



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.



FACULTAD DE MEDICINA

***EFFECTO DE LOS COMPETIDORES DE UNIÓN A ALBÚMINA
(DESPLAZADORES) EN LA REMOCIÓN DE TOXINAS URÉMICAS UNIDAS A
PROTEÍNAS DURANTE HEMODIÁLISIS***

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA

PRESENTA:

Dra. Karla Berenice Cano Escobar

Residente de tercer año de Nefrología INCICH

ASESOR DE TESIS

Dra. Magdalena Madero Rovalo

Jefe del Departamento de Nefrología INCICH

Ciudad de México

Julio 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dr. Juan Verdejo París
Director de Enseñanza
Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”

Dra. Magdalena Madero Rovalo
Jefa del Departamento de Nefrología y Asesora de Tesis
Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”

Dra. Karla Berenice Cano Escobar
Residente de tercer año Nefrología
Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”

AGRADECIMIENTOS

A Diosito, por todas las bendiciones y oportunidades que me ha permitido tener.

A mis papás, a quien les agradezco de todo corazón todo el amor que me han dado, la educación que me han brindado, sus enseñanzas, consejos, su ejemplo. A mi mamá, mi mejor amiga y la mujer más maravillosa que he conocido, quien siempre me da fuerza y alienta a seguir, quien siempre está presente aun sin estar. A mi papá, a quien tengo la fortuna de seguirlo teniendo en mi vida, y aprender un poco más de él cada día.

A Eder, mi mejor amigo y compañero de vida, por estos maravillosos años y los que restan. Gracias por tu amor, apoyo y comprensión, por tu forma de ser que siempre admiraré. Por ser siempre equipo.

A mis amigos de residencia, “los tomates”, estos años de residencia fue un privilegio compartirlos con ustedes. Tanto aprendizaje acompañado de tanta amistad y buenas historias.

A mis maestros, muchas gracias por compartir su conocimiento conmigo, por su confianza y paciencia en estos tres años. Cada uno tan diferente y con tantas cualidades. Los respeto y admiro mucho, y tengo aún mucho que aprender de ustedes.

A la Doctora Madero, a quien respeto y admiro como persona y como profesional. Muchísimas gracias por la confianza que me tuvo. Aprendí mucho de usted de muchas maneras. No tengo manera de agradecerle por tanto apoyo.

INDICE

RESUMEN.....	4
INTRODUCCION.....	6
JUSTIFICACION.....	15
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	16
HIPOTESIS	16
HIPOTESIS.....	16
MATERIAL Y METODOS.....	17
• Diseño de estudio.....	17
• Universo de trabajo.....	17
• Criterios de inclusión.....	17
• Criterios de exclusión.....	17
• Criterios de eliminación.....	18
• Descripción General del Estudio	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	21
CONSIDERACIONES ETICAS.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	28

RESUMEN

INTRODUCCION: Las terapias de reemplazo renal actual han conseguido la remoción de toxinas de pequeño y mediano peso molecular, pero con poco efecto en las Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas (PBUT, prototipo P-cresil sulfato e Indoxil sulfato), las cuales tienen una alta unión con albumina, superior al 90%, lo que reduce su fracción libre en plasma y consecuentemente su remoción en hemodiálisis. El ibuprofeno comparte el mismo sitio de unión con albúmina que el P-cresol sulfato e Indoxil Sulfato, cumpliendo la función de un “desplazador”, permitiendo mejorar la remoción de estas toxinas en pacientes en hemodiálisis.

OBJETIVO: Demostrar el incremento en la remoción instantánea de Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas (P-cresil sulfato e Indoxil sulfato) mediante el uso de competidores de unión a albumina (ibuprofeno) durante hemodiálisis.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyeron a 17 pacientes con Enfermedad Renal Crónica en Terapia de Reemplazo Renal (Hemodiálisis) de la Unidad de Hemodiafiltración del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, que fueran mayores de 18 años y con un régimen de 3 sesiones por semana. Se excluyeron aquellos con uresis residual, embarazo, hipertensión severa, isquemia cardíaca, evento vascular cerebral o sangrado gastrointestinal en los últimos 6 meses. Las características de la sesión fueron las siguientes: 4 horas, flujo sanguíneo efectivo de 300 ml/min, flujo dializante 500 ml/min y filtro F80 nuevo. Cada sesión se dividió en 3 períodos: 1) estándar (minuto 0 a 20), 2) infusión del desplazador por línea arterial del circuito (ibuprofeno 800 mg en 250 ml de solución salina al 0.9%, a una tasa constante, del minuto 20 al 40); estándar nuevamente (minuto 40 al 240). En cada sesión se tomaron muestras en diferentes momentos a través de la línea arterial, venosa y efluente. Se analizaron muestras del efluente con Cromatografía Líquida de Alta Resolución para determinar los valores de Indoxil Sulfato, P-cresol sulfato e ibuprofeno, y se compararon estos valores en la fase estándar y el de infusión del desplazador.

RESULTADOS: Se incluyeron 17 pacientes, 10 mujeres, con edad promedio de 36 ± 11 años, tiempo promedio en hemodiálisis de 24 meses. El promedio de los valores relativos en el efluente en la fase pre, durante y post ibuprofeno fueron los siguientes: 0.67 ± 0.23 , 1.42 ± 0.14 y 0.61 ± 0.19 para Indoxil Sulfato; 0.63 ± 0.24 , 1.42 ± 0.15 y 0.64 ± 0.19 para P cresol sulfato, mostrando un incremento en la remoción de PBUT en el efluente durante la fase de infusión de ibuprofeno.

CONCLUSION: Este es el primer estudio de prueba de concepto sobre el uso de desplazadores en pacientes en hemodiálisis. La infusión de ibuprofeno durante la sesión de hemodiálisis resultó eficaz al incrementar significativamente la remoción de Indoxil Sulfato y P-cresol sulfato, siendo bien tolerada por los pacientes y sin

efectos adversos reportados. Estos resultados alientan a la búsqueda de otros potenciales desplazadores factibles para uso crónico en pacientes en hemodiálisis.

INTRODUCCION

El deterioro de la función renal implica la pérdida en la capacidad para remover compuestos potencialmente tóxicos de la sangre hacia la orina, con la consecuente y progresiva acumulación de estos, los cuales son llamados solutos de retención urémica, y cuando son biológicamente activos y producen un impacto negativo, pasan a nombrarse Toxinas Urémicas, y tienen un impacto deletéreo en múltiples funciones del organismo, y muy particularmente a nivel cardiovascular. Finalmente, esta acumulación de Toxinas Urémicas es la causante del Síndrome Urémico.¹

Uno de los objetivos de las terapias de reemplazo actuales está enfocado hacia la remoción de estas toxinas urémicas, para mejorar los síntomas de los pacientes y disminuir lo más posible los efectos deletéreos de estas toxinas urémicas.

CLASIFICACION DE TOXINAS UREMICAS

El Grupo Europeo de Toxinas Urémicas (EUTox por sus siglas en inglés) se ha encargado de la clasificación de estas toxinas urémicas, con una primer propuesta en 2003 y última actualización en 2012. Inicialmente se identificaron 90 toxinas, y se han ido añadiendo alrededor de 30 desde esa fecha. Tradicionalmente la clasificación se ha basado en las características físico-químicas de las toxinas, sin embargo algunos autores han sugerido que clasificarlos acorde a su comportamiento durante diálisis o por su órgano blanco de daño sería más útil. Clásicamente se dividen en tres grupos:^{1,2,3,4}

- a) Pequeño Peso Molecular: Tienen un Peso Molecular menor a 500 Daltons, por lo que se remueven fácilmente por cualquier estrategia de diálisis. Su prototipo son la urea y creatinina. Se ha reportado que no todas son necesariamente tóxicas. Representan el 46% del total de las toxinas urémicas.
- b) Mediano Peso Molecular: Con un Peso Molecular mayor a 500 Daltons, su remoción por diálisis es parcial, y más eficaz con uso de membranas de grandes poro, alto flujo y

hemodiafiltración. El prototipo es la B2-microglobulina. Representan el 26% del total de las toxinas urémicas.

- c) Toxinas Urémicas unidas a Proteínas: Pueden tener cualquier peso molecular, su característica principal es su alta afinidad de unión con proteínas plasmáticas, lo cual dificulta su remoción con prácticamente cualquier estrategia de remoción actual. El prototipo es P cresol sulfato e Indoxil sulfato. Representan el 25% del total de las toxinas urémicas.

TOXINAS UREMICAS Y SU ROL EN DAÑO VASCULAR

Desde el 2001 que se clasificaron las toxinas urémicas, se enfatizó el efecto deletéreo que tienen a nivel vascular, y se encontró que con la excepción de oxalato, todas las toxinas involucradas en daño vascular pertenecen al grupo de toxinas de mediano peso molecular o las unidas a proteínas, es decir, aquellas que son más difícil de remover por las terapias dialíticas actuales.

Las principales células que se ven afectadas y que impactan negativamente a nivel vascular son : leucocitos, células endoteliales, células de músculo liso, trombocitos.^{5, 6, 7}

TOXINAS UREMICAS UNIDAS A PROTEINAS – P CRESOL SULFATO E INDOXIL SULFATO

Este grupo de toxinas no se definen por su peso molecular, aunque generalmente son de bajo peso molecular). Su característica principal radica en su alta afinidad a proteínas plasmáticas (alrededor de 90 a 95%),⁸ lo que le otorga su segunda característica: el de difícil remoción con las técnicas dialíticas actuales (menor al 20-30%).⁸ Además, tienen un volumen de distribución mayor y multi compartamental, que disminuye la tasa de reducción. El prototipo de este grupo es el P cresol e Indoxil Sulfato.⁹

La unión de estas toxinas con proteínas plasmáticas es básicamente con la albumina. La albumina tiene un peso molecular de 66.5KDa, y está formada por 3 dominios homólogos, es decir 6 subdominios en total (IA, IB, IIA, IIB, IIIA y IIIB) y cuatro sitios de unión. Aunque posee varios dominios de unión con sustratos, se sigue aceptando por consenso la existencia de dos sitios

específicos de unión que fueron descritos por Sudlow, y por tanto se designan como sitio I y sitio II de Sudlow. (Imagen 1). A través de estos sitios de unión se une la albumina con diferentes sustancias, incluyendo fármacos, hormonas y las propias toxinas urémicas. Cada sitio de unión tiene un fármaco principal con el que se une, por ejemplo, el sitio I también se conoce como el sitio de unión con warfarina, el II como el sitio de unión con diazepam, el III como sitio de unión con tamoxifeno y el IV como sitio de unión con digoxina. Estas uniones van a depender de fuerzas electrostáticas y fuerzas de Van der Waals, lo que resulta en unión reversible y competitiva.^{8, 11}

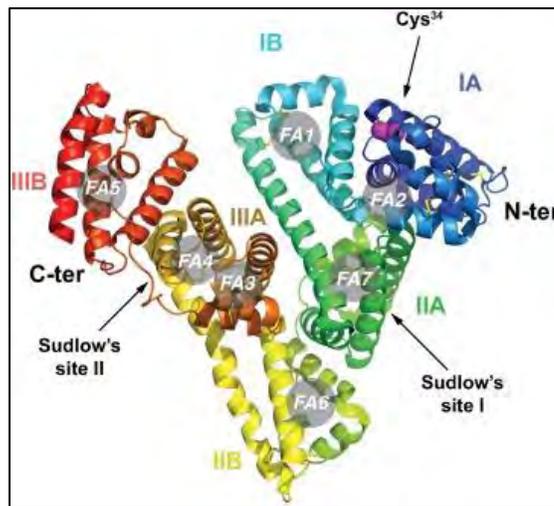


Imagen 1. Estructura de la Albumina. Se muestran los subdominios y los principales sitios de unión de la albumina.

INDOXIL SILFATO

El Indoxil sulfato pertenece al grupo de los índoles. Proviene del metabolismo del triptófano, que al llegar al tracto gastrointestinal y por acción de las bacterias que ahí se encuentran, se transforma en indol, sufre una oxidación convirtiéndose en Indoxil y posteriormente se sulfura en el hígado creando el Indoxil Sulfato.¹²

Lo podemos encontrar en su forma libre y total. En su fracción libre tiene un peso molecular de 212 Da,¹³ Sus concentraciones normales en pacientes sanos es de 0.53 (+/-0.29) mg/L. En

pacientes con uremia, acorde a diferentes estudios en diferentes poblaciones, el valor promedio es de 3.83 (+/-2.46) variando entre (2.09-4.49) mg/L, es decir, aumentando su concentración hasta 7.19 veces. En su fracción total el peso molecular es de 251 Da, sus valores normales en paciente sanos son de 0.54 (+/-4.00) (0.40-0.60) mg/L. En pacientes con uremia (n=344) de diferentes poblaciones el valor promedio fue de 37.07 (+/-26.50) (0.23-53.58) mg/L, es decir, un incremento de 68.34 veces cuando en pacientes urémicos.¹⁴

El indoxil sulfato se ha asociado con múltiples efectos deletéreos, por mencionar los más sobresalientes, encontramos el daño a nivel cardiovascular, al fomentar la activación del Inhibidor del Activador del Plasminogeno tipo 1 (PAI-1), incrementa la producción de radicales libres, proliferación células a nivel de musculo liso, disrupción de las células endoteliales, interacción de los leucocitos y el endotelio, con la siguiente adhesión leucocitaria, favoreciendo la calcificación vascular, incremento en los niveles de Interleucina 6, favorece resistencia a la PTH, asociación con fibrosis renal al activar el sistema renina angiotensina aldosterona asociado a transición de células epiteliales a mesenquimatosas, se ha involucrado en la patogénesis de la aterosclerosis, también se ha asociado con fibrosis a nivel cardíaco.^{15, 16, 17, 38}

P CRESOL SULFATO

Esta toxina pertenece al grupo de los fenoles, y proviene del metabolismo de la tirosina, que en presencia de las bacterias intestinales formara p cresol en el intestino, se sulfura y glucuronida para convertirse en P cresil sulfato.¹² Se une a la albumina en mayor porcentaje que el Indoxil Sulfato. Igualmente la podemos encontrar en forma libre y total. Su peso molecular es de 187 Da. En la forma libre, el valor normal en pacientes sanos es de 0.08 (+/-0.09) mg/L, en pacientes en uremia en diferentes poblaciones su valor promedio es de 2.60 (+/-5.10) mg/L, lo que representa

32.5 veces su valor normal. En su forma total el valor normal es de 1.87 (+/-2.31) (1.50-3.80) mg/L y en pacientes en uremia el valor promedio es de 23.00 (+/-16.90) (18.90-37.70) mg/L, es decir, 12.27 veces su valor normal.^{13, 14.}

Dentro de los efectos deletéreos que se le han atribuido destacan los siguientes: altera la función de leucocitos, principalmente polimorfonucleares y mononucleares, inhibiendo su acción y predisponiendo a enfermedad infecciosas, acción pro inflamatoria, incrementar la generación de radicales libres, fuente de liberación de micropartículas endoteliales, las cuales son un parámetro indirecto de daño vascular, también se han asociado con fibrosis renal a través de la supresión transcripcional de gen klotho en las células tubulares. Se asocia con enfermedad cardiovascular y calcificación vascular, progresión de la enfermedad renal, uremia e incremento en la mortalidad.^{5, 6, 7, 18, 19, 20, 21.}

MÉTODO IDEAL PARA MEDIR LAS TOXINAS UREMICAS UNIDAS A PROTEINAS

Debido a estudios donde se analizaron estas toxinas, y a la intervariabilidad en niveles de los pacientes estudiados, se ha estandarizado el método para su medición. Se recomienda el uso de Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la medición de niveles de estas toxinas urémicas.^{22, 23.}

¿MEDICIÓN DE UREA COMO MARCADOR DE EFICACIA DE DIALISIS?

Como se describió anteriormente, la urea es una toxina de pequeño peso molecular, fácilmente dializable, y es el prototipo de este grupo. Anteriormente se consideró esta toxina y su cinética como el marcador bioquímico de eficacia de una terapia dialítica, sin embargo, en posteriores estudios se ha demostrado que niveles más altos de urea no necesariamente correlaciones con

mayores síntomas de uremia, y que incrementar la remoción de urea por arriba de los estándares, no se tradujo en mejoría en resultados en los pacientes.

ESTRATEGIAS PARA LA REMOCION DE TOXINAS UREMICAS UNIDAS A PROTEINAS

Las técnicas dialíticas actuales han sido poco eficaces para la remoción eficaz de este grupo de toxinas, a continuación se enumeran algunas de las técnicas que se han empleado a la fecha. ^{24, 25,}

²⁶

-Aumentar el tiempo de Diálisis: Estudios que comparan sesiones de hemodiálisis de 4 hrs versus 8 horas de duración, y compararon la remoción de toxinas de pequeño peso molecular y aquellas unidas a proteínas. Se encontró sin beneficio para incrementar la remoción de las Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas. ²⁷

-Aumentar la Frecuencia de Diálisis: Se comparó un régimen con sesiones de hemodiálisis diarios versus 3 veces por semana, durante un período de 6 meses. Se observó que hubo disminución en la concentración de las toxinas de pequeño peso molecular, sin embargo las toxinas unidas a proteínas tuvieron un valor límite para significancia. ²⁸

-Flora Intestinal/Prebióticos/Probióticos: Considerando que el metabolismo de los prototipos de las toxinas urémicas unidas a proteínas proviene del triptófano y tirosina, se consideró el uso de estos agentes. Con el uso de prebiótico tipo oligofruktosa enriquecido con inulina, se observó una disminución del 20% de P cresol sulfato en el siguiente mes al uso de este, con una p significativa, sin embargo, únicamente el 50% de los pacientes fueron respondedores a la terapia, y no se observó cambios en niveles de Indoxil Sulfato. Uno de los agentes que más se ha estudiado de este grupo ha sido el uso de AST-120, el cual es un adsorbente oral, que inhibe la absorción intestinal de las toxinas urémicas unidas a proteínas y así disminuye su concentración sérica. Se dio el medicamento 6 gr/día durante 3 meses, se observó una disminución en niveles séricos de p cresol

sulfato e Indoxil sulfato con una *p* significativa, un poco menos eficaz para este último. Su efecto parece ser dosis dependiente, y la reducción oscilo entre un 11 a 34%.^{29, 30}

-Aumentar el tamaño del Poro o Área de Superficie del Filtro: Estas estrategias solo impactan en función del tamaño de la toxina que se desee remover, y no considerando su unión con albumina, que reduce la fracción libre e impide su remoción dialítica. No se observó beneficio para reducir niveles de Indoxil sulfato, *p* cresol sulfato o ácido hipúrico.^{31, 32}

-Convección: Esta estrategia ha mejorado la remoción de toxinas de mediano peso molecular, sin embargo su efecto en las toxinas urémicas unidas a proteínas ha sido sin beneficio significativo.³³

-Adsorción y Separación Fraccionada de Plasma (FPSA): Es una terapia que se ha usado en pacientes con falla hepática. En este estudio se usó el equipo Prometheus. Se observó un incremento significativo del 20% para la remoción de *p* cresol sulfato, sin embargo el estudio se tuvo que suspender por un incremento significativo en trombosis de los accesos vasculares sin factor de riesgo aparentemente identificable.^{34, 35.}

INHIBIDORES COMPETITIVOS DE UNION A ALBUMINA (DESPLAZADORES)

Nos referimos con inhibidor competitivo a una sustancia que tenga semejanza en composición o morfología al de una sustancia “x” de interés, que sea capaz de unirse al sitio donde normalmente se uniría la sustancia “x”. Ya que dos moléculas no se pueden unir al mismo tiempo al mismo sitio, estas tendrán que competir entre ellas para unirse a la sustancia, uniéndose aquella que tenga una constante de afinidad mayor. Si el inhibidor competitivo es el que logra la unión, evita la unión de la sustancia “x” con la molécula, es decir, la desplaza, y de esta forma permite aumentar su fracción libre, permitiendo una remoción más eficaz (Imagen 2).

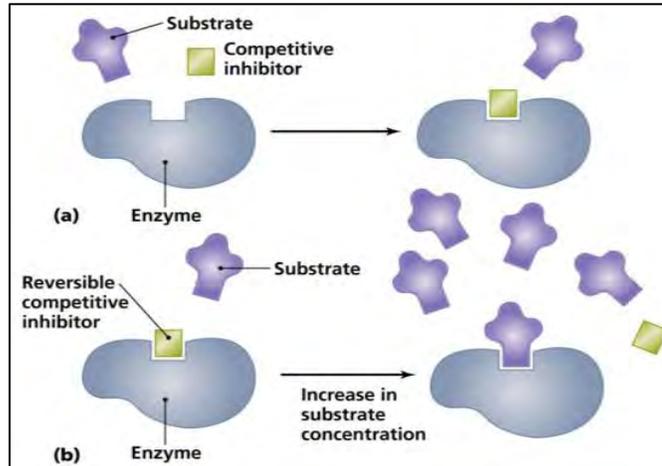


Imagen 2: Se esquematiza un inhibidor competitivo, también llamado desplazador.

INHIBIDORES COMPETITIVOS DE ALBUMINA (DESPLAZADORES)

La albumina tiene 6 subdominios y 4 sitios de unión con distintas sustancias (fármacos, hormonas, toxinas). Para cada sitio de unión, hay un fármaco prototipo de unión. En la imagen 3 se pueden observar los diferentes fármacos que se han encontrado se unen a los diferentes sitios.

El Indoxil sulfato y el P cresol sulfato se unen al sitio II. Es decir, los potenciales inhibidores competitivos (desplazadores) de estas toxinas serán fármacos que se unan en el mismo sitio II, pero con una constante de afinidad mayor que lo que la tienen las toxinas urémicas.³⁶

SITIO I	SITIO II	SITIO III	SITIO IV
Warfarina Furosemide Glibenclamida Indometacina Ketoprofeno Ácido Nalidixico Naproxeno	Diazepam Dicloxacilina Ibuprofeno Prebenecid Naproxeno	Tamoxifeno	Digoxina

Imagen 3. Sitios de unión a albumina con diferentes fármacos.

La constante de afinidad del ibuprofeno es mayor que la constante de afinidad del indoxil sulfato y p cresol sulfato ($1.76 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ vs $2.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), lo que permite que el ibuprofeno gane en la unión a la albumina frente a estas toxinas urémicas, y así las desplace

CONCEPTO DE DESPLAZADOR APLICADO A HEMODIÁLISIS

Partiendo del concepto del uso de inhibidores competitivos surgió la idea de aplicarlo en un modelo en hemodiálisis, y fue patentado en 2012. Imaginemos un filtro estándar de una sesión de hemodiálisis. A través del flujo sanguíneo que llega al filtro, estarán distintos solutos, incluidos las toxinas urémicas unidas a albumina, por lo que no podrán removerse por el filtro, y su concentración en el efluente será prácticamente igual prefiltro que posfiltro, con prácticamente nulos niveles en el efluente. En cambio, si se administra un inhibidor competitivo en el flujo sanguíneo del filtro, este competirá contra las toxinas urémicas unidas a proteínas, y si su constante de afinidad es mayor, las desplazará, lo que se traduce en incremento de la fracción libre (ya no unida a albumina) y por tanto facilita su remoción, incrementando los niveles en el efluente, y disminuyendo los niveles en flujo post filtro.

Este concepto de desplazador ya se probó en un modelo ex vivo de hemodiálisis con uso de sangre total urémica humana, con el objetivo de tener una validación experimental para aumentar la remoción significativa de toxinas urémicas unidas a proteínas con infusión de un desplazador, y se encontró un incremento significativo (2.9 veces, $p < 0.0001$) en el porcentaje de remoción de indoxil sulfato fracción libre una vez que se puso infusión del desplazador. Este concepto como se menciona fue en un modelo ex vivo, no hay estudios previos realizados en pacientes.³⁶

III. JUSTIFICACION

RELEVANCIA CIENTIFICA

La evidencia de los efectos deletéreos de las Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas, los cuales son principalmente a nivel cardiovascular, asociándose con mayor morbi mortalidad de los pacientes con enfermedad renal crónica, y la poca eficacia de las terapias dialíticas actuales sobre la remoción de estas toxinas, hace necesario la búsqueda de una maniobra que incremente su remoción en pacientes con Enfermedad Renal Crónica en terapia dialítica.

RELEVANCIA SOCIAL

El beneficio potencial de la remoción de estas Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas con la administración de Competidores de Unión a Albumina (desplazadores) potencialmente mejorará los síntomas de uremia y la morbimortalidad (en especial las cardiovasculares) en pacientes en Hemodiálisis, mejorando la calidad de vida de los pacientes y su sobrevida, lo que requerirá estudios prospectivos adicionales.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es el efecto en la remoción de toxinas urémicas unidas a proteínas con la administración de competidores de unión a albumina en pacientes en Hemodiálisis Crónica?

V. HIPOTESIS

HIPOTESIS NULA

La administración de Competidores de Unión (Ibuprofeno) no incrementará la remoción instantánea de Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas a través del efluente durante Hemodiálisis.

HIPOTESIS ALTERNA

La administración de Competidores de Unión (Ibuprofeno) incrementará la remoción instantánea de Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas a través del efluente durante Hemodiálisis.

VI. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Demostrar el incremento en la remoción instantánea de Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas durante Hemodiálisis y Hemodiafiltración con el uso de competidores de Unión a Albumina (Ibuprofeno)

VII. MATERIAL Y METODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio Piloto, tipo prueba de concepto. Prospectivo, en un solo centro hospitalario.

2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Pacientes adultos con Enfermedad Renal Crónica y Terapia de Reemplazo Renal en Hemodiálisis Crónica, con un régimen de tres veces por semana, en la Unidad de Hemodialfiltración del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

3. CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes mayores de 18 años y menores de 80 años.
- 3 sesiones por semana.
- De la Unidad de Hemodialfiltración del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

4. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Uresis Residual (+100ml/día)
- Embarazo
- Hipertensión Severa Prediálisis (TAS +180 mmHg, TAD + 115 mmHg)
- Historia Infarto Agudo del Miocardio o Angina Inestable (últimos 6 meses)
- Evento Vascular Cerebral Isquémico (últimos 6 meses)
- Arritmia que haya puesto en peligro vida (6 meses)
- Hemorragia Tubo Digestivo (últimos 6 meses)
- Falla Cardíaca clase funcional III/IV de la NYHA.
- Participación Actual en algún otro estudio clínico.

5. CRITERIOS DE ELIMINACION

- No aceptar continuar en el estudio.
- Paso a Diálisis Peritoneal o Trasplante Renal durante el transcurso del estudio.
- Muerte.

6. DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

Habiendo cumplido los criterios de selección, se procedió a reclutar a los pacientes, previo explicación y firma de consentimiento informado por parte del paciente, 2 testigos y personal médico.

Para cada paciente fue una única sesión de hemodiálisis en las que se realizó el protocolo. Previo a iniciar la sesión se registro signos vitales del paciente, peso, ganancia interdialitica, un pequeño interrogatorio y exploración física,

Cada sesión consto con las siguientes características: modalidad hemodiálisis convencional, con una duración de 4 horas, usando un filtro nuevo para cada paciente de polisulfona y con un área de superficie de $1.8m^2$. El flujo sanguíneo efectivo a 300 ml/min de forma constante, flujo dializante 500 ml/min, Temperatura del dializante 35C, Na 137, la ultrafiltración programada fue la ganancia interdialitica que se registro en la valoración inicial + 250 ml (lo equivalente a la infusión que se administro del desplazador).

Cada sesión se dividió en tres fases:

- a) Pre Ibuprofeno (minuto 0 al minuto 20): Consiste en la sesión estándar de hemodiálisis.
- b) Infusión del Desplazador (Ibuprofeno) (minuto 20 al minuto 40): En esta fase se administró ibuprofeno 800 mg diluidos en 250 ml de Solución Salina al 0.9% , a través de una infusión constante por la línea arterial del circuito.
- c) Post Ibuprofeno (minuto 40 al minuto 240): Nuevamente una sesión estándar de hemodiálisis.

Durante cada sesión se monitorizo tensión arterial sistólica, diastólica, media, frecuencia cardíaca, flujo sanguíneo efectivo, tasa de ultrafiltración, ultrafiltrado total, presión arterial / venosa y transmembrana del sistema, todo lo anterior cada 15 minutos.

Se tomaron muestras (cada una de 3ml) de línea arterial, línea venosa y efluente en diferentes puntos del tratamiento, como se describe a continuación, y se representa en la imagen 4.

- a) Línea Arterial: minuto 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240.
- b) Línea Venosa: minuto 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240.
- c) Efluente: minuto 5, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 60, 90, 120, 180, 240.

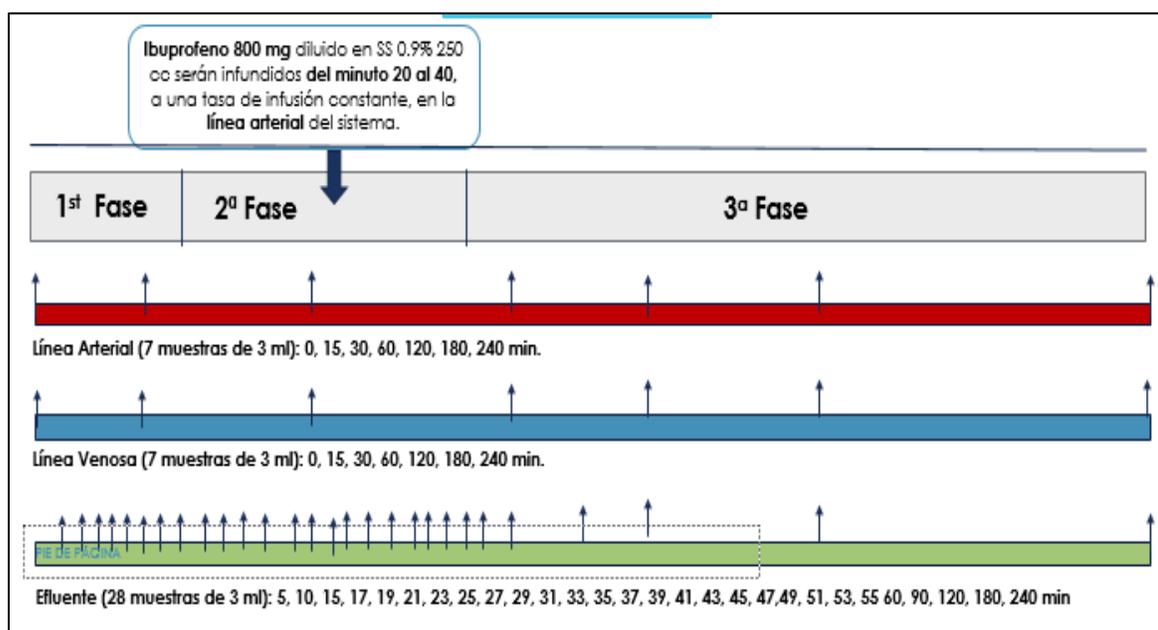


Imagen 4. Representación de las 3 fases de cada sesión así como de los diferente puntos en los que se tomaron las muestras arterial, venosa y de efluente.

Al término de la sesión se registraron nuevamente signos vitales del paciente, pequeño interrogatorio y exploración física.

Una vez recolectadas las muestras se iban procesando. Las muestras sanguíneas se centrifugaron durante 10 minutos a 3500 rpm, se separaba el plasma y se almacenada en alicuotas. Las muestras de efluente no necesitan mayor procesamiento. Todas las muestras se marcaron cuidadosamente y se mantuvieron congeladas a una temperatura de -70C. Las muestras fueron analizadas con apoyo del Renal Research Institute y la Universidad de Massachussetts. Se midió Indoxil Sulfato, P cresol sulfato e Ibuprofeno a través de Cromatografía Líquida de Alta Resolución, y urea y creatinina que fueron tomados como controles, se midieron con métodos convencionales.

7. ANALISIS ESTADISTICO

Las variables cualitativas se reportaron con frecuencias y porcentajes. Las variables cuantitativas de distribución normal a través de media para la tendencia central y con desviación estándar para la dispersión. Las variables cuantitativas con distribución libre se reportaron a través de mediana para las medidas de tendencia central y de percentiles (25 y 75) o rangos para las medidas de dispersión. El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico SPSS v22.0.

8. CONSIDERACIONES ETICAS

El estudio requirió consentimiento informado, y fue sometido al comité de ética local del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez para su aprobación.

La propuesta y ejecución del presente estudio no violó el Reglamento de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en Materia de Investigación para la Salud, no puso en riesgo la salud o integridad de los participantes, ni involucró menores de edad.

Se realizó con apego estricto a las norma éticas, sin violar ninguno de los principios básicos para la investigación en seres humanos establecidos por la declaración de la Asamblea Mundial del Tratado de Helsinki, Finlandia, ni sus revisores de Tokio, Hong-Kong, Venecia y Edimburgo.

Únicamente los investigadores tuvimos acceso a los datos obtenidos. Se protegió la privacidad y confidencialidad de los pacientes en todos los momentos de la investigación.

IX. RESULTADOS

Se incluyeron a un total de 17 pacientes de la Unidad de Hemodiafiltración del Instituto Nacional de Cardiología. A cada paciente se le realizó una única sesión de hemodiálisis con las características ya descritas previamente.

Los datos demográficos y características basales se describen en la tabla número 1 que se muestra a continuación.

Tabla número 1: Características Basales de los Pacientes en estudio	
VARIABLE	NUMERO DE PACIENTES (n=17)
Edad (años)	36 ± 11
Género (%)	
<i>Masculino</i>	7 (41.17%)
<i>Femenino</i>	10 (58.8%)
Etiología de Enfermedad Renal	
<i>Glomerulopatía</i>	9 (52.95%)
<i>No Determinada</i>	4 (23.52%)
<i>Hiperuricemia</i>	2 (11.76%)
<i>Nefropatía Diabética</i>	1 (5.88%)
<i>Uropatía Obstructiva</i>	1 (5.88%)
Tiempo en Hemodiálisis (meses)	24 (3-111)
Acceso Vascular	
<i>Fístula Arteriovenosa</i>	10 (58.82%)
<i>Catéter</i>	7 (41.17%)
Ganancia Interdialítica (lt)	2.51 ± 1.23
Presión Arterial Media (mmHg)	
<i>Pre ibuprofeno</i>	99.6 ± 21.4
<i>Infusión Ibuprofeno</i>	101.23 ± 23.3
<i>Post Ibuprofeno</i>	99.05 ± 22.6
Kt/v	1.72 ± 0.3

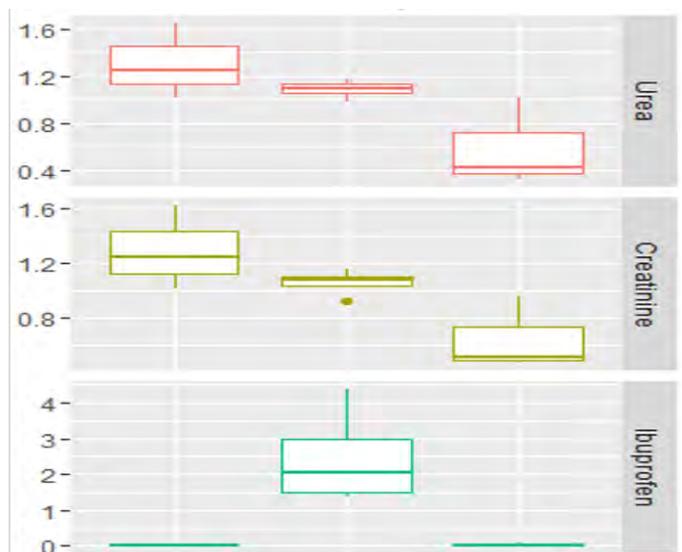
La edad promedio de la población de estudio fue de 36 ± 11 años, la mayoría perteneciente al género femenino (58.8%). Respecto a la etiología de la enfermedad renal crónica, la causa mas frecuente fue secundario a una glomerulopatía (52.95%) y de estas principalmente por Nefritis Lúpica, le siguió en frecuencia la de causa no determinada (23.52%), secundario a hiperuricemia (11.76) y por último nefropatía diabética y uropatía obstructiva, cada uno con 5.88%. El tiempo promedio de estancia en terapia de reemplazo renal con hemodiálisis fue de 24 meses, con variaciones desde 3 hasta 111 meses. En el 58.8% de los pacientes el acceso vascular es una fístula arteriovenosa, y la ganancia interdialítica promedio entre cada sesión fue de 2.51 ± 1.23. Las cifras de Presión Arterial Media tuvieron poca modificación entre las 3 distintas fases de la sesión (pre

ibuprofeno, trans ibuprofeno y post ibuprofeno), con cifras de 99.6 ± 21.4 , 101.23 ± 23.3 y 99.05 ± 22.6 respectivamente.

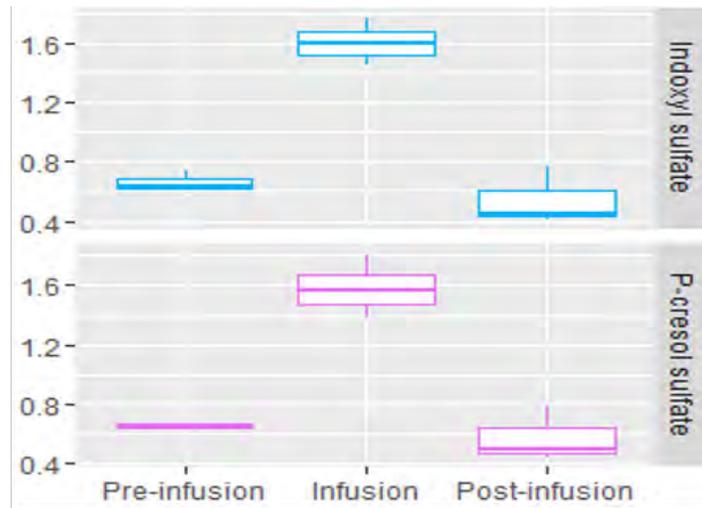
Respecto al análisis de las muestras, se inició con la medición en el efluente, ya que el objetivo del estudio era demostrar si la infusión con ibuprofeno incrementaba la remoción instantánea de toxinas urémicas unidas a proteínas, y son los resultados que hasta el momento se tienen y se reportan.

Los resultados se presentan en la Gráfica 1 y 2. Debido a la intervariabilidad en los valores entre cada paciente, se normalizaron los valores para cada paciente y se presentan en forma de diagramas de cajas las concentraciones relativas de los solutos. Para cada soluto, se puede ver los valores en las distintas fases: pre infusión, trans infusión del desplazados y post infusión. En la primer gráfica se presenta la urea y creatinina que sirvieron como controles, así como los valores de ibuprofeno que únicamente se detectaron durante la fase de infusión del desplazador. En la gráfica número dos, se observa los valores de las toxinas urémicas unidas a proteínas: indoxil sulfato y p cresol sulfato.

El promedio de los valores relativos en el efluente en la fase pre, durante y post ibuprofeno fueron 0.67 ± 0.23 , 1.42 ± 0.14 y 0.61 ± 0.19 para Indoxil Sulfato; 0.63 ± 0.24 , 1.42 ± 0.15 y 0.64 ± 0.19 para P cresol sulfato, mostrando un incremento en la remoción de estas toxinas en el efluente que correlaciono con la fase de infusión de ibuprofeno.



Gráfica 1. Concentraciones Relativas de Urea, Creatinina e Ibuprofeno en el Efluente



Gráfica 2. Concentraciones Relativas de Indoxil Sulfato y P cresol sulfato en el efluente.

DISCUSION

Las terapias dialíticas de reemplazo renal han ido evolucionando y con ello el pronóstico de los pacientes con enfermedad renal crónica terminal. Sin embargo, es poco el beneficio que se ha podido obtener en cuanto a mejorar la remoción de las toxinas urémicas unidas a proteínas (P cresol sulfato e Inodxil Sulfato), que se ha evidenciado desde hace muchos años el efecto deletéreo que ocasiona principalmente a nivel cardiovascular, que de por si es una complicación frecuente en este grupo de pacientes, y afecta negativamente en morbilidad, calidad de vida, pronostico, costos económicos y sobrevida.

Se han intentado diferentes maniobras ya descritas previamente, con la finalidad de incrementar su remoción, alcanzando como máximo un incremento de 30% en la remoción, con resultados que no siempre han podido ser reproducibles, con población de pacientes escasa, y con accesibilidad muchas veces limitada en gran parte de los lugares.

El objetivo de estudio fue el de demostrar si existe un incremento instantáneo en la remoción de toxinas urémicas unidas a proteínas con el uso de inhibidores competitivos a albumina (desplazadores). El concepto ya fue probado exitosamente en un modelo ex vivo de hemodiálisis, y este es el primer estudio de prueba de concepto del concepto del uso de desplazadores en pacientes en hemodiálisis.

Si bien el número de pacientes incluidos es pequeño, este se trata de un estudio de piloto, de prueba de concepto, con resultados que confirman nuestra hipótesis, en cada uno de los pacientes fue reproducible el resultado, por lo que la validez y la aportación de este estudio es muy importante.

Con los resultados que se presentaron de las concentraciones relativas en el efluente para los distintos solutos, podemos observar como la urea y creatinina que en este estudio sirvieron como solutos control, pues al no ser una toxina urémica unida a proteína, sino una toxina de pequeño peso molecular, no esperábamos que la administración del desplazador (ibuprofeno) incrementara su remoción, como sucedió, y más bien como era esperado, sus concentraciones en el efluente

fueron disminuyendo conforme la sesión progresó debido a la menor remoción, hecho que sucede en las sesiones de hemodiálisis cotidianas.

Por otro lado, observamos que el Indoxil Sulfato, P cresol sulfato y el ibuprofeno, comparten un patrón similar que se observa en las gráficas, es decir, en la 1er fase (pre infusión) observamos como las concentraciones de Indoxil sulfato y P cresol sulfato es mínimo, debido a la pobre remoción de estas al encontrarse unidas a albumina, y el ibuprofeno se encuentra en 0 pues aún no ha sido administrado. En la fase 2, inmediatamente que se administra la infusión con ibuprofeno, incrementa significativamente la concentración de estas toxinas en el efluente, y correspondiendo únicamente con el tiempo en que permanece la infusión de ibuprofeno, para nuevamente regresar a una remoción casi nula en la última fase de las sesiones.

Lo anterior demuestra que el ibuprofeno, al ser un inhibidor competitivo a la albumina, y que tiene el mismo sitio de unión a la albumina que estas toxinas urémicas unidas a proteínas, sirve como un desplazador eficaz de estas, al ser su constante de afinidad mayor. El efecto es instantáneo y reversible.

El desplazador que se utilizó en este estudio fue ibuprofeno intravenoso. Lo anterior en base a que comparte el mismo sitio de unión que las toxinas urémicas blanco, que su constante de afinidad era mayor, y que ya se había observado un efecto positivo en el estudio ex vivo.

Como todo fármaco se puede asociar a efectos adversos, por lo cual fue muy importante asegurar que no tuvieran algún criterio de exclusión para el estudio. La administración del desplazador fue una única vez por paciente, por un tiempo corto de 20 min, y en una dosis aprobada por la FDA, y no se observó ningún efecto adverso asociado a este, y fue bien tolerado por los pacientes. Tampoco se asoció con cambios hemodinámicos significativos.

Los resultados de este estudio alientan a la búsqueda de otras sustancias que puedan usarse como desplazadores, sustancias que tengan pocos efectos secundarios, que se encuentren disponibles en distintos lugares y accesibles económicamente, de tal forma que permitan su uso de forma crónica y segura en paciente en hemodiálisis.

CONCLUSIONES

- Este es el primer estudio de prueba de concepto del uso de desplazadores en pacientes en hemodiálisis.
- El uso de ibuprofeno (desplazador) durante hemodiálisis resultó en un incremento significativo en la remoción de Indoxil Sulfato y P cresol sulfato en el efluente que fue reproducible en los 17 pacientes incluidos.
- El efecto del desplazador en el incremento de la remoción parece ser instantáneo y desaparece en el transcurso del primer minuto de interrumpida su administración.
- La infusión de ibuprofeno fue bien tolerada por los pacientes, sin registrarse efectos adversos.
- Una vez probado el concepto, la meta será encontrar un desplazador seguro y accesible para su uso crónico en pacientes en hemodiálisis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Vanholder R, Argiles A. Uremic Toxicity : present state of the art, *The International Journal of Artificial Organs*, Vol 24, no 10, 2001, 695-725.
2. Vanholder R, Baurmeister U, Brunet P, et al. A Bench to Bedside View of Uremic Toxins, *Journal of the American Society of Nephrology*, Mayo 2008, Vol 19: 863-870.
3. Neiryneck N, Vanholder R, Schepers E. An update on uremic toxins, *International Urology and Nephrology*, 2013; 45:139-150.
4. Vanholder R, Glorieux G, De Smet R. New insights in uremic toxins, *International Society of Nephrology*, May 2003, Vol 63: S6-S10.
5. Pletinck A, Glorieux G, Schepers E. Protein-Bound Uremic Toxins Stimulate Crosstalk between Leukocytes and Vessel Wall, *Journal of American Society of Nephrology*, December 2013, Vol 24: 1981-1994.
6. Chien T, Chung Y, You L. Effects of AST-120 on Blood Concentrations of Protein-Bound Uremic Toxins and Biomarkers of Cardiovascular Risk in Chronic Dialysis Patients, *Blood Purification*, February 2014, Vol 37: 76-83.
7. Heng H, Chiung H. The Association of Uremic Toxins and Inflammation in Hemodialysis Patients, *PLOS ONE*, July 2014, Vol 9, issue 7.
8. Viaene L, Annaerf P, de Loor H. Albumin is the main plasma binding protein foy indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate, *Biopharmaceutics & Drug Depositions*, January 2013, Vol 34, 165-175.
9. Bacil C, Libutti P, Teutonico A, et al. Uremic toxins: the case of protein-bound compounds, *G Ital Nefrol*, 2010 Sep-Oct; 27(5): 498-507.
10. Sirich T, Meyer T, Gondouin B. Protein-Bound Molecules: A Large Family with a Bad Character, *Seminars in Nephrology*, March 2014, Vol 34 (2), 106-117.
11. Sakai T, Takadate A, Otagiri M. Characterization of binding site of uremic toxins on human serum albumin, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, December 1995; Vol 18 (12): 1755-1761.
12. Meijers B. The gut–kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression, *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 2011, 26: 759-761.
13. Devine E, Krieter D. Binding Affinity and Capacity for the Uremic Toxin Indoxyl Sulfate, *Toxins*, February 2014, Vol 6, 416-429.

14. Duranton F, Cohen G, De Smet R. Normal and Pathological Concentrations of Uremic Toxins, *Journal of American Society of Nephrology*, July 2012, Vol 23: 1258-1270.
15. Jhawar S, Singh P, Torres D. Functional Genomic Analysis Identifies Indoxyl Sulfate as a Major, Poorly Dialyzable Uremic Toxin in End-Stage Renal Disease, *PLOS ONE*, March 2015.
16. Sakai T, Yamasaki K, Sako T. Interaction mechanism between indoxyl sulfate, a typical uremic toxin bound to site II, and ligands bound to site I of human serum albumin, *Pharmaceutical Research*, April 2001, Vol 18 (4); 520-524.
17. Piroddi Marta, Bartolini D, Ciffolilli S. Nondialyzable Uremic Toxins, *Blood Purification*, May 2013, Vol 35 (2): 30-41.
18. Liabeuf S, Glorieux G, Lenglet A. Does P-Cresylglucuronide Have the Same Impact on Mortality as Other Protein-Bound Uremic Toxins?, *PLOS ONE*, June 2013, Vol 8.
19. Vanholder R, De Smet R, Lameire N. Protein-bound uremic solutes: The forgotten toxins, *Kidney International*, 2001, Vol 59 (78), 266-270.
20. Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H. Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients, *Kidney International* 2006, Vol 69, 1081-1087.
21. Itoh Y, Ezawa A, Kikichi K. Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, June 2012, 403: 1841-1850.
22. Vanholder R, Boelaert J, Glorieux G. New Methods and Technologies for Measuring Uremic Toxins and Quantifying Dialysis Adequacy, *Seminars in Dialysis*, March 2015, Vol 28; 114-124.
23. Itoh Y, Ezawa A, Kikuchi K. Correlation between Serum Levels of Protein-Bound Uremic Toxins in Hemodialysis Patients Measured by LC/MS/MS, *The Mass Spectrometry Society of Japan*, 2013, Vol 2.
24. Vanholder R, Eloot S. Future Avenues to Decrease Uremic Toxin Concentration, *American Journal of Kidney Diseases*, April 2016, 67(4): 664-676.
25. Watanabe H, Noguchi T, Myamoto Y. Interaction between Two Sulfate-Conjugated Uremic Toxins, p-Cresyl Sulfate and Indoxyl Sulfate, during Binding with Human Serum Albumin, *Drug Metabolism & Disposition*, March 2012, Vol 40, 1423-1428.

26. Neiryck N, Glorieux G, Schepers E. Review of protein-bound toxins, possibility for blood purification therapy, *Blood Purification*, 2013; 35: 45-50.
27. Cornelis T, Van der Sande F, Eloit S. Acute Hemodynamic Response and Uremic Toxin Removal in Conventional and Extended Hemodialysis and Hemodiafiltration: A Randomized Crossover Study, *American Journal of Kidney Diseases*, August 2014, Vol 64(2): 247-256.
28. Fagugli R, De Smet R. Behavior of non-protein-bound and protein-bound uremic solutes during daily hemodialysis, *American Journal of Kidney Diseases*, August 2002, Vol 40: 339-347.
29. Meijers B, De Preter V, Verbeke K. P-Cresyl sulfate serum concentrations in haemodialysis patients are reduced by the prebiotic oligofructose-enriched inulin, *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, January 2010, Vol 25, 219-224.
30. Te C, Yao C. Effects of AST-120 on Blood Concentrations of PBUT and biomarkers of CV Risk in Chronic Dialysis Patients, *Blood Purification*, 2014, 37; 76-83.
31. Lesaffer G, De Smet R. Intradialytic removal of protein bound uraemic toxins: role of solute characteristics and of dialyser membrane, *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, January 2000, Vol 1: 50-57.
32. Meert N, Eloit S. Comparison of removal capacity of two consecutive generations of high- flux dialysers during different treatment modalities, *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, August 2011, 26 (8): 2624-2630.
33. Meert N, Eloit S. Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies: a prospective trial, *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, February 2011, 24(2): 562-570.
34. Eloit S, Ledebro I, Ward R. Extracorporeal Removal of Uremic Toxins: Can We Still Do Better?, *Seminars in Nephrology*, March 2014, Vol 34:209-227.
35. Meijers B, Weber V, Bammens B. Removal of the uremic retention solutes p-cresol using fractionated plasma separation and adsorption, *Artificial Organs*, March 2008, 32(3): 214-219.
36. Tao X, Thijssen S, Kotanko P. Improved dialytic removal of protein-bound uraemic toxins with use of albumin binding competitors: an in vitro human whole blood study, *Scientific Reports Nature*, March 2016,

37. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability, May 2003: *Kidney International*, Vol 63, 1934-1943.
38. Vanholder R, Schepers E, Pletinck A. The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review, *Journal of the American Society of Nephrology*, September 2014, Vol 25: 1897-1907.
39. Lisowska B. Uremic toxins and their effects on multiple organ systems, *Nephron Clinical Practice*, 2014; 128: 303-311.