-Grovas Garza  
Médico Adjunto de Nefrología  
Tutor de Tesis

---

Dr. Gustavo Pastelín Hernández  
Jefe del Departamento de Farmacología  
Cotutor de Tesis

# *A mi familia.*

De no haber sido por ti *Carmen* este nuevo episodio de nuestras vidas no se hubiera llevado a cabo. Gracias por tu apoyo incondicional y cercanía cuando más te necesité.

A mis hijos *Galia* y *Gael* que fueron siempre mi impulso para salir adelante en el momento más difícil de mi vida que fue la carencia de su ser a mi lado.

Madre, eres una luz en mi camino.  
Padre, siempre has sido y serás mi ejemplo a seguir.  
Toni, mi mejor amigo y consejero.

Los amo.

# *A mis grandes maestros.*

Médicos Adjuntos al Servicio de Nefrología y Cardiología, sus enseñanzas profesionales y de vida las llevaré siempre conmigo . Procuraré impartir el conocimiento que de forma altruista me brindaron.

A los pacientes que gracias a su noble comprensión me permitieron adquirir las habilidades y conocimientos que me llevo a ejercer en mi lugar de origen.

Al Instituto Nacional de Cardiología porque me abrió las puertas a un conocimiento de la Nefrología que solamente en este sitio se puede adquirir.

Al personal de Enfermería, Administrativo, Intendencia y demás trabajadores del Servicio de Nefrología por todo el apoyo brindado durante este lapso de tiempo.

Gracias.

## CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	20
III.	HIPÓTESIS.....	21
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
V.	RESULTADOS.....	27
VI.	DISCUSIÓN.....	42
VII.	CONCLUSIONES.....	46
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	49

---

## I. INTRODUCCIÓN

La Hemodiálisis como terapia extracorpórea es el método a través del cual se remueven o incorporan solutos y líquidos a los pacientes con Insuficiencia Renal Aguda o Crónica (IRA o IRC). Durante el proceso la sangre del paciente circula a través de un hemofiltro el cual está constituido por una membrana semipermeable para el posterior retorno de sangre al paciente. El hemofiltro se conforma por múltiples capilares de diverso grosor y porosidad que permiten la eliminación de diversos solutos tóxicos para el organismo como la urea y creatinina entre otros. La superficie total de los hemofiltros varía de 0.5 a 2.5 m<sup>2</sup> y dicha capacidad está en relación a la superficie corporal de cada paciente, los materiales de elaboración de los mismos han evolucionado con el paso de los años y actualmente se cuentan con filtros semisintéticos con la particularidad de tener una alta biocompatibilidad.<sup>1</sup>

De forma contraria a la circulación sanguínea el líquido dializante circula por fuera del capilar, con lo cual se lleva a cabo la difusión o en el caso de Hemodiafiltración (HDF) la convección para la remoción de solutos. La evolución científica y tecnológica han permitido el desarrollo de terapias extracorpóreas múltiples y en la actualidad existen:

- *Hemodiálisis* que basa su funcionamiento en la *difusión* mediante de un gradiente de concentración entre la sangre y el dializado a través del hemofiltro.<sup>1</sup>
- *Hemodiálisis de Alta Eficiencia* se refiere a la remoción de solutos de pequeño peso molecular a gran velocidad mediante *difusión*, mientras que *Alto Flujo* se refiere a la remoción por difusión de solutos de



mediano peso molecular (superior al de la urea). Por lo tanto, una membrana puede ser de alta eficiencia/alto flujo, alta eficiencia/bajo flujo, baja eficiencia/alto flujo, baja eficiencia/bajo flujo; se define como *Diálisis Convencional* al uso de membranas con baja eficiencia/bajo flujo.<sup>1</sup>

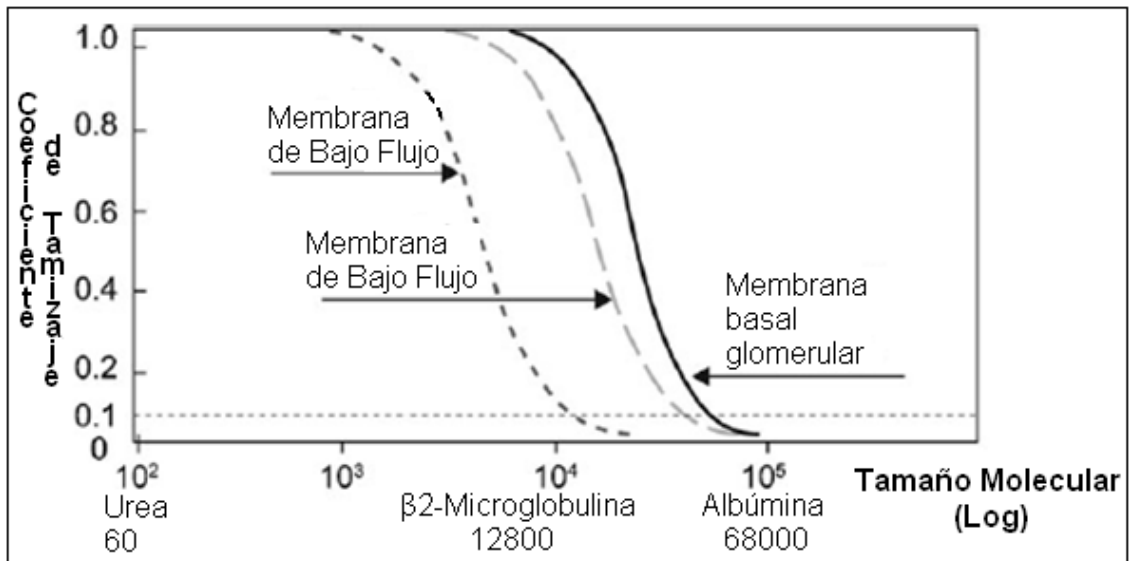
- *Hemofiltración* es otro método de Hemodiálisis que remueve líquido mediante convección, la diferencia radica en que no existe dializado al otro lado de la membrana. Al igual que con la difusión, existe remoción de solutos; sin embargo; la cantidad removida puede no implicar un descenso en el nivel sérico pero sí en la cantidad corporal total de dicho soluto.<sup>1</sup>
- *Hemodiafiltración* se refiere a la combinación de hemodiálisis y hemofiltración, es decir, difusión y convección. *Hemoperfusión* se refiere a la remoción de solutos (habitualmente toxinas) mediante la adsorción a otros materiales como carbón o resinas. En base a la temporalidad del uso de la terapia extracorpórea, la Hemodiálisis puede clasificarse como *Terapias Continuas* o *Terapias Intermitentes*.<sup>1</sup>

Un objetivo primordial de una terapia de sustitución renal es la ultrafiltración (remoción de agua) con la finalidad de mantener al paciente euvoléxico e incluso ligeramente hipovolémico posthemodiálisis, al respecto surge el término de *peso seco* el cual se define como el estado de volumen de un paciente en el cual se encuentra normotenso (sin uso de antihipertensivos), sin hipotensión transdiálisis o calambres y sin edemas. Sin embargo, esta definición puede ser burda puesto que existe un considerable número de

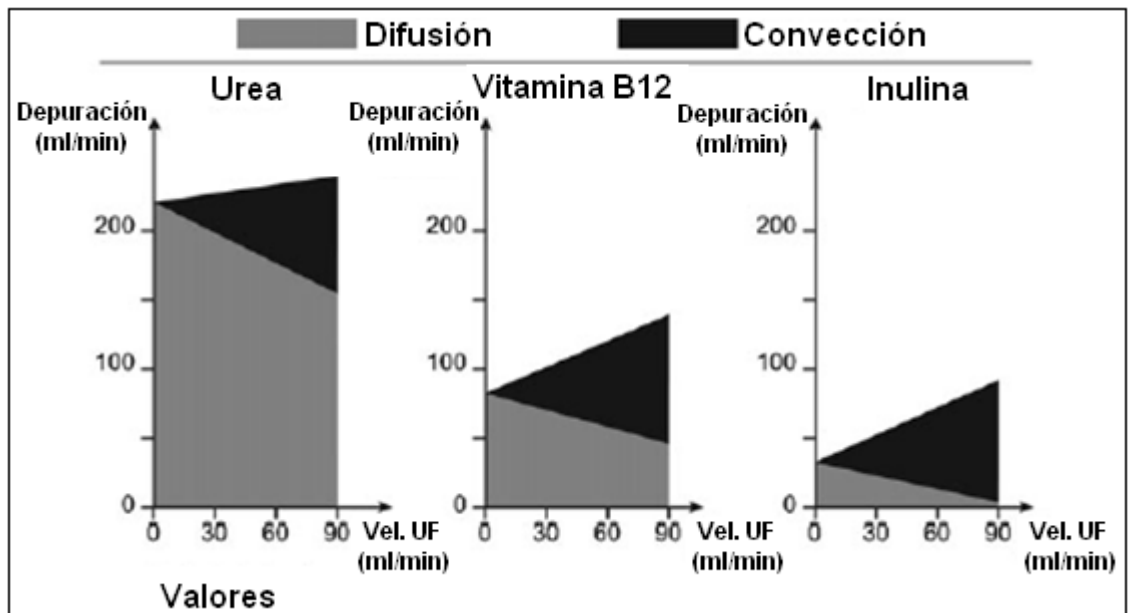
pacientes normotensos que se encuentran hipervolémicos como son aquellos con Insuficiencia Cardíaca.

El otro objetivo de la Hemodiálisis es la depuración de solutos como la urea, creatinina, potasio, fósforo, entre otros. Para tal finalidad en múltiples centros de Hemodiálisis se utiliza hoy día a la urea como indicador de la calidad de diálisis mediante el cálculo del  $Kt/V$ , donde  $K$  representa la depuración de urea,  $t$  la duración de la sesión de Hemodiálisis y  $V$  el volumen de distribución de urea en el cuerpo; se recomienda un  $Kt/V$  igual o mayor 1.2 como dosis de diálisis mínima deseada para el paciente.<sup>1</sup>

A diferencia de lo anterior comentado, en otros sitios donde se realiza Hemodiálisis, el uso del fósforo como marcador de calidad de sustitución renal provee de mayor información al respecto puesto que al ser una partícula de mayor peso molecular que la urea nos aproximamos más a la depuración glomerular normal y por lo tanto la remoción de solutos de pequeño peso molecular se garantiza con esta prescripción, esto se demuestra en trabajos recientes publicados y se aprecia de forma más clara en las *Figuras 1 y 2*. Tras lograr una mayor ultrafiltración se promueve la remoción de solutos de mediano y gran peso molecular puesto que con ello existe convección que favorece dicha depuración de moléculas. Esto a su vez traduce que las moléculas de mediano y gran peso molecular solo se remueven de forma eficaz mediante la convección que provee la Hemodiafiltración.<sup>1,2</sup>



**Figura 1.** Coeficiente de Depuración de Urea, -microglobulina y Albúmina en relación a membranas de Bajo Flujo, Alto Flujo y Membrana Basal Glomerular <sup>2</sup>



**Figura 2.** Depuración de Urea, Vitamina B12 e Inulina en relación a la difusión y convección. A mayor ultrafiltración existe mayor convección y por lo tanto mayor depuración de partículas de peso molecular mayor. <sup>2</sup>

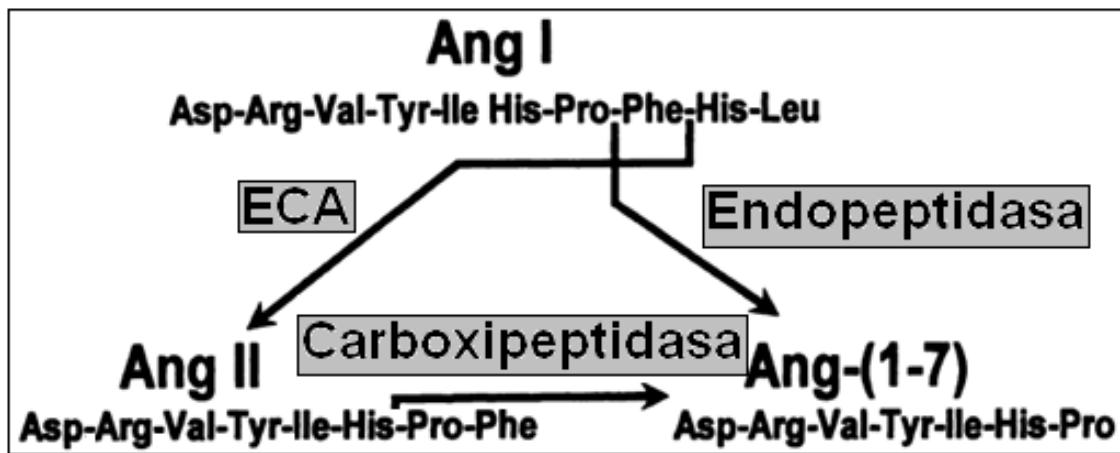
El estado cardiovascular de un paciente con IRC Avanzada (IRCA) está directamente relacionado con el estado de volumen, daño vascular (Endotelina, Oxido Nítrico, Angiotensinas, Prostaglandinas), sistema neuroendócrino (como Catecolaminas, Angiotensinas, Prostaglandinas), proliferación celular vascular (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas “PDGF” y Derivado de Fibroblastos “FDGF”, ambas siglas derivadas del Inglés), hipokalemia, hipercalcemia, uso de medicamentos que condicionen incremento de la presión arterial (Eritropoyetina), uso de antihipertensivos (Calcioantagonistas, Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina, Bloqueadores de los Receptores de Angiotensina-II, Betabloqueadores, Alfabloqueadores, etc.) y con el consumo de sal (Sodio). Por lo tanto, el actuar sobre cada uno de los puntos antes referidos pondrá en un mejor estado cardiovascular a los pacientes.<sup>1</sup>

El rol que juega el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAS) en la hipertensión Arterial Sistémica (HAS) es bien conocido puesto que existe un incremento en la síntesis de Angiotensina-II (ANG-II) que promueve la vasoconstricción arterial. A nivel glomerular, la ANG-II produce vasoconstricción en las arteriolas pre y postglomerulares, predominando el efecto postglomerular lo cual condiciona incremento de la presión intraglomerular y con ello se favorece la hiperfiltración, esto a su vez promueve el incremento en el radio de los poros de la membrana basal glomerular y el consecuente deterioro en la selectividad mediada por tamaño molecular de la membrana basal que condiciona proteinuria.

Se conoce también que la ANG-II tiene un efecto proliferativo celular, despolariza los podocitos, promueve el acúmulo de matriz mesangial y estimula la síntesis de sustancias vasoactivas, así como el efecto proinflamatorio al estimular la fagocitosis de los macrófagos.<sup>1</sup>

El sistema RAS inicia con la síntesis de Angiotensinógeno a nivel hepático, de este polipéptido se generan todos los oligopéptidos vasoactivos que intervienen en la vasculatura sistémica. El Angiotensinógeno mediante el efecto enzimático de la Renina genera Angiotensina-I (ANG-I) el cual es un decapeptido que generará secundariamente ANG -II (octapéptido) mediante el efecto de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) y ANG -(1-7) (heptapéptido) a través del efecto de la Endopeptidasa Neutral (NEP de sus siglas en Inglés); sin embargo, a través de los años se ha descubierto la gran interacción que existe entre estas Angiotensinas y sus receptores comunes, así como los efectos semejantes y divergentes que tienen básicamente ambos sustratos.

La diferencia bioquímica de ANG -II y ANG -(1-7) versa en relación a la escisión de un aminoácido más para la ANG-(1-7), es decir, de la acción de la ECA sobre ANG-I a nivel de la unión Fenilalanina-Histidina para generar el octapéptido ANG-II y de la acción de NEP para realizar la escisión a nivel de la unión Prolina-Fenilalanina y generar el heptapéptido ANG-(1-7)<sup>3</sup>. Véase la *Figura 3*.

**Figura 3.** Formación de Angiotensinas <sup>(Ref. 7)</sup>

Los efectos semejantes de ANG-II y ANG-(1-7) se reflejan en la equipotencia para estimular la liberación de vasopresina, en 1990 se logró demostrar que la ANG-(1-7) se encuentra tanto en hipotálamo como en la neurohipófisis con lo cual se estimula la liberación de Vasopresina y los niveles tisulares para este efecto son muy semejantes a los de la ANG-II por lo que se confirma la equipolencia a este nivel de ambos oligopéptidos.<sup>3</sup>

A través de estudios iniciales en perros, se observó que la ANG-(1-7) está presente en animales sanos como en nefrectomizados, así como que el estímulo de la infusión de Renina a la sangre promueve la síntesis de forma simultánea tanto de ANG-II como ANG-(1-7) tanto en perros sanos como en nefrectomizados. También se descubrió que tras administrar Enalaprilat (Inhibidor de la ECA) disminuye la síntesis de ANG-II en ambos grupos de estudio y a la vez incrementa los niveles de ANG-(1-7), esto incluso ocurre a pesar del estímulo de la aplicación de Renina, lo cual permitió pensar en la existencia de una vía alterna para la síntesis de ANG-(1-7) que difiere de la ECA.<sup>3</sup>

Si bien el efecto vasodilatador directo de ANG-(1-7) a través de receptores específicos se descubrió años posteriores, de forma inicial en la década de los 90's se identificó su interacción con el sistema de las Quininas, específicamente con Bradicinina (BK). El mecanismo exacto hasta ese momento se desconocía, sin embargo, tras un estudio realizado en 1997 se determinó que la ANG-(1-7) ejerce un efecto vasodilatador mediado por el bloqueo en la degradación de la BK y con ello se promueve la mayor producción de Oxido Nítrico (ON), así mismo se identificó que la ANG-(1-7) funciona como un antagonista de la ECA que a su vez favorece la vasodilatación al disminuir la síntesis de ANG-II, dicho efecto antagonista lo ejerce de forma temporal y sobre todo de manera reversible puesto que el bloqueo de las Endopeptidasas (específicamente Neprilisina) disminuye la síntesis de ANG-(1-7) con lo que se revierte el efecto promotor de vasodilatación.<sup>4, 5, 11, 15</sup> Este efecto inhibitor de la ECA se incrementa con el uso de IECA o bloqueadores de los receptores de ANG-II (ARA-II) lo cual traduce una disminución en el metabolismo de la ANG-(1-7) favoreciendo la vasodilatación.<sup>6, 11, 15</sup>

El control enzimático directo para la conversión de ANG-I a la ANG-(1-7) se deriva de 3 Endopeptidasas principalmente: *Endopeptidasa Neutral* (NEP), *Neprilisina* y *Propil-Endopeptidasa*. Estas 2 últimas intervienen a su vez en la degradación de BK y Vasopresina. El efecto de ANG-(1-7) se ejerce también a nivel renal tras el bloqueo de la bomba de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$  que favorece la natriuresis y un mejor control de la presión arterial, así mismo, promueve la

síntesis de Prostaglandinas  $E_2$  e  $I_2$ (PG- $E_2$ ,  $I_2$ ) que favorecen mayor dilatación vascular.<sup>7, 11</sup>

El efecto antiproliferativo vascular de ANG-(1-7) favorece un mejor control de la presión arterial puesto que con ello existe una mayor distensibilidad arterial; dicho efecto antiproliferativo se demuestra tras condicionar daño endotelial en modelos experimentales donde tras añadir ANG-(1-7) a la neoíntima (*estudio in vitro*) ocurre una disminución de la proliferación celular, esto a la vez apoya el uso de IECA para la disminución de la proliferación celular vascular., este efecto se ejerce tras el bloqueo del receptor  $AT_1$  para la ANG-II.<sup>8, 10</sup>

El efecto vasodilatador de la ANG-(1-7) a través de la síntesis de ON, se observa de forma directa al cuantificar los productos radicales libres de Oxígeno ( $O_2^-$ ) que se ven disminuidos tras lograr una concentración sérica alta de ANG-(1-7) y el consecuente incremento en ON por vía de la BK.<sup>9, 11</sup> Dado el conocimiento respecto a la Hipertensión Arterial Sistémica (HAS) como un factor de riesgo cardiovascular sobre todo en pacientes con IRCA es entendible que la compresión del sistema RAS nos provee de un arma más para disminuir la morbimortalidad en este grupo de pacientes haciendo mención de los efectos deletéreos de la hiperactividad del sistema hacia un mayor estrés oxidativo, daño endotelial, inflamación y vasoconstricción.<sup>12, 15</sup>

La elasticidad vascular, especialmente arterial, se ve francamente comprometida en pacientes con IRCA y condiciona efectos estructurales



miocárdicos como la Hipertrofia Ventricular Izquierda (HVI); los mecanismos implicados en este grupo de pacientes son la sobrecarga hídrica y el efecto vasoconstrictor mediado principalmente por ANG-II. Es fácil pensar que tras la reducción de la hipervolemia, hasta alcanzar el peso seco en pacientes con IRCA, y lograr un bloqueo de la síntesis de ANG-II se disminuirá el riesgo cardiovascular mediante los diversos mecanismos implicados en el bloqueo de dicha Angiotensina. La prevalencia de HAS en IRCA puede ser de hasta el 100%, haciendo omisión de algunos pacientes ya con ICC que habitualmente cursan normotensos e incluso hipotensos. Las alteraciones estructurales cardiovasculares oscilan en esta población en alrededor del 60-80%, esto explica el porque de la morbimortalidad de origen cardiaco tan elevada en pacientes con IRC desde el estadio III. Si bien la HAS es multifactorial tal como se comentó anteriormente, la causa preponderante es la hipervolemia y secundariamente la vasoconstricción sistémica por el efecto del sistema RAS. En base a esto podemos concluir que el objetivo primario a buscar en pacientes con IRCA es alcanzar el peso seco pudiendo ser de utilidad ciertos fármacos para lograr un mejor control de la presión arterial, especialmente IECA o ARA-II.<sup>13, 14, 32</sup>

El sistema nervioso autónomo también juega un rol importante en el control de la presión arterial. La liberación de Norepinefrina (NE) en el hipotálamo contribuye en la regulación del sistema nervioso simpático y se ha observado que la ANG-(1-7) disminuye la actividad de dicho sistema tras el efecto sobre el receptor AT<sub>2</sub> que condiciona una menor liberación de NE en el hipotálamo. Tras el acoplamiento de ANG-(1-7) al receptor Mas y AT<sub>2</sub> se

disminuye la síntesis de NE por vía de segundos mensajeros como GMPc y la proteína-kinasa dependiente de GMPc (PKG de sus siglas en Inglés), además que se favorece con dicho acoplamiento al receptor AT<sub>2</sub> la síntesis de ON por vía de la BK. El efecto vasodilatador de ANG-(1-7) a través del receptor Mas se descubrió tras modelos experimentales en ratas y cultivos de células endoteliales aórticas humanas; dicha observación se determinó tras observar una disminución en la síntesis de ON al agregar un antagonista específicos del receptor Mas tanto en el modelo animal como humano que previamente se habían inoculado con ANG-(1-7).<sup>16, 21</sup>

El descubrimiento de la ECA2 como una enzima que incrementa su expresión en modelos animales experimentales con HAS apoyó la idea del incremento de la ANG-(1-7) en este grupo de estudio, lo cual se observó posteriormente en seres humanos. El efecto neto del incremento de la ECA2 es un mecanismo contraregulador de la HAS, es decir, tras el aumento sérico de ECA2 se observará mayor síntesis de ANG-(1-7) y la consecuente tendencia a vasodilatación mediante todos los mecanismos en los que se involucra este sustrato. Además, la ECA2 también se ve incrementada su síntesis a nivel placentario y se ha propuesto que la disminución de la misma a este nivel está implicada en el desarrollo de preclampsia.<sup>17, 18</sup>

Los polimorfismos de la ECA también explican el desarrollo de HAS, esto se ha observado en modelos experimentales con ratas que demuestran un incremento en el nivel sérico y actividad de la ECA que favorece la síntesis de ANG-II y los consecuentes efectos sistémicos de la misma.<sup>17, 18, 19</sup>

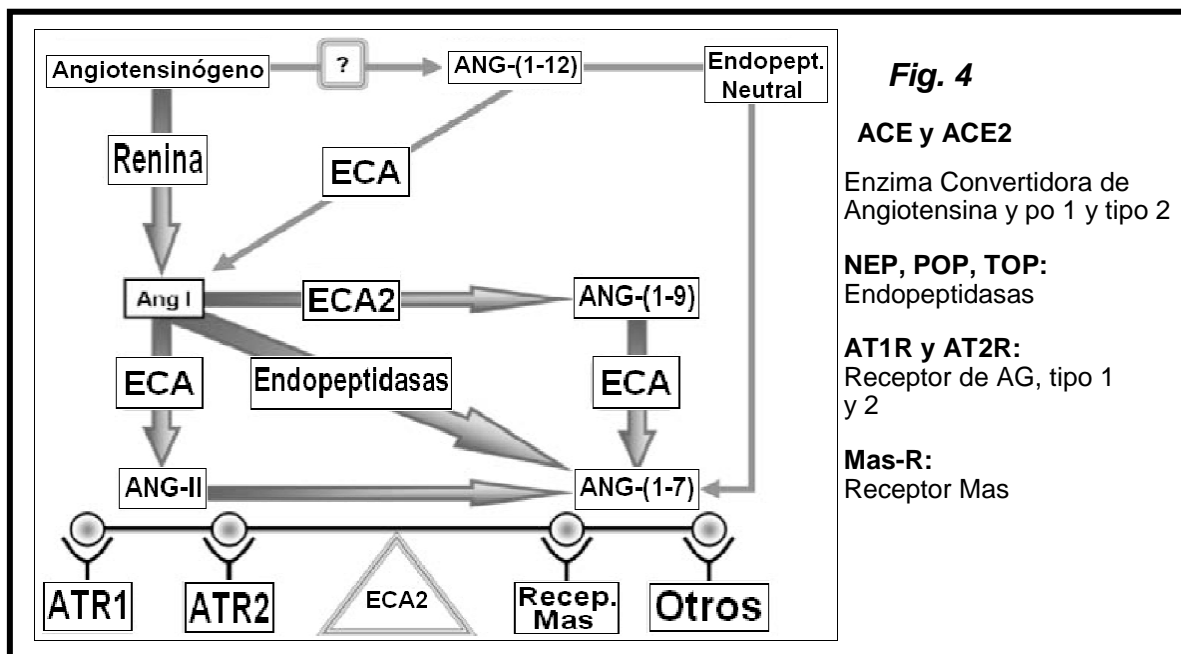
El incremento en la expresión de la ECA se observa de forma muy significativa en paciente en diálisis, sobre todo en los monocitos, esto explica parcialmente el efecto proinflamatorio tendiente en el que se encuentra este grupo de pacientes y que favorece la aterogénesis. Además del proceso inflamatorio incrementado *per se* en el que se encuentran estos pacientes, el incremento en la expresión de la ECA en los monocitos se asocia de forma significativa con la enfermedad cardiovascular prevalente en esta población que a su vez puede considerarse un factor de riesgo cardiovascular más a los ya existentes, sin embargo, habrá que validarse tal aseveración.<sup>20</sup>

Los efectos vasodilatadores de ANG-(1-7) guardan relación con el género, esto se demostró en un modelo experimental con ratas donde existió mayor síntesis de ON en ratas del sexo femenino en quienes se observó que el efecto antihipertensivo se logra de una forma más eficaz y sostenida en el género femenino, lo cual a su vez es un punto interesante a considerar para los estudios posteriores en humanos donde se incluya población de ambos sexos.<sup>21</sup>

En resumen, el sistema RAS está francamente implicado en el control del tono vascular y su desbalance promueve la HAS, por lo cual su comprensión y estudio es trascendente para dilucidar la homeostasis cardiovascular en pacientes con IRCA, sobre todo en el pequeño subgrupo de pacientes que persisten con descontrol hipertensivo pese a encontrarse en peso seco definido tradicionalmente. Los efectos de ANG-(1-7) en resumen se pueden traducir como vasodilatación mediada por vía BK y ON, disminución del

estrés oxidativo, disminución de la proliferación celular vascular, disminución de inflamación, efecto natriurético, contraregulación del sistema nervioso simpático, efectos antitrombótico y antifibrótico; todo ello mediante su interacción con el receptor Mas y AT<sub>2</sub>, además de la acción directa de ECA2. Los efectos contrarios con la ANG-II ocurren a través de su síntesis vía de la ECA y acoplamiento al receptor AT<sub>1</sub>, a excepción en la liberación de Vasopresina que es estimulada por ambas Angiotensinas. Por estos motivos, en la actualidad se propone al eje ECA/ANG-II/AT<sub>1</sub> como el villano del sistema RAS y lo contrario ocurre con el eje ECA2/ANG-(1-7)/Mas-AT<sub>2</sub>.<sup>22, 23, 24, 25, 26</sup>

En el presente y futuro se promueve el desarrollo de agonistas peptídicos y no peptídicos de la ANG-(1-7) para los receptores Mas y AT<sub>2</sub>; sin embargo; su aplicación clínica está aún pendiente<sup>22, 23, 24, 25, 26</sup>. El siguiente esquema muestra de forma sintetizada el sistema RAS en base a lo anteriormente descrito. (Fig. 4<sup>Referencia 25</sup>)



En la actualidad los estudios clínicos disponibles al respecto del análisis del sistema RAS en Hemodiálisis se limitan al comportamiento de la ANG-II y característicamente demuestran un incremento en los niveles séricos de la misma tras la ultrafiltración y esto ocurre de forma independiente del estado de volumen; sin embargo; las aseveraciones existentes al respecto se enfocan a describir la hiperactividad de la ANG-II como un mecanismo contraregulador de hipotensión tras la ultrafiltración y que en cierto grupo de pacientes se encuentra en un nivel submáximo que no permite un apropiado ajuste del control hemodinámico transdiálisis.<sup>27, 28</sup> Existen también trabajos que muestran no solo el incremento de ANG-II como causante del efecto vasoconstrictor y descontrol hipertensivo en Hemodiálisis, si no además un incremento del nivel de Noradrenalina, Aldosterona y Cortisol mediado por la ultrafiltración que apoyan el efecto hipertensivo.<sup>27</sup>

Anteriormente se comentó de forma parcial como el nivel de ANG-(1-7) tiene franca relación con el estrés oxidativo. El estado postHemodiálisis ha mostrado en múltiples trabajos un incremento en la actividad de la Superóxido Dismutasa y Glutación Reductasa que favorecen el incremento en el estrés oxidativo mediado por la producción de radicales libres de oxígeno.<sup>29</sup>

El incremento en el estrés oxidativo se debe considerar como un factor de riesgo de aterosclerosis acelerada, dicho incremento se ve favorecido en Hemodiálisis tras la disminución en la actividad enzimática de la Glutación Reductasa y Glutación Total, además de una disminución sérica de los niveles de Vitamina C y E que son antioxidantes naturales. Dos terceras partes de

dicha pérdida ocurre con la difusión, mientras que el tercio restante obedece a la convección durante la Hemodiálisis y Hemofiltración respectivamente. Por lo tanto el incremento del estrés oxidativo en terapias extracorpóreas obedece a la pérdida transdiálisis de antioxidantes y se propone como una medida al respecto el uso de suplementos de Vitamina C y E.<sup>30, 32</sup>

Es bien conocido que los Productos Finales de Glucosilación (AGEs de sus siglas en Inglés) se encuentran incrementados en los pacientes con IRCA y ello favorece el incremento del estrés oxidativo. Se ha observado que las terapias convectivas de sustitución renal disminuyen los niveles séricos de AGEs, además esto ocurre de forma significativa al utilizarse en Hemodiálisis Convencional agua ultrapura que también se utiliza en Hemodiafiltración. Estos resultados apoyan en la actualidad el uso de terapias convectivas (Hemodiafiltración y Hemofiltración) y agua ultrapura como una mejor opción de sustitución renal en pacientes con IRCA.<sup>31</sup>

El ON desde hace 2 décadas se ha reconocido como un importante vasodilatador. Su síntesis proviene del endotelio vascular mediante la Sintasa de Oxido Nítrico (eNOS de sus siglas en Inglés) y a través de su difusión a la media de los vasos ejerce el efecto vasodilatador. Para mantener una homeostasis vascular existen mecanismos contrarios al del ON como son la síntesis Endotelina-1 y ANG-II. La uremia por sí sola es una causa de decremento en la síntesis de ON, sin embargo, las citocinas originadas por el paso sanguíneo a través del hemofiltro condicionan incremento en la síntesis de ON; esto nos conduce a los conceptos de ON constitutivo e inducible y las

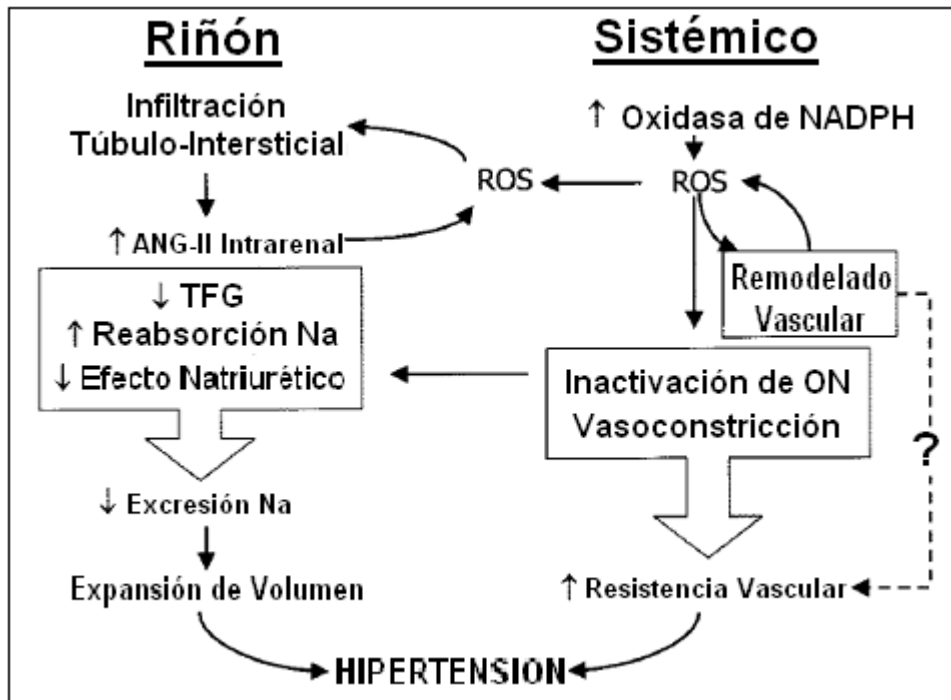
terapias sustitutivas renales actuales se enfocan en la menor producción de ON inducible a través de la generación de membranas más biocompatibles con la finalidad de prevenir hipotensión transdiálisis. Una membrana más biocompatible y la optimización en la calidad de Hemodiálisis condicionarán un menor estado de inflamación, este último evento a través de diversas citocinas es el principal implicado en la síntesis de ON inducible y se puede disminuir la síntesis del mismo a través de membranas que realicen adsorción y permitan mayor convección. Al respecto de las terapias convectivas en los últimos 5 años se ha observado en múltiples estudios clínicos e *in vitro* que favorecen la mejoría de la Hemoglobina, disminución del estrés oxidativo, disminuyen el estado inflamatorio sistémico, mejoran el perfil lipídico y el producto Calcio-Fósforo, por lo tanto francamente existe una tendencia al uso de esta terapia en países desarrollados; además, a través de los mecanismos antes comentados se favorece la homeostasis cardiovascular e inclusive algunos reportes documentan reducción de la masa ventricular izquierda o mejoría de la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo. A pesar de los efectos a favor de las terapias convectivas, aún no existen estudios a largo plazo que demuestren francamente disminución de la mortalidad.<sup>33, 34, 35</sup>

Debido a que la causa de morbi-mortalidad en pacientes con IRCA es de tipo cardiovascular, a los factores de riesgo tradicionales se agregan otros no tradicionales como la inflamación, el estrés oxidativo, disfunción endotelial y estado nutricional, ya que los factores tradicionales no explican del todo por sí solos o en conjunto la elevada mortalidad en este grupo de pacientes. Debido a estas aseveraciones se han implementado múltiples modalidades de terapias

convectivas con la finalidad de disminuir el estrés oxidativo, tal es el reuso del ultrafiltrado obtenido en el dializado el cual se hace pasar por un segundo filtro a base de Carbono y Resinas que depuran dicho líquido para su posterior reinyección a la sangre a nivel prefiltro con lo que se logra una adecuada terapia convectiva. Esta modalidad particularmente demostró tener un importante impacto a nivel de estrés oxidativo respecto a una Hemodiálisis Convencional y se propone como una mejor opción para disminuir tanto el estrés oxidativo como la inflamación que impactan directamente en la aterosclerosis vascular, el mecanismo propuesto para estos fenómenos es la depuración de citocinas. Es bien aceptado hoy día que el ajuste de los parámetros de calidad de diálisis en cada centro favorece francamente los mejores resultados a corto, mediano y largo plazo respecto a los eventos cardiovasculares.<sup>35, 36, 37, 39</sup>

Investigaciones llevadas a cabo durante la década de los 90's muestran que la relación estrecha que guardan los mecanismos proinflamatorios, Angiotensinas y Estrés Oxidativo guardan relación con la retención de sal que promueven de forma conjunta todos estos mecanismos, específicamente de la ANG-II. Esto se puede resumir en la *Figura 5*, donde se muestra la relación estrecha que guarda el incremento del Estrés Oxidativo, mayor síntesis de ANG-II y el consecuente desarrollo de Hipertensión Arterial asociada a la retención de sodio y agua. Los autores de este trabajo emulan la obra de Alejandro Dumas en relación a los tres mosqueteros con el Estrés Oxidativo, ANG-II e Hipertensión Arterial Sistémica.





**Figura 5.** Relación del Estrés Oxidativo incrementado, Inflamación y síntesis de AG-II para el desarrollo de Hipertensión secundaria a la retención de Sodio.

En estudios recientes se demuestra que el grupo de pacientes con tendencia a la hipotensión tienen mayor distensibilidad arterial, mayor cantidad de nitritos séricos y por lo tanto una mejoría en el control de la presión arterial. En relación al mejor control de la presión arterial proponen menor estado inflamatorio, menor estrés oxidativo y una tendencia a la vasodilatación por diversas sustancias vasoactivas como ON, BK y PGI<sub>2</sub>-E<sub>2</sub>. Si bien los estudios disponibles son escasos, un reciente análisis del 2008 por Filiopoulos y cols. demostró que la Hemodiafiltración con reinfusión postdilución durante un periodo de 9 meses francamente mejora el estrés oxidativo al disminuir los radicales libres de oxígeno e incrementa la capacidad antioxidante.<sup>40</sup> Existe información disponible al respecto del uso de acetato en la Hemodiálisis como causante del incremento en la síntesis de ON mediado por la mayor expresión de la sintasa de ON tipo 2, que secundariamente condiciona deterioro en la

contractilidad miocárdica e hipotensión transdiálisis, por lo que se recomienda el uso de solución dializante con Bicarbonato.<sup>40, 41, 42</sup>

En nuestra opinión, característicamente los grupos de estudio analizados se encuentran con importante hipervolemia y esto a su vez traduce un estado proinflamatorio, uremia y aterogénesis secundarios a infradiálisis muy probablemente, por lo cual el análisis tácito del nivel de ANG-II, ON y demás sustancias vasoactivas en los estudios actuales puede estar influenciado por las características de sustitución renal en múltiples aspectos. Además, no se conoce hasta el momento el comportamiento de la ANG-(1-7) en Hemodiálisis y mucho menos en Hemodiafiltración Crónica lo que motivo el presente estudio clínico.

## II. OBJETIVOS

### Primario.

- Determinar el nivel sérico de ANG-II, ANG 1-7, óxido nítrico y capacidad antioxidante (pre y postdiálisis) en pacientes en hemodiafiltración crónica.

### Secundario.

- Determinar si la cuantificación sérica de estos marcadores traducen un estado de sobrehidratación versus euvolemia en pacientes en hemodiafiltración crónica.

### **III. HIPÓTESIS**

#### Nula.

- No existen diferencias en el nivel sérico de ANG-II y ANG-(1-7), Óxido Nítrico y Estrés Oxidativo respecto al estado pre- y post-Hemodiafiltración.

#### Alterna.

- Existen diferencias en el nivel sérico de ANG-II y ANG-(1-7), Óxido Nítrico y Estrés Oxidativo respecto al estado pre- y post-hemodiafiltración

#### **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### Pacientes.

Se incluyeron un total de 20 pacientes ambulatorios del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez en la Cd. De México, D.F. Todos mayores de 16 años de edad. Del total de pacientes, 10 eran hombres y 10 mujeres, 6 de ellos contaban con acceso vascular temporal tipo catéter Niágara en cuello (*todos por vía yugular interna acceso posterior*), el resto de pacientes contaba con una Fístula Arteriovenosa Interna (FAVI) totalmente funcional en todos los casos. Se encontraban en sustitución renal con Hemodiafiltración 3 veces por semana de 3 a 4 hrs. cada sesión. Se les comunicó al respecto del protocolo de estudio y firmaron el consentimiento informado correspondiente. Posterior al ingreso a la Unidad de Hemodiafiltración se dejaba al paciente en reposo por un lapso 10 minutos en el reposit que le corresponde para el inicio de la sesión.

##### Protocolo de Hemodiafiltración.

En el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez se utilizan máquinas marca Fresenius modelo 4008H, reuso por 16 ocasiones de líneas de conexión y filtro de polisulfona F80A, heparina 4000-5000 UI totales para cada paciente en cada sesión, ultrafiltrado total según la ganancia interdialítica obtenida mediante la diferencia del peso seco estimado y el del ingreso a la unidad, los pacientes realizan ejercicio isovolumétrico con bicicleta estacionaria transdialisis, flujo sanguíneo efectivo superior a 400ml/min. (Qs), flujo del dializante de 500ml/min. (Qd), temperatura del dializado en 35.5°C, líquido

dializante con Calcio (Ca) 3.5mmol/L, Magnesio (Mg) 1 mEq/L, Potasio (K) 2mEq/L, glucosa 200mg/dL, Sodio (Na) 138 mEq/L lineal, Bicarbonato (HCO<sub>3</sub>) 35 mEq/L. Las máquinas cuentan con el dispositivo BVM (*De sus siglas en Inglés Blood-Volume-Monitor*) que registran el Volumen Sanguíneo Relativo y variaciones en el nivel de Hemoglobina durante la sesión de Hemodiafiltración, esto con la finalidad de ayudar en la definición de peso seco que a continuación se describe. Se realiza un registro de signos vitales (Presión Arterial, Frecuencia Cardiaca, Presión Arterial Media) c/15 minutos transdiálisis, así como registro de Presión Arterial prediálisis y postdiálisis ambas en bipedestación de cada paciente.

#### Muestras.

Una vez concluidos los 10 minutos de reposo de cada paciente, se procede con el protocolo de asepsia y antisepsia establecido en el plan operativo de la Unidad de Hemodiafiltración para la conexión a la máquina; dicho protocolo incluye el cebado del hemofiltro con 2000 UI de heparina, así como la aplicación de 2000 UI al inicio de la Hemodiafiltración y 1000 UI/hr. Al concluir un ciclo del paso de sangre a través de las líneas de conexión y el hemofiltro se procede con la obtención de 10 ml de sangre a través del puerto localizado en la línea arterial y la cual se vertía en un tubo de ensayo sin anticoagulante (*los tubos de ensayo contienen gel que preserva las características del contenido hemático para evitar hemólisis*), inmediatamente después se trasladaba la muestra en frío mediante la cobertura del tubo con bolsas de gel congelado hasta la centrífuga calibrada a 4°C, se colocaba la muestra sanguínea en la misma por un lapso de 10 min a 3500 revoluciones

por minuto para finalmente obtener el suero que se vertía en viales de 2ml. Una vez realizado este proceso se colocaba el vial en un congelador a -70°C para su posterior análisis. Al concluir la sesión de Hemodiafiltración, específicamente la ultrafiltración, se obtenía una muestra sanguínea de la línea venosa a través del puerto específico para ello y realizamos el mismo procesamiento de la muestra inicial.

El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Farmacología mediante la técnica de Electroforesis Capilar de Zona con Detección UV por arreglo de Diodos de Alta Sensibilidad que permite la detección simultánea de ambas Angiotensinas (*ANG-II* y *ANG-[1-7]*). El equipo utilizado al respecto es un DBDS Beckmann Coulter (*Figura 6*). La importancia de esta innovadora metodología es el ahorro de tiempo, material para el análisis y costos. La recuperación de los oligopéptidos con esta técnica oscila del 99-106.01% y la variabilidad es menor al 10. El procedimiento consiste en la separación de las diferentes moléculas por analizar que se logra con una solución compuesta de 100 mM de ácido bórico, 3 mM de ácido tartárico y 10 fM de cloruro de oro (III) a un pH de 9.8. Se aplica un voltaje de 30 kV y la temperatura del capilar se mantiene constante a 20°C con lo cual se corren los diferentes componentes moleculares séricos por analizar y mediante un sistema computarizado se obtiene el espectro de moléculas analizables (*Electroferograma*), en este caso Angiotensinas .<sup>43</sup>



**Figura 6.** Equipo Beckman-Coulter utilizado para realizar la determinación simultánea de ANG-II y ANG-(1-7) en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

---

Definiciones.

1. PESO SECO. Se define como al estado de normotensión pre, trans y postdiálisis, en ausencia de edemas y sin episodios de hipotensión transdiálisis.
2. BIOIMPEDANCIA. Es definida como la oposición de un conductor biológico al paso de una corriente eléctrica de tipo alterna. El análisis de la impedancia estudia el comportamiento de la corriente eléctrica cuando atraviesa fluidos, células y tejidos del cuerpo humano. Estudios recientes apoyan la posibilidad de su uso para la evaluación del estado hídrico corporal total.<sup>44</sup> La técnica utilizada en el Instituto es la Bioimpedancia segmentaria en el miembro pélvico mediante 4 electrodos colocados de forma lineal con una distancia de 5 a 10 cm entre cada uno de ellos. Se realiza la medición del diámetro mayor de la pantorrilla donde se coloca un electrodo que corresponde al 2° en orden descendente, después se mide el diámetro menor de la extremidad



donde se coloca el 3er electrodo, finalmente se colocan el primero y cuarto electrodos que se conectan a un transductor que registra la resistividad postultrafiltración.

3. DELTA DE HEMOGLOBINA ( $\Delta\text{Hb}$ ). Es la diferencia que existe entre la Hemoglobina mínima registrada con el dispositivo BVM durante la sesión de Hemodiafiltración y la máxima Hemoglobina registrada. La diferencia obtenida guarda una relación estrecha con la cantidad de líquido ultrafiltrado, a saber, la relación es de incremento de 1 gr/dL de Hemoglobina por cada Litro ultrafiltrado. Esta relación nos apoya la existencia de peso seco en pacientes con Hemodiafiltración Crónica.<sup>45, 46</sup>
4. GRUPOS. El estudio se enfoca en el análisis cuantitativo de ANG-(1-7), ANG-II, Capacidad Antioxidante y Oxido Nítrico pre y postHemodiafiltración; sin embargo, como parte del subanálisis en base al estado de volumen se dividió a la población de estudio en 2 grupos, denominados **Grupo 1** a los pacientes sobrehidratados y **Grupo 2** a los pacientes con euvolemia. Para dicha distribución por grupos se utilizó la definición de peso seco, delta de Hemoglobina y Bioimpedancia.

#### Análisis Estadístico.

Estudio transversal, abierto. Se utilizaron medias y desviación estándar para variables de distribución normal, prueba t de Student y la significancia estadística se consideró menor a 0.05.

## V. RESULTADOS

La relación Hombre:Mujer fue de 1:1 en este grupo de estudio. La edad promedio fue de 51 años, el peso prediálisis promedio fue de 65.4kg y postdiálisis de 63kg, los datos preHemodiafiltración promedio fueron los siguientes: presión arterial sistólica (TASpre) de 118 mm de Hg, presión diastólica (TADpre) de 62.3 mm de Hg, presión arterial media (TAMpre) 77.9 mm de Hg, frecuencia cardiaca (FCpre) 82 latidos por minuto; los datos postHemodiafiltración fueron: TASpost 122 mm de Hg, TADpost 66.1 mm de Hg, TAMpost 81.7 mm de Hg, FCpost 89.3 latidos por minuto.

El promedio de ultrafiltrado total fue de 2544ml, el tiempo efectivo promedio de Hemodiafiltración fue de 196 minutos, el  $\Delta$ Hb fue de 1.82 y el índice de resistividad (Bioimpedancia) fue de 0.18.

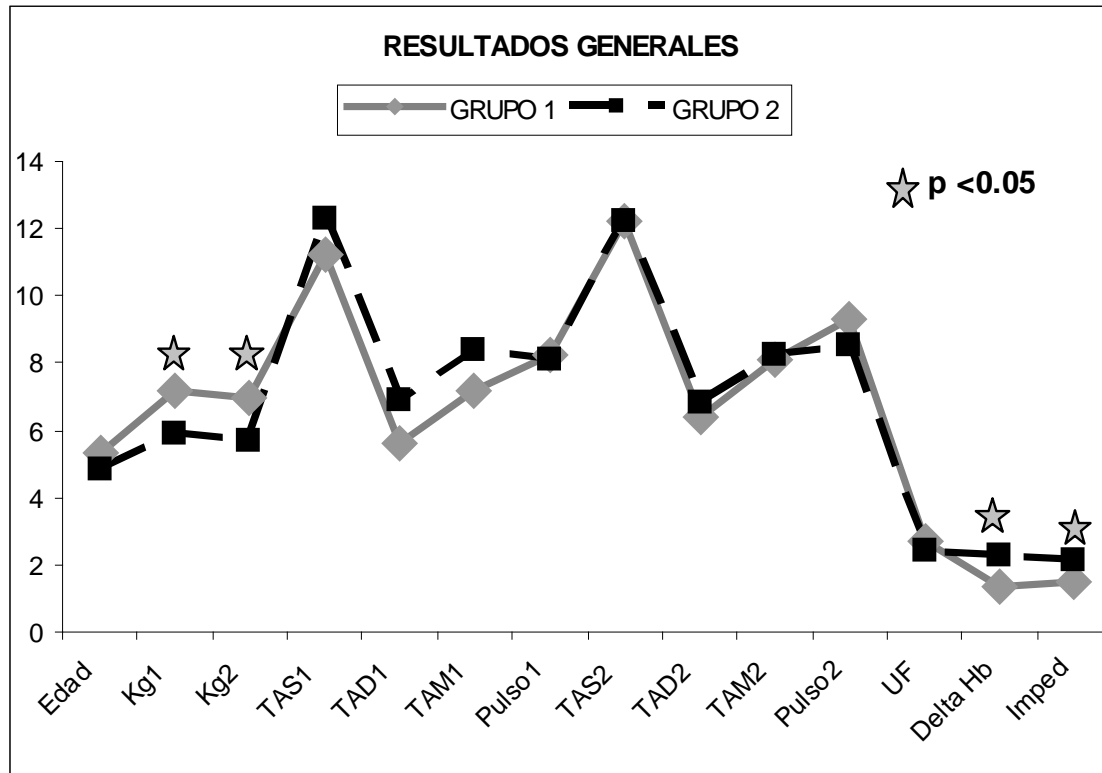
En base a los resultados promedio de presión arterial (118/62.3 mm de Hg), bioimpedancia (0.18) y Delta de Hemoglobina ( $\Delta$ Hb, 1.82 contra un UF de 2.544 que traduce un índice de 0.71) podemos decir que todos los pacientes se encuentran en peso seco puesto que se encuentran como grupo total normotensos preHDF, así como el Delta de Hemoglobina ( $\Delta$ Hb) y el índice de resistividad coinciden. Resumen de resultados en la *Tabla 1*.

Nombre	Sexo	Grupo	AV	Edad	Kg1	Kg2	TAS1	TAD1	TAM1	Pulso1	TAS2	TAD2	TAM2	Pulso2	UF	Delta Hb	Imped
IN	M	1	FAV	78	66.1	64.3	124	57	80	54	91	46	57	67	1999	0.5	0.126
ILT	M	1	Cat.	38	73.6	70.7	112	68	73	94	110	82	88	96	3300	1.1	0.2
JM	M	1	FAV	66	74.5	71.7	88	39	61	66	130	54	75	68	2903	1.5	0.13
GA	M	1	Cat.	68	61.2	60	115	52	73	71	145	99	112	84	1000	0.7	0.09
RC	M	1	FAV	57	88.6	85.2	124	64	77	112	136	56	85	123	3450	2	0.163
FA	M	1	FAV	45	78.9	75.9	141	73	88	100	143	79	92	114	3100	1.3	0.15
AA	F	1	Cat.	51	53.7	52	92	43	61	70	82	46	52	65	1468	1.3	0.174
EM	F	1	FAV	32	68.9	64.4	93	50	61	64	126	54	76	66	4458	2	0.17
PM	F	1	FAV	57	74.4	72	119	63	79	85	117	72	85	121	2600	2	0.145
IL	M	1	FAV	42	80.3	77.7	115	49	67	111	137	54	86	130	2718	1	0.134
TR	F	2	Cat.	54	41.1	39.4	138	86	91	84	126	80	91	85	1883	2.4	0.218
GP	M	2	FAV	67	77.8	74.5	126	72	96	71	126	69	81	93	3466	2.9	0.235
SR	F	2	FAV	51	57.6	55.7	114	63	72	88	112	61	78	82	1800	1.8	0.179
MC	F	2	Cat.	17	39.2	35.9	134	76	84	89	124	70	84	86	3695	2.8	0.198
FB	M	2	FAV	70	55.4	54.6	92	62	69	80	128	76	92	84	1400	1.4	0.185
SC	F	2	Cat.	18	55.4	53.4	136	84	94	76	128	68	78	77	2439	2.1	0.22
MS	F	2	FAV	48	77.9	75.2	136	64	95	79	121	62	77	80	2901	2.7	0.213
AC	F	2	FAV	63	63.6	62.6	116	55	77	81	114	59	75	96	1500	1.5	0.194
KM	F	2	FAV	37	43.5	41.8	104	48	67	87	120	60	81	89	1800	2.7	0.232
SO	M	2	FAV	58	76.3	73.5	135	78	92	78	125	74	88	79	3000	2.7	0.189
<b>Prom</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>51</b>	<b>65.4</b>	<b>63</b>	<b>118</b>	<b>62.3</b>	<b>77.9</b>	<b>82</b>	<b>122</b>	<b>66.1</b>	<b>81.7</b>	<b>89.3</b>	<b>2544</b>	<b>1.82</b>	<b>0.18</b>

**Tabla 1. Nomenclatura**

M = Masculino, F = Femenino, AV = Acceso Vascular; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 1 = Valores preHDF; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 2 = Valores postHDF; Imped = Bioimpedancia; Prom = Promedio; NA = No Aplica.

Tras el análisis por grupos se encontró una gran similitud entre los grupos tal como se muestra en la *Gráfica 1*.

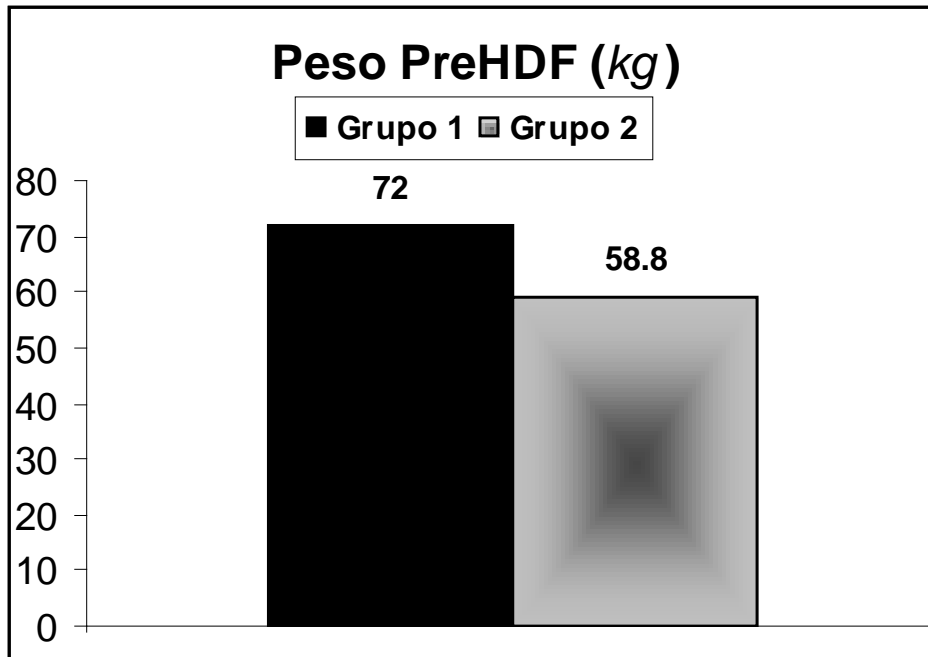


**Gráfica 1.** Resultados Generales. Análisis por Grupos

Nótese la gran similitud entre los grupos a excepción de los datos señalados con una estrella que demuestran significancia estadística entre el Grupo 1 vs Grupo 2.

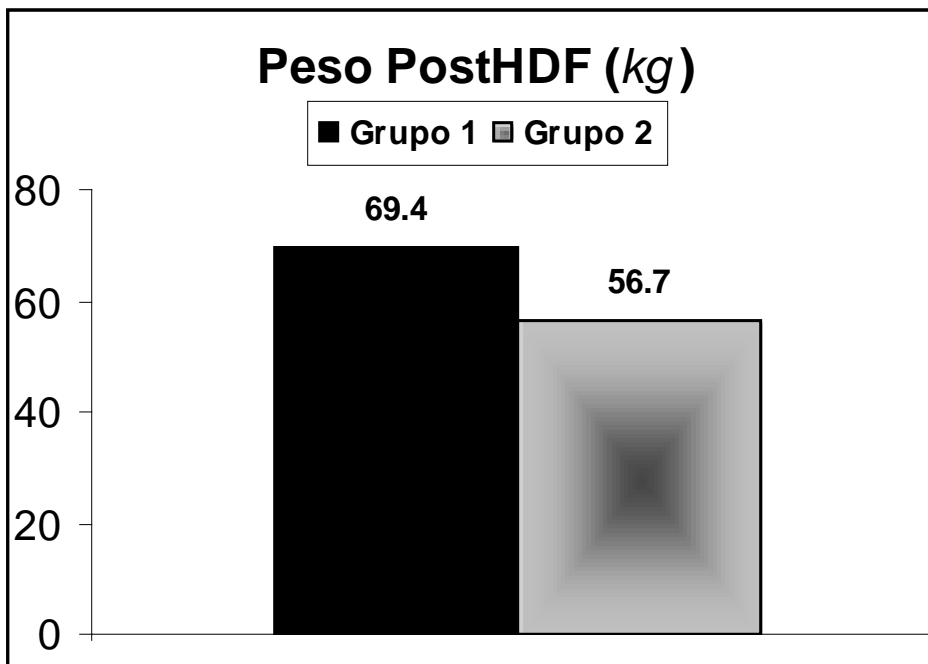
- Resultados estadísticamente significativos:
  - Peso preHDF (Kg 1) 72 vs 58.8 (Grupo 1 vs 2)
  - Peso postHDF (Kg 2) 69.4 vs 56.7 (Grupo 1 vs 2)
  - Delta de Hemoglobina (Delta Hb), 1.34 vs 2.3 (Grupo 1 vs 2)
  - Bioimpedancia (Imped) 0.15 vs 0.21 (Grupo 1 vs 2)

Las *Gráficas 2, 3, 4 y 5* muestran los resultados estadísticamente significativos al comparar el Grupo 1 (Hipervolémicos) contra el Grupo 2 (Euvolémicos).



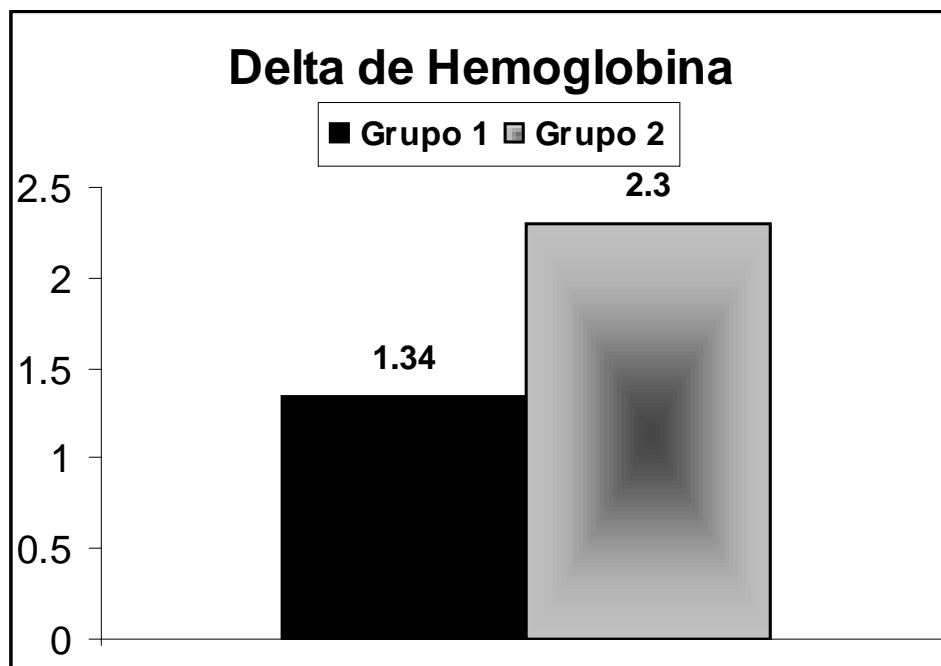
**Gráfica 2.** Peso preHDF.  $p < 0.05$ , grupo 1 vs 2

---



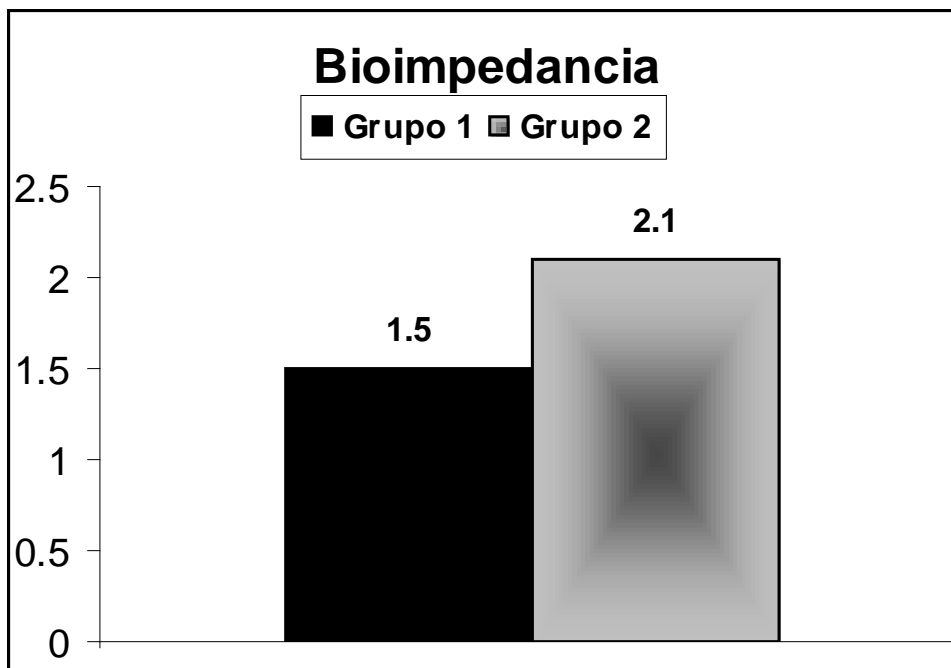
**Gráfica 3.** Peso postHDF.  $p < 0.05$ , grupo 1 vs 2

---



**Gráfica 4.** Delta de Hemoglobina.  $p < 0.05$ , grupo 1 vs 2

---



**Gráfica 5.** Bioimpedancia.  $p < 0.05$ , grupo 1 vs 2

---

En las siguientes *Tablas 2 y 3*, se muestran los resultados promedios de cada grupo. Es de llamar la atención nuevamente que la presión arterial prediálisis y postdiálisis no hacen la diferenciación entre los grupos, por lo que la distribución se basó en el resultado del Delta de Hemoglobina y la Bioimpedancia que si mostraron diferencia estadística significativa.

Nombre	Sexo	Grupo	AV	Edad	Kg1	Kg2	TAS1	TAD1	TAM1	Pulso1	TAS2	TAD2	TAM2	Pulso2	UF	Delta Hb	Imped
IN	M	1	FAV	78	66.1	64.3	124	57	80	54	91	46	57	67	1999	0.5	0.126
ILT	M	1	Cat.	38	73.6	70.7	112	68	73	94	110	82	88	96	3300	1.1	0.2
JM	M	1	FAV	66	74.5	71.7	88	39	61	66	130	54	75	68	2903	1.5	0.13
GA	M	1	Cat.	68	61.2	60	115	52	73	71	145	99	112	84	1000	0.7	0.09
RC	M	1	FAV	57	88.6	85.2	124	64	77	112	136	56	85	123	3450	2	0.163
FA	M	1	FAV	45	78.9	75.9	141	73	88	100	143	79	92	114	3100	1.3	0.15
AA	F	1	Cat.	51	53.7	52	92	43	61	70	82	46	52	65	1468	1.3	0.174
EM	F	1	FAV	32	68.9	64.4	93	50	61	64	126	54	76	66	4458	2	0.17
PM	F	1	FAV	57	74.4	72	119	63	79	85	117	72	85	121	2600	2	0.145
IL	M	1	FAV	42	80.3	77.7	115	49	67	111	137	54	86	130	2718	1	0.134
<b>Gpo. 1</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>53</b>	<b>72</b>	<b>69.4</b>	<b>112</b>	<b>55.8</b>	<b>72</b>	<b>82.7</b>	<b>122</b>	<b>64.2</b>	<b>80.8</b>	<b>93.4</b>	<b>2700</b>	<b>1.34</b>	<b>0.15</b>

**Tabla 2.** Promedios del Grupo 1, Sobrehidratados.

**Nomenclatura.** AV = Acceso Vascular; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 1 = Valores preHDF; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 2 = Valores postHDF; Imped = Bioimpedancia; Prom = Promedio; NA = No Aplica.

Nombre	Sexo	Grupo	AV	Edad	Kg 1	Kg2	TAS1	TAD1	TAM1	Pulso1	TAS2	TAD2	TAM2	Pulso2	UF	Delta Hb	Imped
TR	F	2	Cat.	54	41.1	39.4	138	86	91	84	126	80	91	85	1883	2.4	0.218
GP	M	2	FAV	67	77.8	74.5	126	72	96	71	126	69	81	93	3466	2.9	0.235
SR	F	2	FAV	51	57.6	55.7	114	63	72	88	112	61	78	82	1800	1.8	0.179
MC	F	2	Cat.	17	39.2	35.9	134	76	84	89	124	70	84	86	3695	2.8	0.198
FB	M	2	FAV	70	55.4	54.6	92	62	69	80	128	76	92	84	1400	1.4	0.185
SC	F	2	Cat.	18	55.4	53.4	136	84	94	76	128	68	78	77	2439	2.1	0.22
MS	F	2	FAV	48	77.9	75.2	136	64	95	79	121	62	77	80	2901	2.7	0.213
AC	F	2	FAV	63	63.6	62.6	116	55	77	81	114	59	75	96	1500	1.5	0.194
KM	F	2	FAV	37	43.5	41.8	104	48	67	87	120	60	81	89	1800	2.7	0.232
SO	M	2	FAV	58	76.3	73.5	135	78	92	78	125	74	88	79	3000	2.7	0.189
<b>Gpo. 2</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>48</b>	<b>58.8</b>	<b>56.7</b>	<b>123</b>	<b>68.8</b>	<b>83.7</b>	<b>81.3</b>	<b>122</b>	<b>67.9</b>	<b>82.5</b>	<b>85.1</b>	<b>2388</b>	<b>2.3</b>	<b>0.21</b>

**Tabla 3.** Promedios del Grupo 2, Euvolémicos.

**Nomenclatura.** AV = Acceso Vascular; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 1 = Valores preHDF; Kg, TAS, TAD, TAM y Pulso 2 = Valores postHDF; Imped = Bioimpedancia; Prom = Promedio; NA = No Aplica.

Los resultados séricos pre y postHDF al respecto de la Capacidad Antioxidante Total, Óxido Nítrico, ANG-II y ANG-(1-7) se muestran en las siguientes *Tabla 4 y 5*.

Gpo.	INIC.	Sexo	PRE	POST	PRE	POST
			Capacidad Antioxidante Total (μmoles/L)	Capacidad Antioxidante Total (μmoles/L)	Óxido Nítrico (pmoles/mL)	Óxido Nítrico (pmoles/mL)
1	EM	M	459.57	345.07	0.00	0.00
1	GA	M	278.31	233.64	0.00	0.00
1	FA	M	169.97	397.95	4.67	4.90
1	ILT	M	60.59	67.27	0.58	0.70
1	RC	M	67.78	79.08	13.65	15.22
1	IN	M	218.75	388.71	3.60	3.69
1	AA	F	148.40	57.00	0.00	0.00
1	PM	F	703.48	758.43	3.84	4.67
1	JM	F	392.82	631.08	14.09	15.31
1	IL	M	107.32	117.08	8.39	9.68
2	SC	F	450.33	727.10	4.31	4.43
2	TR	M	563.81	643.40	9.39	10.01
2	MC	F	138.64	139.67	21.26	22.56
2	SO	F	402.06	497.57	9.45	9.56
2	KM	M	810.80	812.34	15.22	15.34
2	AC	F	635.19	637.24	4.15	4.99
2	GP	F	718.37	843.15	5.25	5.30
2	MS	F	44.67	125.81	0.94	1.74
2	FB	F	251.61	307.07	9.81	9.92
2	SR	M	519.14	531.98	4.57	5.92

**Tabla 4.** Resultados séricos. División por grupos, análisis pre y postHDF

Gpo.	INIC.	Sexo	PRE	POST	PRE	POST	Delta AG-(1-7)
			AG-II (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	
1	EM	M	0.64	0.37	0.00	0.00	0.00
1	GA	M	0.52	0.14	0.00	0.00	0.00
1	FA	M	1.09	0.94	0.24	0.25	0.01
1	ILT	M	1.17	0.58	1.49	1.51	0.02
1	RC	M	0.98	0.85	0.04	0.09	0.04
1	IN	M	0.17	0.14	0.99	1.05	0.06
1	AA	F	0.49	0.34	0.00	0.00	0.00
1	PM	F	1.64	1.00	0.02	0.04	0.02
1	JM	F	1.10	1.06	2.49	2.52	0.02
1	IL	M	1.44	1.01	0.93	1.00	0.07
2	SC	F	0.66	0.54	1.60	1.67	0.07
2	TR	M	0.64	0.40	0.03	0.10	0.08
2	MC	F	0.35	0.18	0.75	1.00	0.25
2	SO	F	0.82	0.47	0.04	0.15	0.11
2	KM	M	0.82	0.71	0.10	0.12	0.02
2	AC	F	0.39	0.33	0.18	0.21	0.04
2	GP	F	0.78	0.26	0.02	0.15	0.13
2	MS	F	0.33	0.35	0.53	0.67	0.14
2	FB	F	0.83	0.32	0.68	0.83	0.15
2	SR	M	0.93	0.71	1.04	1.36	0.32

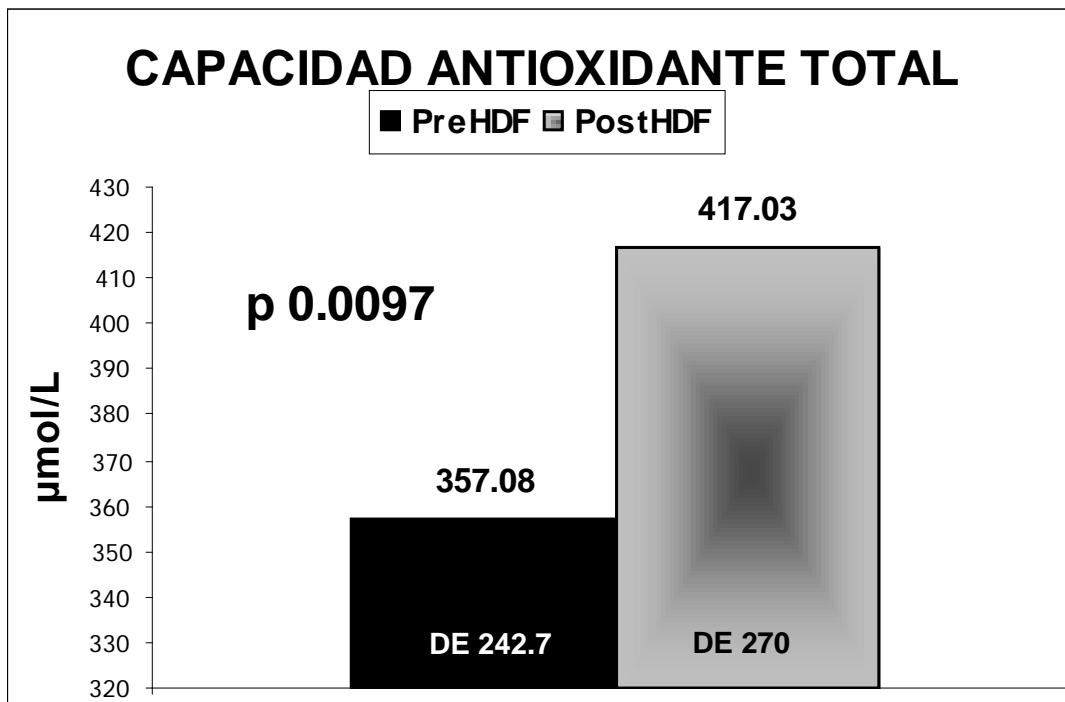
**Tabla 5.** Resultados séricos. División por grupos, análisis pre y postHDF



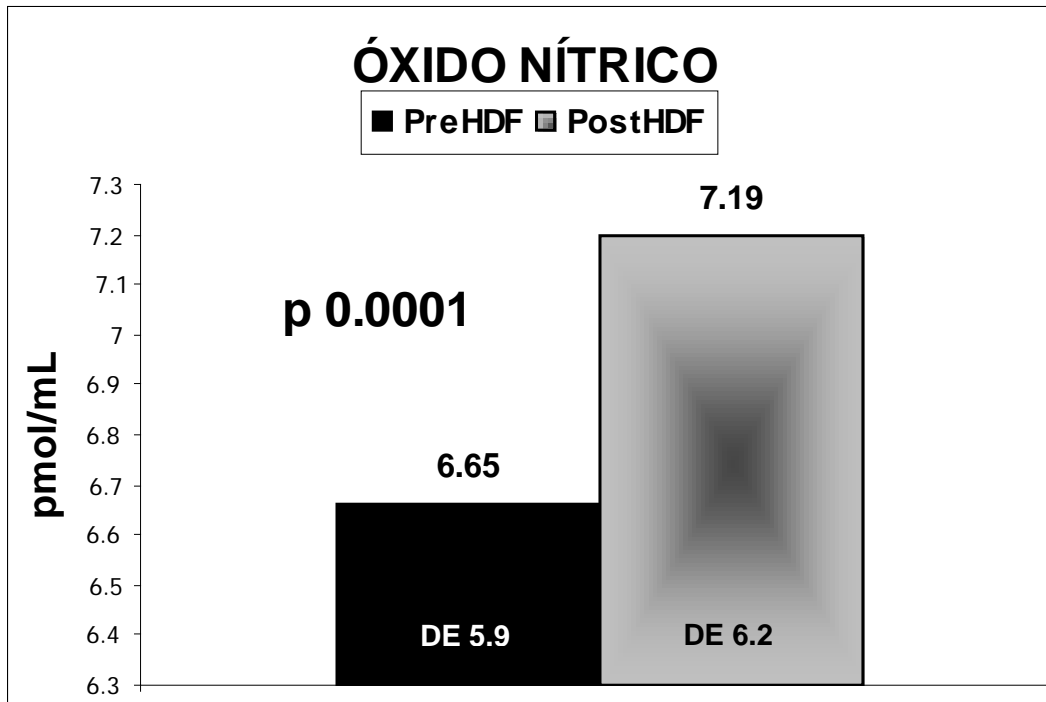
De las tablas anteriores se desprenden los resultados en relación al promedio según el estado pre y postHDF en la siguiente *Tabla 6*. Nótese que las 4 variables analizables (Capacidad Antioxidante Total, ON, ANG-II y ANG-(1-7) fueron estadísticamente significativas en relación al estado pre y postHDF. Las *Gráficas 6, 7, 8 y 9* muestran de manera más apreciable esta significancia estadística.

Análisis Estadístico	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	Delta AG-(1-7)
	CAT (μmoles/L)	CAT (μmoles/L)	ON (pmoles/mL)	ON (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	
Promedio	357.08	417.03	6.65	7.19	0.79	0.53	0.55	0.63	0.07
DE	242.74	270.06	5.9	6.19	0.37	0.3	0.69	0.71	0.08
p pre vs post		0.009		0.00018		7.59 <sup>06</sup>		0.0003	
p 2 colas		0.019		0.00035		1.51 <sup>05</sup>		0.0006	

**Tabla 6.** Resultados séricos. Análisis de resultados pre y postHDF. Grupo total de 20 pacientes.

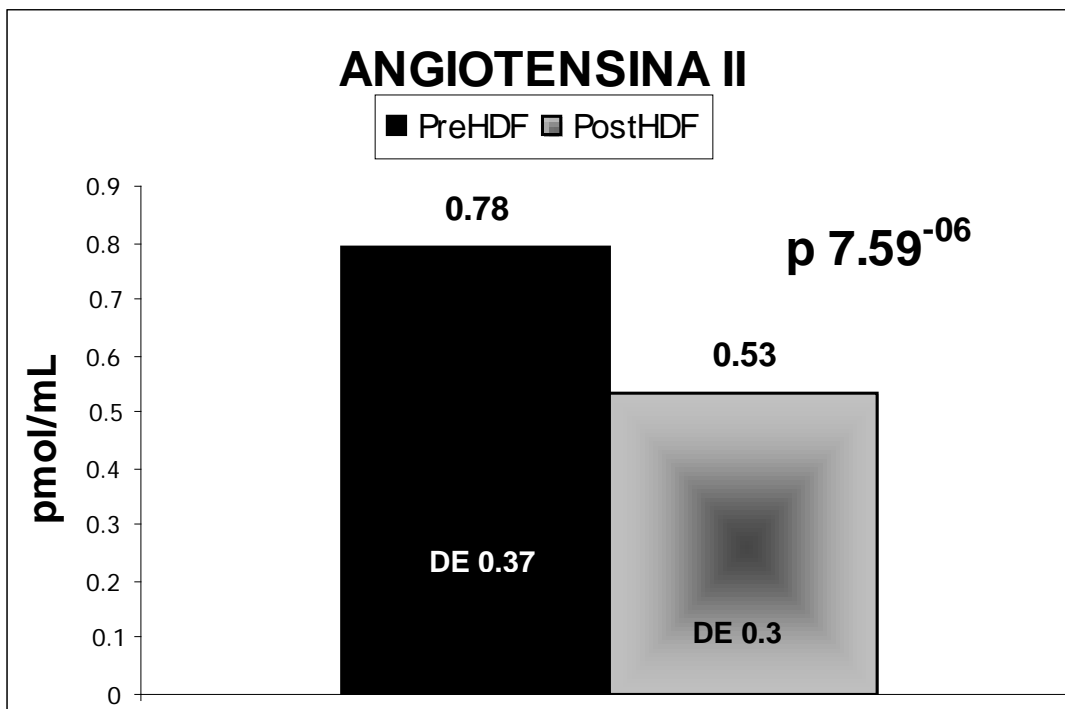


**Gráfica 6.** Resultados séricos de la Capacidad Antioxidante Total. Análisis de resultados por estado pre y postHDF. Estadísticamente significativos. DE = Desviación Estándar



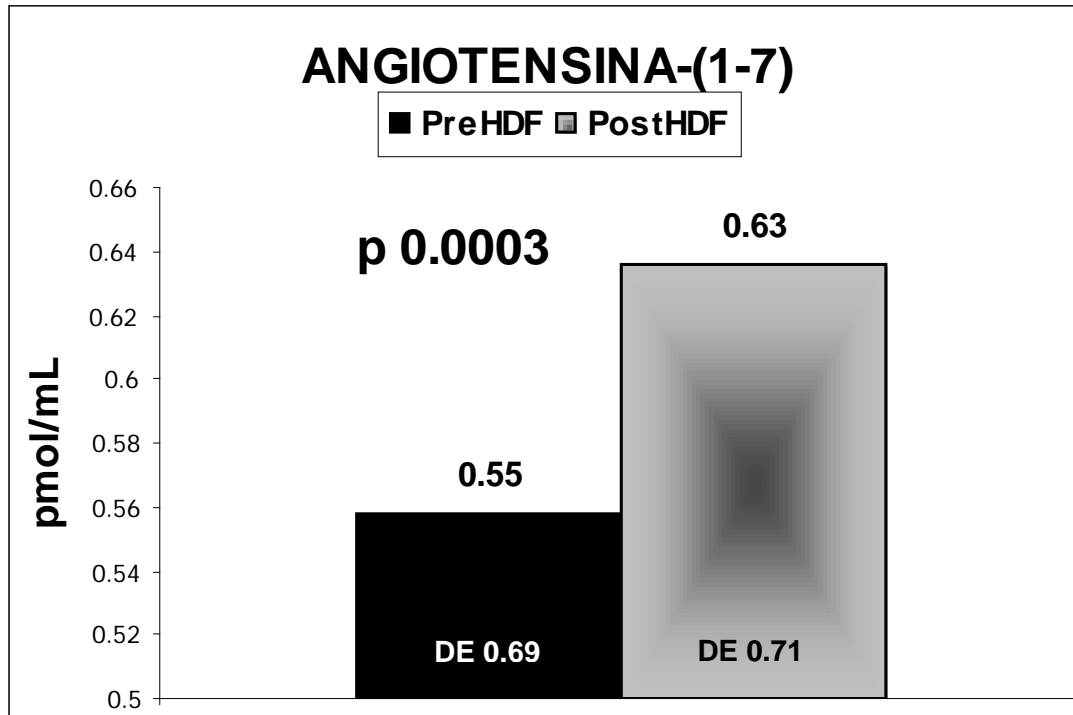
**Gráfica 7.** Resultados séricos del Óxido Nítrico.  
Análisis de resultados por estado pre y postHDF.  
*Estadísticamente significativos.* DE = Desviación Estándar

---



**Gráfica 8.** Resultados séricos de ANG-II.  
Análisis de resultados por estado pre y postHDF.  
*Estadísticamente significativos.* DE = Desviación Estándar

---

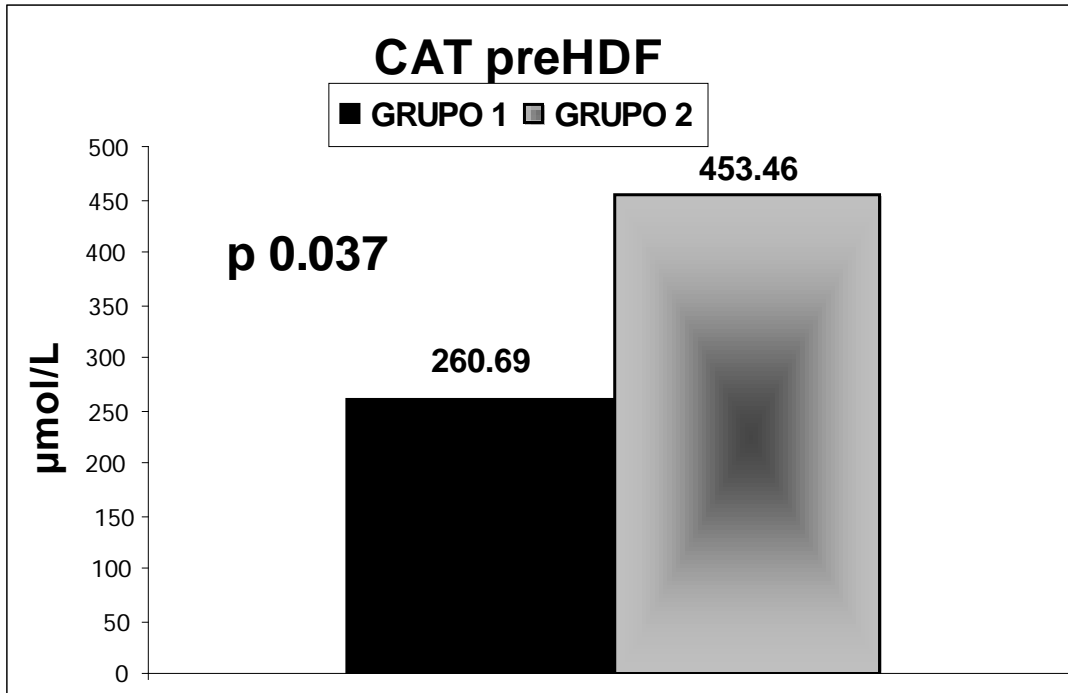


**Gráfica 9.** Resultados séricos de ANG-(1-7).  
Análisis de resultados por estado pre y postHDF.  
Estadísticamente significativos. DE = Desviación Estándar

El análisis por grupos muestra significancia estadística solamente en relación a la Capacidad Antioxidante Total y el Delta de ANG-(1-7), tal como se observa en la *Tabla 7*, y se observa más claramente en las *Gráficas 10, 11 y 12*.

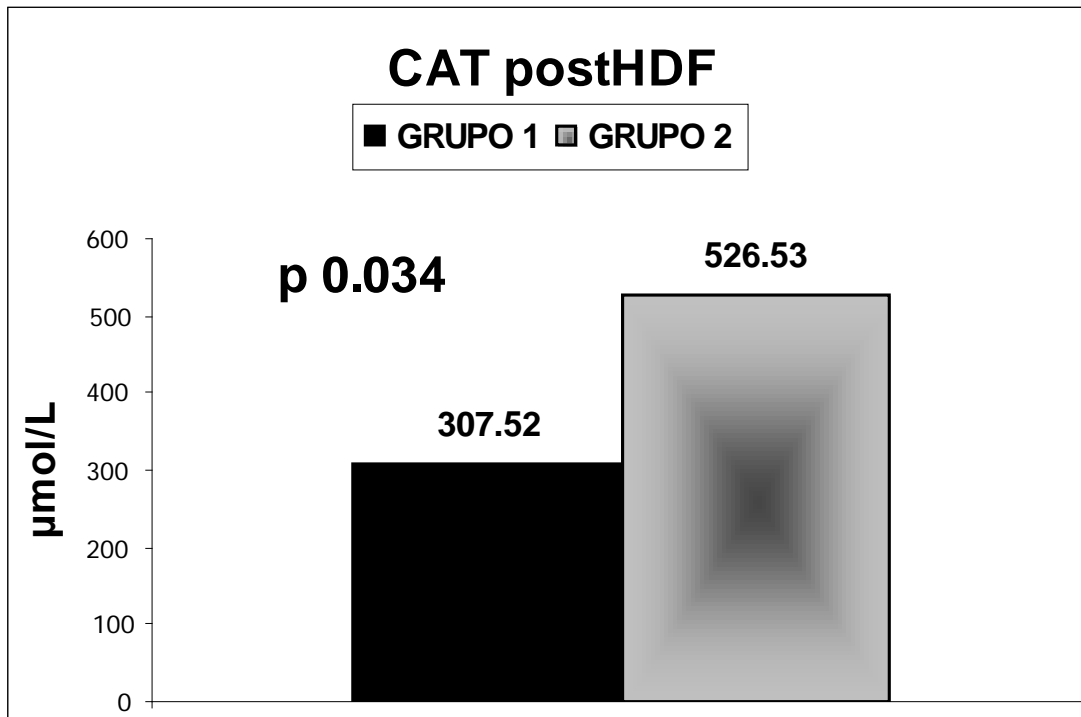
Análisis Estadístico	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	Delta AG-(1-7)
	CAT (μmoles/L)	CAT (μmoles/L)	ON (pmoles/mL)	ON (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	
grupo 1	260.7	307.5	4.88	5.41	0.92	0.64	0.62	0.64	0.025
grupo 2	453.46	526.53	8.43	9.97	0.65	0.42	0.49	0.62	0.13
p 1 vs 2	0.03	0.03	0.09	0.1	0.056	0.056	0.35	0.47	0.001

**Tabla 7.** Resultados séricos. Análisis de resultados por grupos.



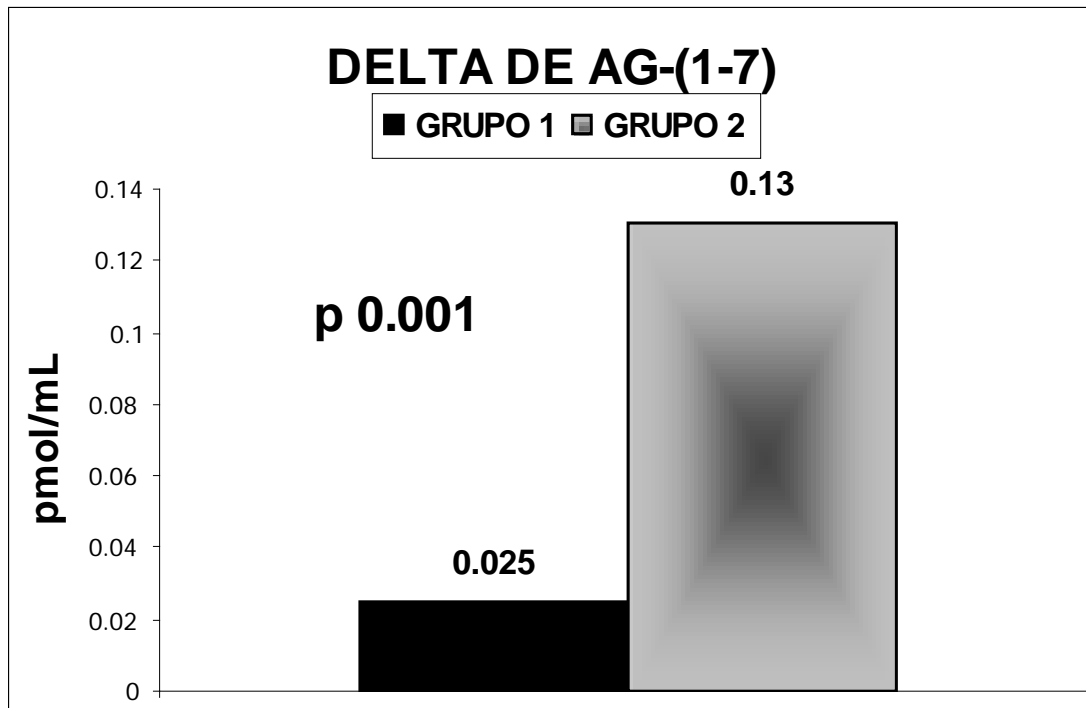
**Gráfica 10.** Resultados séricos de la Capacidad Antioxidante Total preHDF. Análisis de resultados por grupos. *Estadísticamente significativos.*

---



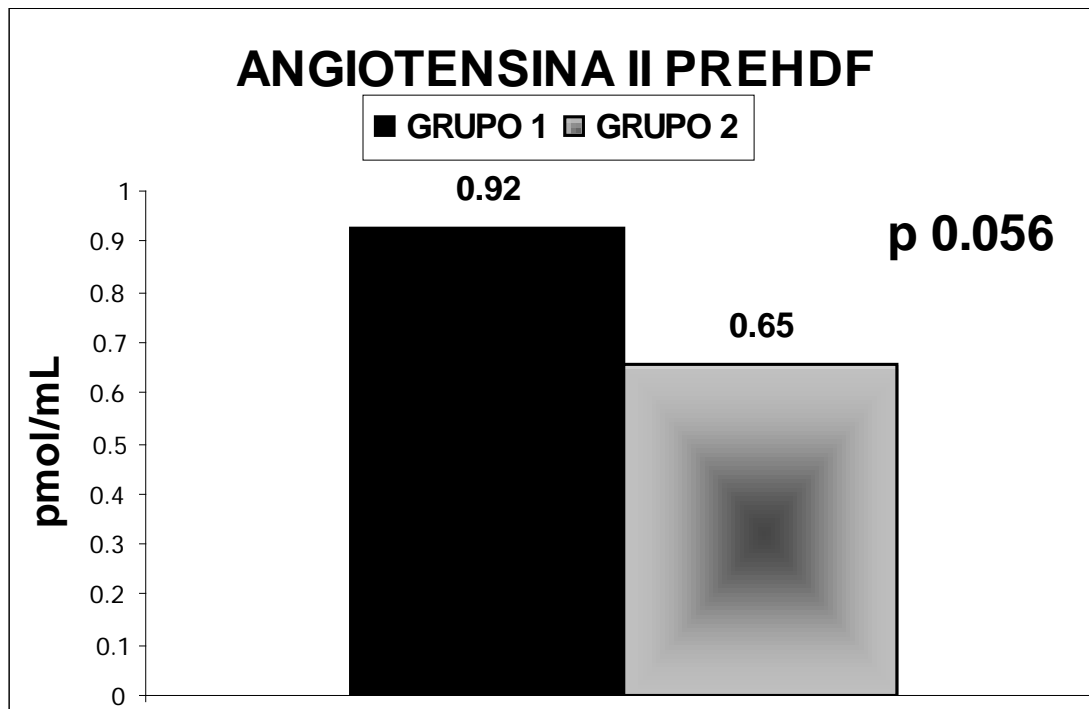
**Gráfica 11.** Resultados séricos de la Capacidad Antioxidante Total postHDF. Análisis de resultados por grupos. *Estadísticamente significativos.*

---

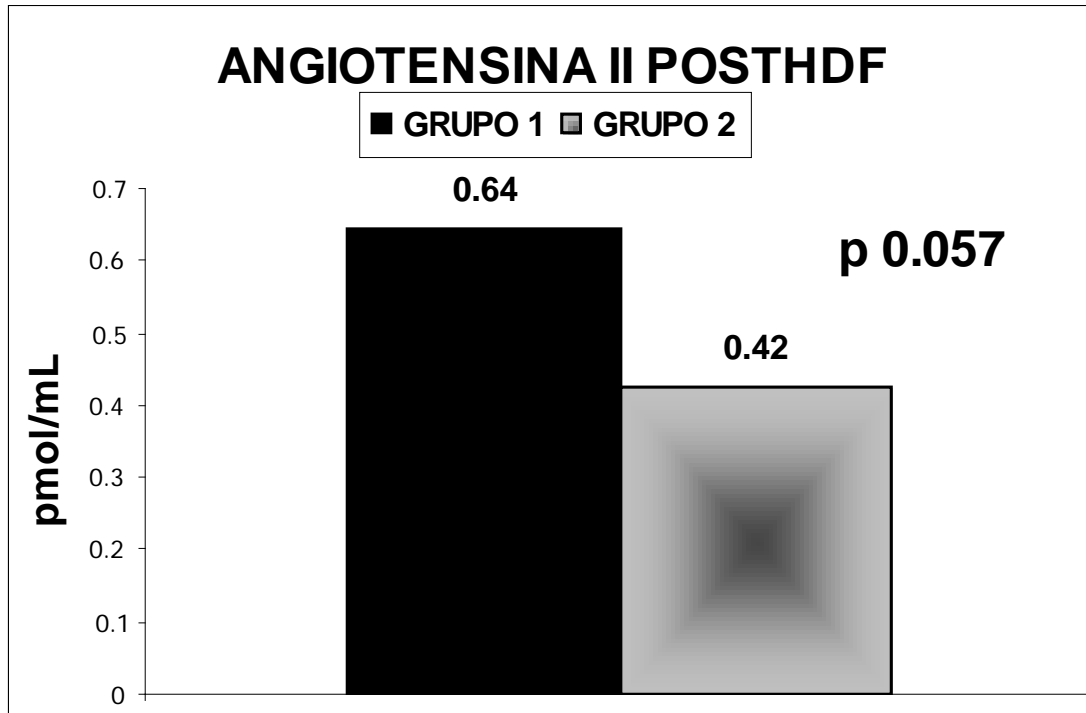


**Gráfica 12.** Resultados séricos de Delta de ANG-(1-7).  
Análisis de resultados por grupos. **Estadísticamente significativos.**

El análisis por grupos respecto al nivel de AG-II pre y postHDF resultaron cercanos a la significancia estadística tal como se muestra en las Gráficas 13 y 14.



**Gráfica 13.** Resultados séricos de ANG-II preHDF.  
Análisis de resultados por grupos. **Estadísticamente "NO" significativos.**



**Gráfica 14.** Resultados séricos de ANG-II postHDF. Análisis de resultados por grupos. **Estadísticamente "NO" significativos.**

Dada la referencia al respecto de variación en los niveles de Angiotensinas en relación al género se hizo el análisis respectivo en el presente trabajo sin mostrar significancia estadística alguna como se muestra en las *Tabla 8* y *9*.

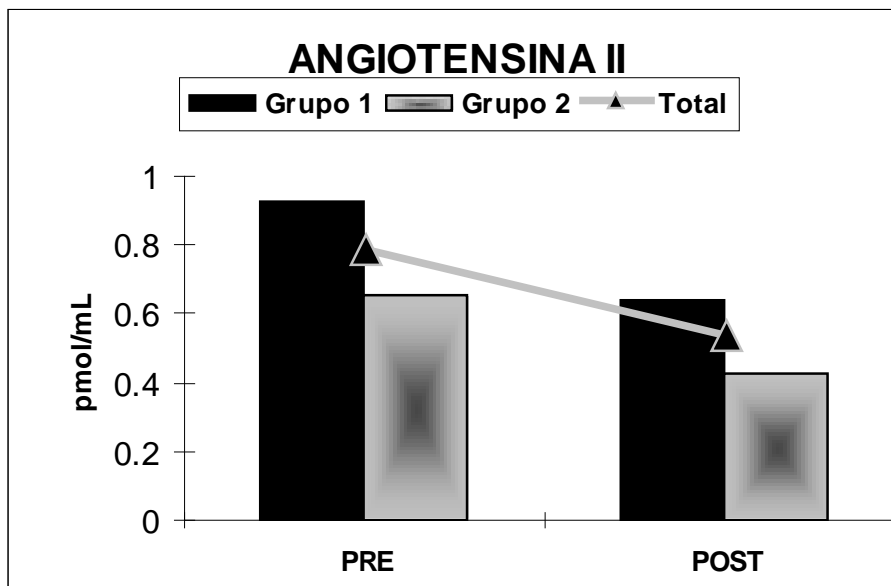
	Sexo	PRE	POST	PRE	POST
		Capacidad Antioxidante Total (µmoles/L)	Capacidad Antioxidante Total (µmoles/L)	Óxido Nítrico (pmoles/mL)	Óxido Nítrico (pmoles/mL)
Promedio por Género	M	325.60	361.65	6.01	6.55
	F	388.56	472.41	7.31	7.85
DE por Género	M	251.62	248.68	5.50	5.83
	F	242.66	292.09	6.50	6.79
<b>p M vs F</b>		<b>0.29</b>	<b>0.19</b>	<b>0.32</b>	<b>0.33</b>

**Tabla 8.** Resultados séricos. Análisis por Género.

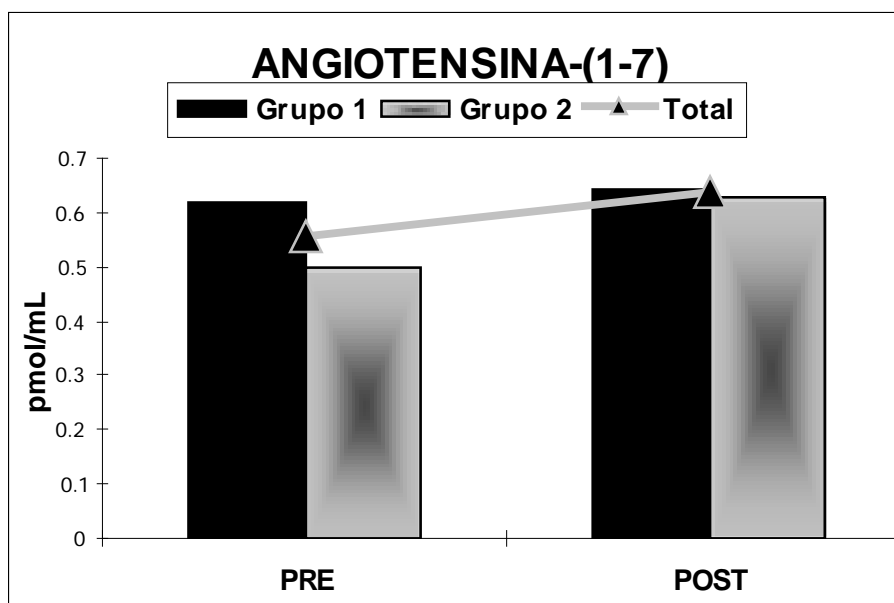
	Sexo	PRE	POST	PRE	POST	Delta AG-(1-7)
		AG-II (pmoles/mL)	AG-II (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	AG-(1-7) (pmoles/mL)	
Promedio por Género	M	0.84	0.58	0.49	0.55	0.06
	F	0.74	0.49	0.63	0.72	0.09
DE por Género	M	0.36	0.31	0.56	0.61	0.09
	F	0.40	0.30	0.83	0.82	0.08
<b>p M vs F</b>		<b>0.28</b>	<b>0.23</b>	<b>0.32</b>	<b>0.29</b>	<b>0.21</b>

**Tabla 9.** Resultados séricos. Análisis por Género.

Como se observó en las Gráficas y Tablas previas, al realizar el análisis por grupo no hubo diferencia estadística significativa en relación a los niveles de ANG-II y ANG-(1-7) por lo cual podemos decir que al menos en el presente trabajo no son de utilidad para evaluar el estado de volumen. Sin embargo; la tendencia tanto por grupos como de forma global en los 20 pacientes es hacia la disminución de ANG-II, incremento de ANG-(1-7) y ON, así como incremento en la Capacidad Antioxidante Total. Esto se puede observar de forma más clara en las Gráficas 15, 16, 17 y 18.



**Gráfica 15.** Resultados séricos de ANG-II.  
Análisis de resultados general y por grupos.



**Gráfica 16.** Resultados séricos de ANG-(1-7).  
Análisis de resultados general y por grupos.





## VI. DISCUSIÓN

El presente estudio nos permite dilucidar de una forma más clara la homeostasis cardiovascular y su relación con el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona en Hemodiafiltración crónica, se conoce por los resultados divergentes observados en la literatura actual, que existe un incremento de Angiotensina-II y mayor Estrés Oxidativo que ocurre en los pacientes con sustitución renal mediante Hemodiálisis o Hemodiafiltración; este incremento, sobre todo de Angiotensina-II, traduce un descontrol hipertensivo que se observa en todos los estudios publicados al momento y esto a su vez impacta en la morbi-mortalidad cardiovascular. Es por ello que lograr el peso seco óptimo a la brevedad posible es el punto cardinal en todas las unidades de sustitución renal con los fines de una apropiada terapia extracorpórea.

En nuestro estudio se pudo observar característicamente que el grupo total de pacientes se encuentra normotenso pre y postHemodiafiltración, lo que traduce muy probablemente que de forma global se encuentran todos muy cercanos al peso seco y por ende los resultados al realizar la división por grupos son semejantes, es decir: *Existe un incremento de la acción vasodilatadora neurohumoral a expensas de la disminución en el nivel sérico de Angiotensina-II e incremento concomitante de Angiotensina-(1-7) y Óxido Nítrico.*

En efecto, el estado pre y postHDF difiere en relación a la mejoría o tendencia vasodilatadora, esto confirma nuestra teoría al respecto de que la Hemodiafiltración es un método de sustitución renal que provee de mayor estabilidad hemodinámica en los pacientes. Podríamos pensar en la posibilidad de que la tendencia vasodilatadora puede condicionar mayor frecuencia de episodios de hipotensión en los pacientes, sin embargo, lo observado en nuestra población es una estabilidad hemodinámica transdiálisis muy apropiada y que fisiológicamente se puede explicar muy probablemente por la síntesis de Óxido Nítrico Constitutivo, ya que el Óxido Nítrico producido por la Sintasa Inducible es el principal actor en la hipotensión transdiálisis observada en los estudios disponibles en la actualidad, sin embargo, habría que realizar estudios más precisos al respecto de esta aseveración.

Otra situación de suma relevancia es el incremento marcado de los niveles séricos de Angiotensina-(1-7) que pueden ser explicados por el incremento en la Capacidad Antioxidante Total que favorece la síntesis endotelial de dicha Angiotensina, esta a su vez funciona como antagonista de la ECA y por ello muy probablemente observamos la disminución en los niveles de Angiotensina-II; así mismo, el incremento en los niveles de Angiotensina-(1-7) favorece la síntesis de Óxido Nítrico por vía de las kininas.

Es importante recordar que el incremento en la Capacidad Antioxidante Total favorece la síntesis de antioxidantes endógenos que disminuyen la cantidad de radicales libres séricos y esto a su vez favorece la preservación

tanto de la actividad como de la vida media de la Angiotensina-(1-7) con lo que se favorecen las aseveraciones al respecto de la misma antes expuestas.

El estudio muestra importantes resultados favorables hacia la Hemodiafiltración como una mejor opción en relación a la homeostasis cardiovascular, sin embargo, está pendiente la determinación de los niveles de Angiotensinas y Óxido Nítrico depurados por el hemofiltro, así como la falta de determinación sérica en relación al tiempo interdialítico y la variabilidad entre cada paciente; sin embargo; estas situaciones formarán parte de un análisis subsecuente.

A pesar de no haberse encontrado significancia estadística respecto a la evaluación del estado de volumen con los niveles de Angiotensinas, a excepción del Delta de Angiotensina-(1-7), consideramos que una evaluación con un mayor número de pacientes podría apoyar la tendencia favorable al respecto de los niveles de Angiotensina-II como un marcador más del estado de volumen.

El conocer con más detalle el comportamiento del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona en base a los análisis históricos en relación a todos los efectos de la Angiotensina-II y su contraparte la Angiotensina-(1-7) nos provee de un sustento teórico-práctico significativo en cuanto a la homeostasis cardiovascular para la práctica diaria en terapia sustitutiva renal. Además, podemos pensar en la posibilidad del desarrollo de fármacos tipo peptídicos o no peptídicos que actúen como agonistas de los receptores de Angiotensina-(1-

7) y los cuales pueden tener un impacto importante en un pequeño grupo de pacientes con Hipertensión Arterial Sistémica persistente a pesar de encontrarse en peso seco con los parámetros de evaluación existentes en la actualidad.

En conclusión podemos afirmar con el presente estudio que la Hemodiafiltración restituye de forma eficaz el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona a través de una tendencia hacia la vasodilatación mediada por Óxido Nítrico y Angiotensina-(1-7), así como la disminución de la Angiotensina-II. Además el Estrés Oxidativo disminuye en forma importante con esta modalidad de terapia sustitutiva renal.

## VII. CONCLUSIONES

Como parte del estudio de la homeostasis cardiovascular en los pacientes con sustitución renal, en este caso la Hemodiafiltración Crónica, es importante conocer el funcionamiento de todos los aspectos que involucran el estado de Hipertensión Arterial Sistémica prevalente en esta población. De los mecanismos implicados considero que la hipervolemia es el principal factor desencadenante de Hipertensión Arterial en los pacientes nefrópatas. Sin embargo, el grupo de pacientes descrito en la literatura de alrededor del 10-15% que clínicamente se encuentran en peso seco; o bien, mediante el apoyo paraclínico se documenta que están con euvolemia (Bioimpedancia, diámetro de vena cava, Delta de Hemoglobina entre otros); puede mostrar alteración neurohumoral como hiperactividad simpática, trastornos súbitos del potasio transdiálisis y/o hipokalemia, hipercalcemia por cualquier causa (iatrógena o por hiperparatiroidismo terciario) y tal como se expresó al inicio del presente trabajo el sistema RAS del cual se desconoce aún mucha información que me parece es el principal actor en este grupo de pacientes, ya que su intervención no solo es a nivel vascular, si no que además actúa como proliferativo celular, profibrótico y proinflamatorio, todo ello en conjunto condiciona aterosclerosis acelerada, daño endotelial y daño estructural miocárdico que desencadena en descontrol hipertensivo.

El presente estudio nos provee de información relevante al respecto del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, específicamente de la ANG-II y ANG-(1-7) que nos orientan a pensar en una tendencia vasodilatadora

favorecida por este método de sustitución renal; dicha tendencia obedece al incremento de ANG-(1-7) que favorece la síntesis de Óxido Nítrico lo cual incrementa aún más la tendencia a vasodilatación. Podríamos concluir en que una apropiada prescripción de Hemodiafiltración, con todas las características que la misma implica, provee de una homeostasis hemodinámica apropiada en nuestros pacientes.

Nuestro trabajo es pionero en esta área por dilucidar y aún queda información muy importante por definir al respecto del comportamiento de las Angiotensinas en los pacientes con Hemodiafiltración Crónica, a saber:

1. Cantidad de Angiotensinas depuradas por el filtro de Polisulfona sin dializante (obtenido de las líneas arterial, venosa y líquido ultrafiltrado)
2. Conocer las diferencias cuantitativas prefiltro y postfiltro de Angiotensinas, Oxido Nítrico y Capacidad Antioxidante.
3. Realizar diversas tomas al mismo paciente para definir la variabilidad que existe entre cada sesión de Hemodiafiltración, la relación que pudiera guardar con el líquido ultrafiltrado y el tiempo interdialítico.
4. Comparar el estudio en pacientes con Hemodiálisis convencional.
5. Extender el número de muestra de pacientes con fines de dilucidar si el nivel de Angiotensinas nos provee información objetiva al respecto del estado hídrico de los pacientes.
6. Determinar el nivel sérico de otras Angiotensinas como ANG-III como parte de una evaluación más integral del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

7. Comparar niveles de Angiotensinas en relación a la etiología de la Insuficiencia Renal Crónica Avanzada.
8. Otra perspectiva a considerarse es el análisis de los pacientes ya trasplantados al día de hoy con la finalidad de comparar un estado homeostático adecuado (Estado postrasplante renal) contra la Hemodiafiltración. Al momento se han trasplantado a 6 pacientes de la población total inicial de 20 analizados en el presente trabajo.

Las aportaciones del presente trabajo radican en ser el primer estudio donde se determina el nivel sérico de ANG-(1-7) en pacientes con Hemodiafiltración Crónica como método de sustitución renal; también se demuestra el incremento de ANG-(1-7), Óxido Nítrico y Capacidad Antioxidante Total, así como la disminución sérica de Angiotensina-II con esta modalidad de sustitución renal. Además, es el primer trabajo clínico donde la determinación de ambas Angiotensinas se efectuó de forma simultánea con el método de Electroforesis Capilar de Zona.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Greenberg A y cols. **Primer on Kidney Diseases.** *National Kidney Foundation.* 5ª Edición, 2009. Págs. 423-424 y 446-458.
2. Ingrid Ledebø and Peter J. Blankestijn. **Haemodiafiltration-optimal efficiency and safety.** *Nephrol Dial Transplant* 2010;3:8-16.
3. Kohara K y cols. **Angiotensin-(1-7). A member of circulating angiotensin peptides.** *Hypertension* 1991;17:131-138.
4. Li P y cols. **Angiotensin-(1-7) Augments Bradykinin-Induced Vasodilation by Competing With ACE and Releasing Nitric Oxide.** *Hypertension* 1997;29:394-398.
5. Iver SN y cols. **Angiotensin-(1-7) Contributes to the Antihypertensive Effects of Blockade of the Renin-Angiotensin System.** *Hypertension* 1998;31:356-361.
6. Chappell MC y cols. **Metabolism of Angiotensin-(1-7) by Angiotensin-Converting Enzyme.** *Hypertension* 1998;31:362-367.
7. Ferrario CM y cols. **Novel Angiotensin Peptides Regulate Blood Pressure, Endothelial Functions, and Natriuresis.** *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1716-1722.
8. Tallant EA y cols. **Antiproliferative Actions of Angiotensin-(1-7) in Vascular Smooth Muscle.** *Hypertension* 1999;34:950-957.
9. Heitsch H y cols. **Angiotensin-(1-7) Stimulated Nitric Oxide and Superoxide Release From Endothelial Cells.** *Hypertension* 2001;37:72-76.
10. Clark MA y cols. **Angiotensin-(1-7) Downregulates the Angiotensin II Type 1 Receptor in Vascular Smooth Muscle Cells.** *Hypertension* 2001;37:1141-1146.
11. Souza dos Santos R.A. y cols. **Interactions Between Angiotensin-(1-7), Kinins, and angiotensin II in Kidney and Blood Vessels.** *Hypertension* 2001;38:660-664.
12. D'Amico M y Locatelli F. **Hypertension in dialysis: pathophysiology and treatment.** *J Nephrol* 2002;15(4):438-445.



13. Vuurmans JLT y cols. **Contribution of Volume Overload and Angiotensin II to the Increased Pulse Wave Velocity of Hemodialysis Patients.** *J Am Soc Nephrol* 2002;13:177-183.
14. Morse SA y cols. **Hypertension in Chronic Dialysis Patients: Pathophysiology, Monitoring, and Treatment.** *Am J Med Sci* 2003;325(4):194-201.
15. Tom B y cols. **Bradykinin, angiotensin-(1-7), and ACE inhibitors: how do they interact?** *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2003;35:792–801.
16. Gironacci MM y cols. **Angiotensin-(1-7) Inhibitory Mechanism of Norepinephrine Release in Hypertensive Rats.** *Hypertension* 2004;44:783-787.
17. Chappell MC y Ferrario CM. **ACE and ACE2 their role to balance the expression of angiotensin-II and angiotensin-(1-7).** *Kidney Int* 2006;70:8-10.
18. Ferrario CM y cols. **Angiotensin-Converting Enzyme 2 and Angiotensin-(1-7): An Evolving Story in Cardiovascular Regulation.** *Hypertension* 2006;47:515-521.
19. Ocaranza MP y cols. **Effect of hypertension on angiotensin-(1-7) levels in rats with different angiotensin-I converting enzyme polymorphism.** *Life Sciences* 2006;78:1535-1542.
20. Ulrich C y cols. **Increased expression of monocytic angiotensin-converting enzyme in dialysis patients with cardiovascular disease.** *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1596–1602.
21. Eatman D y cols. **Gender differences in the attenuation of salt-induced hypertension by angiotensin-(1-7).** *Peptides* 2001;22:927-933.
22. Sampaio WO y cols. **Angiotensin-(1-7) Trough Receptor Mas Mediates Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation via Akt-Dependent Pathways.** *Hypertension* 2007;49:185-192.
23. Fyhrquist F y Saijonmaa O. **Renin-angiotensin system revisited.** *Journal of Internal Medicine* 2008;264:224-236.
24. Iusuf D y cols. **Angiotensin-(1-7): Pharmacological properties and pharmacotherapeutic perspectives.** *European Journal of Pharmacology* 2008;585:303–312.

25. Varajic J y cols. **New Angiotensins.** *J Mol Med* 2008;86:663-671.
26. Iwai M y cols. **Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis.** *Hypertension Research* 2009;32:533-536.
27. Odor-Cederlöf I y cols. **Vasoactive agents and blood pressure regulation in sequential ultrafiltration and hemodialysis.** *Int J Artif Organs* 1993;16(9):662-669.
28. Graziani G y cols. **Different cardiovascular responses to hemodialysis-induced fluid depletion and blood compliance.** *JNephrol* 2010;23(01):55-61.
29. Schettler V y cols. **Oxidative stress during dialysis: effect on free radical scavenging enzyme (FRSE) activities and glutathione (GSH) concentration in granulocytes.** *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2588-2593.
30. Morena M y cols. **Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in hemodialysis patients.** *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:422-427.
31. Gedermann A y cols. **Plasma levels of advanced glycation end products during hemodialysis, haemodiafiltrations and haemofiltration: potential importance of dialysate quality.** *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1045-1049.
32. Locatelli F y cols. **Hypertension and cardiovascular risk assessment in dialysis patients.** *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1058-1068.
33. Sarkar SR y cols. **Nitric Oxide and Hemodialysis.** *Seminars in Dialysis* 2004;17(3):224-228.
34. Vaslaki M y cols. **On-line haemodiafiltration versus haemodialysis: stable haematocrit with less erythropoietin and improvement of other relevant blood parameters.** *Blood Purif* 2006;24(2):163-173.
35. Caló LA y cols. **Effect of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate on oxidative stress in dialysis patients.** *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1413-1419.
36. Torregrosa E y cols. **Análisis del estrés oxidativo en pacientes en hemodiafiltración en línea.** *Nefrología* 2007;27:612-618.

37. Arenas Jiménez MD. **Actualizaciones en hemodiálisis.** *Nefrología* 2008;supl. 5:71-76.
38. Rodríguez-Iturbe B, Vaziri ND, Jaime Herrera-Acosta J, and Johnson RJ. **Oxidative stress, renal infiltration of immune cells, and salt-sensitive hypertension: all for one and one for all.** *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:606–616.
39. Coll E y cols. **Chronic hypotension in hemodialysis patients: role of functional vascular changes and vasodilator agents.** *Clin Nephrol* 2008;69(2):114-120.
40. Filiopoulos V y cols. **Inflammations and Oxidative Stress in Patients on Hemodiafiltration.** *Am J Nephrol* 2008;28:949-957.
41. González-Diez B y cols. **Effect of a Hemodiafiltration Session with On-Line Regeneration of the Ultrafiltrate on Oxidative Stress.** *Blood Purification* 2008;26:505-510.
42. Grandi E y cols. **Induction of NO synthase 2 in ventricular cardiomyocytes incubated with a conventional bicarbonate dialysis bath.** *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2192-2197.
43. Tenorio-López Fa y cols. **Simultaneous determination of angiotensins II and 1-7 by capillary zone electrophoresis in plasma and urine from hypertensive rats.** *Talanta* 2009,doi:10.1016/J.talanta.2009.10.010.
44. Barranco HE y cols. **Estado hídrico de pacientes en hemodiálisis periódica a partir de la clínica y de la bioimpedancia eléctrica.** *Rev cubana med* 2009;48(4):152-162.
45. Castillo EA y cols. **Changes on Delta of Hemoglobin in Chronic Hemodiafiltration Patients at Different Volumen Status: Overhydrated Versus Dry Weight.** *Blood Purif* 2009;27(1):137
46. Mariscal A y cols. **Dry weight diagnosis estimated by hemoglobin delta and segmental bioimpedance in hemodiafiltration patients.** *Blood Purif* 2009;Su.597 Abstract presented at World Congress of Nephrology Milan (Sunday, May, 2009).