



Universidad de Valladolid

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN
CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS DOCTORAL

**Toxinas Urémicas Unidas a Proteínas en
Hemodiálisis. Estrategias de depuración:
Función Renal Residual y Desplazadores**

Presentada por:

Didier Sánchez Ospina

para optar al grado de

Doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Profesor Dr. Emilio González Parra.

Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral es mucho más que un trabajo académico; es el resultado de años de aprendizaje, desafíos y crecimiento personal y profesional. Y, sobre todo, es el reflejo de las personas que han estado a mi lado en este camino.

Quiero comenzar agradeciendo profundamente al Profesor Dr. Emilio González Parra, mi mentor, pero, ante todo, mi amigo. Han sido más de diez años trabajando juntos, compartiendo proyectos, ideas, ilusiones y también obstáculos. Su confianza en mí, su apoyo constante, y su forma generosa y honesta de enseñar han dejado una huella imborrable en mi forma de entender la medicina, la investigación y la vida. Emilio, gracias por caminar a mi lado con tanta cercanía, por tu guía, por tus consejos, y por todo lo que hemos construido juntos en este tiempo.

Mi agradecimiento sincero también a la Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz, quien se ha convertido en una referencia imprescindible para mí. Gracias por tu compromiso, tu visión crítica, y por acompañarme con tanta dedicación en esta etapa final.

A todos mis amigos y compañeros de la FJD y del HUBU, a los cuales llevo siempre en mi corazón, sin su apoyo y ayuda no estaría hoy aquí.

Y a mi mujer, gracias infinitas. Por tu paciencia, tu fe inquebrantable en mí. Has sido mi fuerza en los momentos difíciles y mi alegría en cada avance. Esta tesis también es tuya.

A todos y todas, gracias de corazón.

CLAVE DE ABREVIATURAS

Relación de abreviaturas que aparecen en el texto. En muchos casos se ha conservado la correspondiente abreviatura en inglés debido a su frecuente utilización en el lenguaje científico.

Abreviatura	Significado
AH	Ácido hipúrico
ALB	Albúmina
BUN	Nitrógeno ureico en sangre (Blood Urea Nitrogen)
CKD	Enfermedad renal crónica (Chronic Kidney Disease)
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
DE	Desviación estándar
eGFR	Tasa de filtrado glomerular estimada
ERC	Enfermedad renal crónica
ERCA	Enfermedad renal crónica avanzada
ETM	Error estándar de la media
FRR	Función renal residual
HD	Hemodiálisis
HDF	Hemodiafiltración
HIPP	Ácido hipúrico
IS	Indoxil sulfato

KRU	Aclaramiento residual de urea
Kt/V	Índice de eficacia dialítica
MCO	Membrana de corte medio (Medium Cut-Off)
PBUTs	Toxinas urémicas unidas a proteínas (Protein-Bound Uremic Toxins)
PCS	p-Cresil sulfato
PCR	Proteína C reactiva
PGA	Productos de glicación avanzada
SI	Indoxil sulfato
TUUP	Toxinas urémicas unidas a proteínas
VD	Volumen de distribución

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1 Uropoyesis.....	6
2.1.1 Proceso de filtrado glomerular.....	6
2.1.2 Mecanismos de reabsorción y secreción tubular	9
2.1.3 Secreción de sustancias en la formación de orina.....	12
2.2 Enfermedad renal crónica	12
2.2.1 Definiciones.....	12
2.2.2 Prevalencia	15
2.2.3 Repercusión.....	16
2.3 Toxinas urémicas	18
2.3.1 Concepto de toxicidad urémica.....	18
2.3.2 Origen de las toxinas urémicas.....	19
2.3.3 Caracterización y clasificación de las toxinas urémicas.....	22
2.3.4 Efectos de las toxinas urémicas	25
2.4 Eliminación de toxinas urémicas	29
2.4.1 Probióticos y prebióticos.....	29
2.4.2 El papel de la diálisis.....	33
2.4.3 Terapias adsortivas	37
2.4.4 Impacto de la función renal residual	39
2.5 Nuevos enfoques en la eliminación de toxinas urémicas.....	40
2.5.1 El concepto de desplazar toxinas urémicas	40
2.5.2 Potenciales desplazadores	42
2.5.3 Valoración del impacto de la función renal residual	44
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	47
3.1 Objetivo principal	48
3.2 Objetivos secundarios	48
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	50
4.1 Población a estudio	51
4.1.1 Estudios realizados	51
4.2 Criterios generales.....	52

4.3 Criterios particulares de cada estudio.....	54
4.3.1 Estudio 1: Análisis de TUUP en una población heterogénea de pacientes en hemodiálisis.	54
4.3.2 Estudio 2: Análisis de TUUP en una población con diálisis incremental.....	55
4.3.3 Estudio 3: Análisis de las TUUP en pacientes anúricos tratados con diuréticos de Asa.....	57
4.4 Diseño del estudio.....	58
4.4.1 Estudio 1: Análisis de TUUP en una población heterogénea de pacientes en hemodiálisis	58
4.4.2 Estudio 2: Análisis de TUUP en una población con diálisis incremental.....	67
4.4.3 Estudio 3: Análisis de las TUUP en pacientes anúricos tratados con diuréticos de Asa.....	72
4.4.4 Análisis de toxinas urémicas.....	75
4.4.5 Análisis estadístico	81
4.4.6 Implicaciones éticas.....	82
5. RESULTADOS.....	83
5.1 Estudio 1.....	84
5.2 Estudio 2.....	88
5.3 Estudio 3.....	101
6. DISCUSIÓN.....	113
6.1 Discusión Estudio 1.....	114
6.2 Discusión Estudio 2.....	119
6.2.1 Discusión, comparación niveles plasmáticos de TUUP pacientes del estudio 1 y 2.	125
6.3 Discusión Estudio 3.....	126
7. CONCLUSIONES	129
7.1 Conclusiones principales	130
7.2 Conclusiones secundarias	130
7.3 Conclusión final de esta tesis doctoral	131
8. BIBLIOGRAFÍA.....	132
9. ANEXOS	151
I. Dictamen comité de ética.....	152
II. Dictamen comité de ética.....	153

III.	Hoja de recogida de datos.....	154
IV.	Consentimiento informado.	155

1. RESUMEN

Las toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP) representan uno de los principales desafíos no resueltos en la terapia sustitutiva renal. A diferencia de moléculas pequeñas como la urea, las TUUP presentan una alta afinidad por la albúmina, lo que limita su eliminación tanto por filtración glomerular como por hemodiálisis convencional. Su acumulación se ha relacionado con disfunción endotelial, inflamación crónica, progresión de la enfermedad renal y eventos cardiovasculares. Sin embargo, su evaluación clínica sistemática y su integración en la práctica diaria siguen siendo anecdóticas.

Esta tesis aborda, a través de tres estudios complementarios, el comportamiento de las principales TUUP, p-Cresil sulfato, indoxil sulfato y ácido hipúrico, en diferentes escenarios clínicos de pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis. En primer lugar, se analiza su concentración en sangre en una cohorte amplia de pacientes anúricos en hemodiafiltración en línea. A continuación, se estudia la relación entre los niveles séricos y la excreción urinaria de estas toxinas en un grupo de pacientes con función renal residual y tratamiento con hemodiálisis incremental. Finalmente, se evalúa el efecto de dos diuréticos de asa, furosemida y torasemida, sobre la eliminación de TUUP durante la hemodiálisis en pacientes anúricos, a través de un diseño cruzado.

Los resultados revelan diferencias notables entre las toxinas, tanto en su acumulación como en su respuesta a las distintas estrategias de tratamiento. Se confirma que la función renal residual, incluso limitada, contribuye de forma relevante a la eliminación de TUUP, especialmente mediante secreción tubular activa. Asimismo, se demuestra que ciertos diuréticos pueden desplazar estas toxinas de su unión a la albúmina, facilitando así su depuración mediante hemodiálisis.

En conjunto, esta tesis pone en evidencia la necesidad de reevaluar los criterios clásicos de adecuación dialítica cuando se trata de TUUP. La preservación de la función renal residual, el uso racional de diuréticos y la adaptación individualizada de la técnica de diálisis son elementos clave

para una eliminación más eficiente de estas moléculas. Comprender mejor su comportamiento permite avanzar hacia una terapia sustitutiva más adecuada a la fisiología y a las necesidades reales de este grupo de pacientes.

Abstract

Protein-bound uremic toxins (PBUTs) remain one of the most persistent and least resolved challenges in renal replacement therapy. Unlike small solutes such as urea, PBUTs have a high affinity for albumin, which severely limits their clearance through glomerular filtration or conventional hemodialysis. Their accumulation has been linked to endothelial dysfunction, chronic inflammation, cardiovascular events, and disease progression. Yet, their clinical evaluation and therapeutic management remain inconsistent and poorly integrated into routine nephrology practice.

This doctoral thesis explores the behavior of three major PBUTs —p-Cresyl sulfate, indoxyl sulfate, and hippuric acid— across different clinical settings in chronic kidney disease patients on hemodialysis. The first study characterizes plasma levels of these toxins in a large cohort of anuric patients undergoing online hemodiafiltration. The second examines the relationship between blood and urinary levels of PBUTs in a subgroup of patients with preserved residual renal function receiving incremental hemodialysis. Finally, a crossover study evaluates the effect of two loop diuretics —furosemide and torasemide— on the dialytic clearance of PBUTs in anuric patients.

Results show clear differences between toxins in terms of accumulation and response to intervention. Residual renal function, even when limited, plays a significant role in PBUT elimination, mainly through tubular secretion. Furthermore, loop diuretics were shown to

enhance the clearance of PBUTs by displacing them from albumin-binding sites, increasing their free circulating fraction and making them more available for dialysis removal.

Together, these findings call for a redefinition of traditional adequacy markers in dialysis when PBUTs are involved. Preserving residual renal function, incorporating pharmacological strategies such as loop diuretics, and tailoring dialysis protocols to individual physiological profiles appear essential for improving the management of these under-recognized toxins. A deeper understanding of PBUT dynamics opens the door to more physiologically aligned and patient-centered renal therapies.

2. INTRODUCCIÓN

Los riñones son órganos de vital importancia y con diversas funciones que van más allá de la mera producción de orina y homeostasis del medio interno. Varias funciones endocrino-metabólicas tienen varios puntos de relevo en la nefrona, la unidad estructural y funcional de los riñones. No obstante, si bien el concepto de “función renal” abarca todos los procesos que se llevan a cabo en el riñón, las consecuencias del deterioro de esta pueden tener un alcance devastador, pues influye en el deterioro de la función cardíaca, del sistema inmunológico, y hasta puede acusar el declive cognitivo.

2.1 Uropoyesis

2.1.1 Proceso de filtrado glomerular

Por los cerca de 2 millones de nefronas con las que contamos con ambos riñones, cada minuto pasan un total de 1200 ml de sangre, de los cuales 650 ml corresponden a plasma sanguíneo y de este, una quinta parte aproximadamente se filtra por los glomérulos. Esto implica que, a lo largo de las 24 horas del día, se filtra 60 veces todo el plasma sanguíneo por los riñones.¹ Sin embargo, la filtración a través de los glomérulos no es el único medio que utilizan los riñones para depurar las sustancias. La reabsorción y la secreción a lo largo de los túbulos proximal y distal, del asa de Henle, y túbulo colector, permiten que la orina producida contenga finalmente menos del 1% de la parte filtrada, y no se eliminen sales, ni iones ni otros metabolitos potencialmente útiles. **Figura 1**

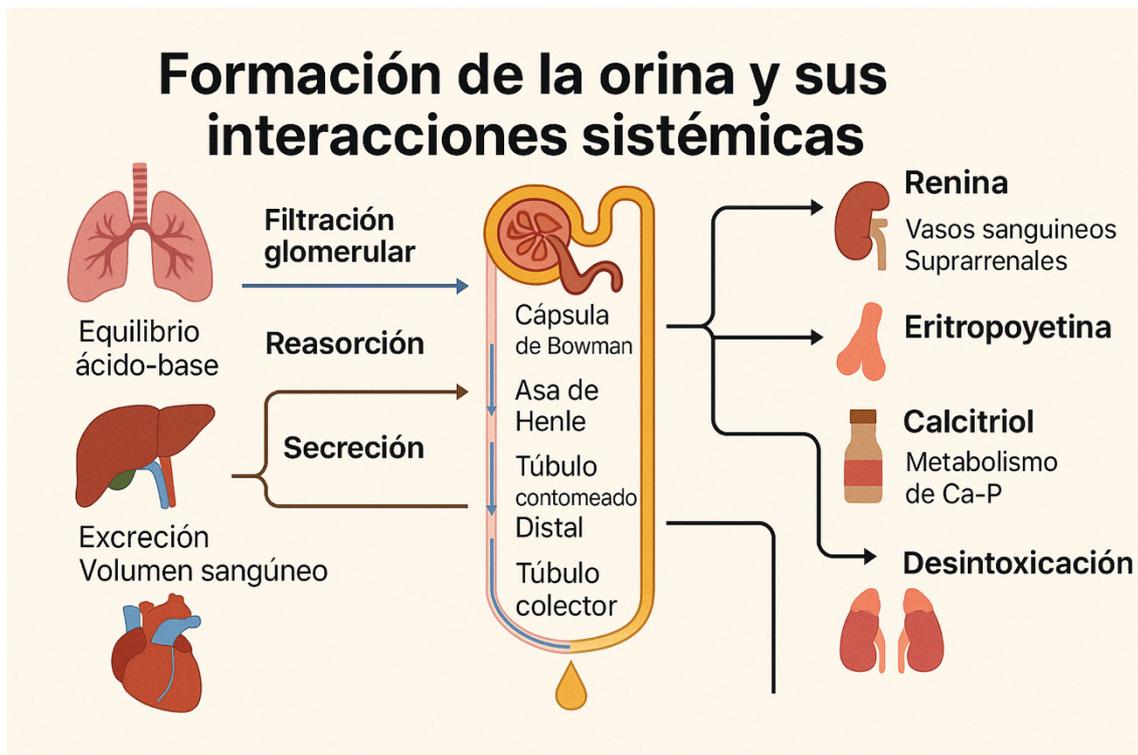


Figura 1 Formación de la orina y sus diferentes interacciones sistémicas.

La formación de orina se inicia en la cavidad glomerular o cápsula de Bowman, en la que se distinguen una capa parietal externa de epitelio escamoso simple, que contribuye únicamente al mantenimiento estructural de la cápsula glomerular, y una capa visceral, en la que la red capilar vascular y los podocitos que abrazan esta llevan a cabo la filtración del plasma para producir un “ultrafiltrado” compuesto de agua, glucosa, aminoácidos y desechos nitrogenados, que pasará a la cavidad glomerular y luego a los túbulos.

La filtración glomerular es un proceso pasivo dependiente de la presión hidrostática de la arteriola aferente que empuja la sangre contra la membrana de filtración glomerular. En esta membrana de filtración glomerular se lleva a cabo la producción del ultrafiltrado. Esta membrana de filtración consta del endotelio capilar fenestrado con poros que impiden el paso de células y proteínas, y de la membrana basal sobre la que este endotelio reposa. La presencia de colágeno de tipo IV y V, glicoproteínas, y proteoglicanos como el heparán sulfato en esta membrana basal

genera una carga electronegativa que repele proteínas y otras moléculas de carga negativa para impedir su paso a la cavidad glomerular y posteriormente al túbulo.

Abrazando los capilares se encuentran los podocitos que, apoyados sobre la membrana basal a través de sus “pies interdigitados” y en contacto con los pies interdigitados de los podocitos vecinos, forman diafragmas de ranura a través de los cuales las moléculas de pequeño tamaño y el agua pasan al túbulo. Este abrazo que ejercen los podocitos sobre los capilares glomerulares, en el que intervienen activamente los complejos actina-miosina del citoesqueleto de estas células, contribuye a modular la respuesta de los capilares a la presión hidrostática.

No obstante, la filtración glomerular no depende sólo de la presión hidrostática dentro de los capilares glomerulares (aproximadamente de 55 mmHg), sino de la diferencia de esta con la presión que ejerce el líquido dentro de la cápsula de Bowman (aproximadamente de 15 mmHg). La presión oncótica que ejercen las proteínas en el espacio intravascular (aproximadamente de 30 mmHg) será finalmente la responsable de una presión de filtración neta de 10 mmHg.¹

Controles intrínsecos dependientes de la arquitectura glomerular evitan fluctuaciones excesivas en la presión de filtración neta. Las células musculares lisas presentes en la pared de los capilares aferentes, a través de sus canales de sodio-calcio sensibles al estiramiento, se contraen frente a un aumento de la presión sistémica, disminuyendo la luz capilar, y con ello el flujo vascular. El descenso en la presión sistémica es capaz, por el mismo mecanismo de provocar la dilatación de los capilares aferentes. Con todo esto, la presión de filtración se mantiene constante y mantiene también constante una tasa de filtración glomerular de 125 ml/min en los varones y de 105 ml/min en las mujeres.

Además, existe un sistema de retroalimentación túbulo-glomerular que actúa cuando las células de la mácula densa en el túbulo contorneado distal detectan un incremento de sodio y/o cloruro en el líquido tubular, liberando estas células en respuesta sustancias vasoconstrictoras como adenosina, adenosintrifosfato (ATP, adenosine triphosphate, siglas en inglés) y/o tromboxano,

que provocan vasoconstricción de los capilares aferentes, y con ello un descenso de la presión capilar glomerular y de la filtración glomerular.

Manteniéndose una tasa de filtración constante, aproximadamente cada 22 minutos, la totalidad del plasma sanguíneo se filtra en los glomérulos, filtrando ambos riñones 180 litros de plasma al día. Sin embargo, hasta el 90% del agua y gran parte de los solutos filtrados se reabsorben a nivel tubular y transportan a los capilares peritubulares. En sentido contrario, desde los capilares peritubulares hacia la luz tubular, algunas sustancias se secretan. De esta manera, solutos importantes como la glucosa y los aminoácidos se recuperan completamente, mientras que la mayoría de los productos de desecho se secretan –independientemente de si estas toxinas son filtradas a nivel glomerular– y no se reabsorben.

2.1.2 Mecanismos de reabsorción y secreción tubular

Unos 30 g de proteínas y péptidos con peso molecular inferior a 70.000 Da atraviesan diariamente el glomérulo. Estos se recuperan en su totalidad en el túbulo proximal mediante un proceso de endocitosis que tiene lugar en el borde en cepillo de la cara apical del epitelio tubular.

La glucosa se reabsorbe en su totalidad utilizando transportadores luminales de sodio y glucosa (SGLT, sodium-glucose linked transporter, siglas en inglés) localizados en el segmento contorneado y segmento recto del túbulo proximal. Estos co-transportadores utilizan el movimiento del sodio por gradiente electroquímico para permitir que la glucosa unida a estos SGLT penetre en el interior de la célula tubular, y desde allí de nuevo los transportadores de glucosa la extraerán hacia el compartimento intravascular, para que entre por difusión en los capilares. No obstante, la saturación de estos intercambiadores de glucosa ligados al sodio depende del máximo de carga tubular de glucosa que puede soportar el sistema, que es de alrededor de 320 mg/min, cifra que si se sobrepasa conlleva a la aparición de glucosa en orina.

Aminoácidos y vitaminas son reabsorbidos también prácticamente en su totalidad en el túbulo proximal al igual que la glucosa mediante intercambiadores ligados al sodio localizados a nivel luminal. Como en el caso de la glucosa, todas las sustancias que se reabsorben en el túbulo utilizando estos transportadores tienen un tope máximo de cantidad de sustancia por unidad de tiempo que define la saturación del sistema de transporte de dicha sustancia. Y al respecto del co-transporte con sodio, se utiliza este catión por ser el más abundante en el ultrafiltrado, que es a su vez responsable de mantener una presión osmótica del líquido tubular similar a la del plasma.

El sodio es responsable de un gradiente electroquímico que favorece la entrada de este catión al interior de las células tubulares, y con él la entrada de los distintos solutos que se reabsorben por co-transporte (como se ha mencionado líneas más arriba). Los niveles de sodio en el líquido tubular se mantienen por la acción de la bomba de sodio-potasio-ATPasa basolateral, que consume hasta el 80% del total de la energía utilizada para el transporte activo a nivel tubular, y que se aprecia por la densidad de mitocondrias en el interior de las células a este nivel de la nefrona.

A lo largo del asa de Henle, la permeabilidad de las células del túbulo cambia, y esto es responsable de la capacidad para concentrar la orina en función de la dinámica de reabsorción de agua mediante un mecanismo de intercambio a contracorriente condicionado en gran medida por su disposición en forma de U, paralela al túbulo colector. La rama descendente larga que está formada por células epiteliales muy delgadas y con pocas mitocondrias, presenta una elevada densidad de acuaporinas que permite la reabsorción de agua. Aproximadamente un 20% del agua que llega a la rama descendente del asa de Henle será reabsorbida siguiendo un gradiente osmótico. El líquido tubular que va perdiendo agua en esta porción del asa de Henle, va concentrándose para luego llegar a la rama ascendente corta y seguir el proceso opuesto, reabsorbiéndose sodio, potasio y cloro con un co-transportador luminal específico de estos tres

iones, y reabsorbiéndose también calcio, bicarbonato y magnesio con otros transportadores específicos para estos solutos.

Un elemento muy importante en la reabsorción en el asa de Henle es la urea. La urea es el producto final principal del metabolismo proteico, y su excreción no sólo está determinada por su filtración a nivel glomerular, sino por la parte que se reabsorbe en la porción ascendente del asa de Henle, que contribuye a reabsorber más agua en la nefrona.

En lo referente a las funciones tubulares cabe distinguir la reabsorción de agua y solutos a nivel tubular distal y colector de cómo esta ocurre en el resto de la nefrona. Mientras que en el túbulo proximal y en el asa de Henle la dinámica de movimientos de solventes y solutos está condicionada únicamente por principios físicos y la disponibilidad de transportadores, en los túbulos distal y colector el agua y los solutos se reabsorben según los requerimientos homeostáticos y bajo una regulación endocrina. La hormona antidiurética (ADH, antidiuretic hormone, siglas en inglés) o vasopresina inhibe la secreción de agua y con ello la producción de orina al regular la cantidad de acuaporinas a través de las cuales se reabsorbe agua en el túbulo colector. Por ejemplo, cuando la osmolaridad del plasma desciende (situaciones de sobrehidratación), la hipófisis posterior secreta menos ADH y, como consecuencia, en los túbulos colectores desciende la actividad de las acuaporinas y se excreta más agua en la orina. Con el aumento de la osmolaridad plasmática ocurre todo lo contrario.

Los descensos en la presión sistémica y el aumento de la osmolaridad del plasma que estimulan al sistema renina-angiotensina-aldosterona, a través de la aldosterona sintetizada en la corteza de las glándulas suprarrenales, al unirse esta a sus respectivos receptores a nivel tubular distal y colector, provoca la reabsorción del 5% del sodio filtrado que no se reabsorbió a nivel tubular proximal ni en el asa de Henle, y la eliminación de potasio y cloro. Sin embargo, este 5% del sodio filtrado se reabsorbe por acción del péptido natriurético atrial (PNA) en las situaciones de sobrehidratación, en la que las fuerzas de cizallamiento sobre los miocitos auriculares estimulan

que estos produzcan PNA, que a su vez conduce a la disminución de la secreción de aldosterona y de ADH.

2.1.3 Secreción de sustancias en la formación de orina

Medicamentos (aquellos que se eliminan por vía renal) y metabolitos de desecho que se filtraron a nivel glomerular no se reabsorben a nivel tubular. No obstante, la mayoría de estas sustancias, así como las propias que resultan de la actividad metabólica de las células tubulares se secretan directamente hacia la luz tubular. La unión a proteínas de estos solutos impide su filtración a nivel glomerular, y esta es la razón por la que se eliminan por secreción tubular.

Metabolitos de desecho que se eliminan únicamente por vía renal, como sulfato de indoxilo (SI), ácido 3-carboxi-4-metil-5-propil-2-furanpropanoico (CMPF), sulfato de p-Cresil (PCS), ácido hipúrico (AH) y ácido indolacético, que van unidos de forma importante a la albúmina, son captados por las células tubulares por endocitosis, para previo a su eliminación por secreción, se rompan sus puentes de unión a proteínas.

2.2 Enfermedad renal crónica

2.2.1 Definiciones

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es una enfermedad progresiva que afecta a más del 10% de la población general en todo el mundo, lo que representa más de 800 millones de personas. Es más frecuente en personas mayores, mujeres, minorías raciales y en personas con diabetes mellitus e hipertensión. Representa una carga especialmente grande en los países de ingresos bajos y medios, que tienen menos recursos para hacer frente a sus consecuencias. Se ha convertido en una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo, como así también

de morbilidad, pérdida de la calidad de vida, desempleo, jubilaciones anticipadas, baja productividad, etc.). Según datos nacionales, afecta aproximadamente al 10% de la población adulta española, a más del 20% de los mayores de 60 años, y, además, seguramente está infradiagnosticada. **Figura 2**

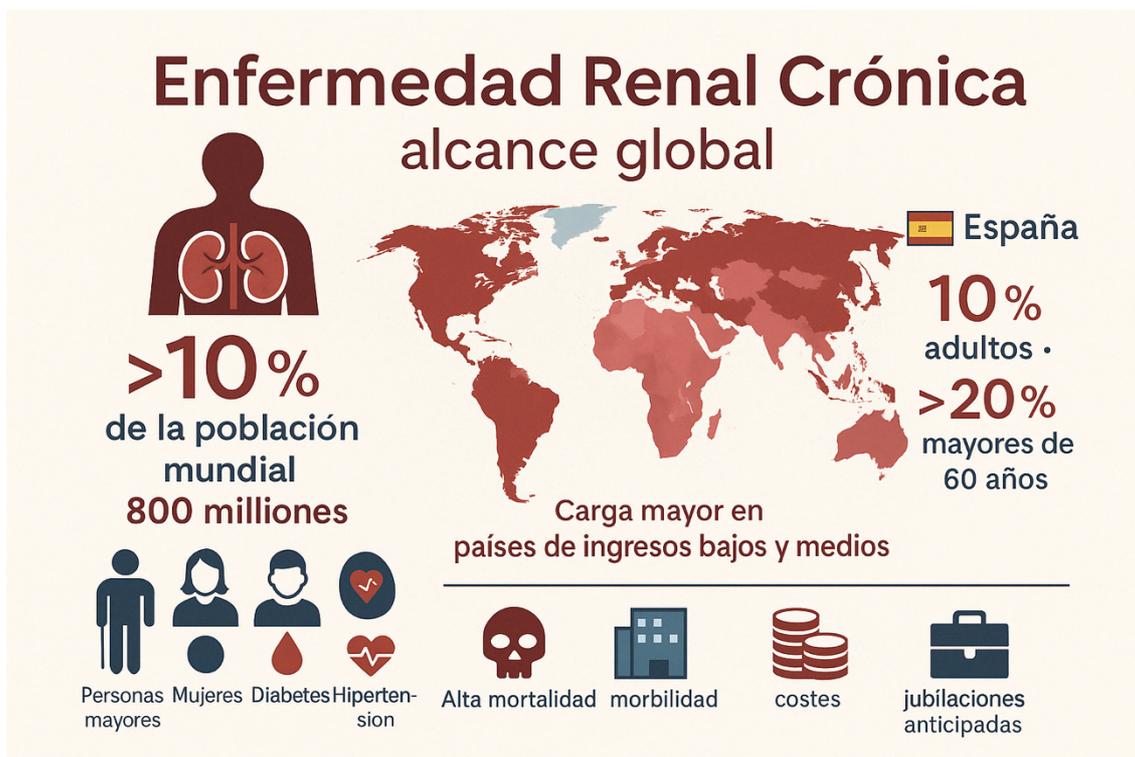


Figura 2, contexto clínico de la enfermedad renal crónica.

El problema de la ERC es que es asintomática hasta fases avanzadas. Una vez agotadas las medidas diagnósticas y terapéuticas de la enfermedad renal primaria, la ERC conlleva unos protocolos de actuación comunes y, en general, independientes de aquella. Brevemente, para su detección se aconseja realizar pruebas a las personas con riesgo de padecerla o que ya la padecen, utilizando tanto la medición de la albúmina en orina, como la evaluación de la tasa de filtración glomerular (TFG). En aquellos casos de detección incidental, incluida la hematuria, se aconseja repetir las pruebas para confirmar la presencia de ERC.

A continuación, se describen las causas más frecuentes de ERC avanzada (ERCA). Con frecuencia más de una causa coexisten y presentan potencian el daño renal:

- a) Nefropatía diabética, siendo esta la principal causa de inicio de Tratamiento Renal Sustitutivo (TRS).
- b) Enfermedad vascular arteriosclerótica, nefroangioesclerosis, nefropatía isquémica. Conceptos todos que tienen en común la presencia de hipertensión arterial.
- c) Enfermedad glomerular primaria o secundaria a enfermedad sistémica.
- d) Nefropatías congénitas y hereditarias.
- e) Nefropatías intersticiales.
- f) Obstrucción prolongada del tracto urinario (incluyendo litiasis).
- g) Infecciones urinarias de repetición.
- h) Enfermedades sistémicas (lupus, vasculitis, mieloma...).

La ERC en el adulto se define como la presencia de una alteración estructural o funcional renal (sedimento, imagen, histología) que persiste más de 3 meses, con o sin deterioro de la función renal; o un filtrado glomerular (FG) $<60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ sin otros signos de enfermedad renal.

Las guías KDIGO han introducido a los pacientes trasplantados renales, independientemente del grado de fallo renal que presenten. Se consideran marcadores de daño renal:

- a) Albuminuria y Proteinuria elevadas.
- b) Alteraciones en el sedimento urinario.
- c) Alteraciones electrolíticas u otras alteraciones de origen tubular.
- d) Alteraciones estructurales histológicas.
- e) Alteraciones estructurales en pruebas de imagen.

La gravedad de la ERC se ha clasificado en 6 categorías o grados en función del FG y 3 categorías de albuminuria. Esto es debido a que la proteinuria destaca como el factor pronóstico modificable más potente de progresión de ERC. El deterioro del FG es lo característico de los grados 3-5, no siendo necesaria la presencia de otros signos de daño renal. Sin embargo, en las categorías 1 y 2 se requiere la presencia de otros signos de daño renal. Se trata de una clasificación dinámica y en constante revisión. Esta clasificación, que va sufriendo ligeros cambios sutiles con el tiempo, tiene la ventaja de unificar el lenguaje a la hora de referirnos a la definición y magnitud del problema, definido previamente como ERC.

Por todo ello, la metodología para la medición del FG y la determinación de la proteinuria, son herramientas claves para el diagnóstico y manejo de la ERC. A cualquier nivel de FG el incremento de albuminuria conlleva mayor mortalidad cardiovascular y más rápida progresión de la enfermedad renal.

Brevemente debemos tener presente factores que pueden alterar la albuminuria y proteinuria. La hematuria, la menstruación, el ejercicio o las infecciones urinarias pueden incrementar este parámetro urinario.

2.2.2 Prevalencia

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud global, con una prevalencia en el mundo del 11-13% **figura 3**, y sobre la que se remarcan el elevado coste en salud y el muy elevado riesgo cardiovascular de los afectados.² En 2017, casi 850 millones de personas presentaban ERC,³ lo que puede atribuirse al incremento en la incidencia de diabetes, hipertensión, obesidad, y envejecimiento de la población,³ junto con las mejoras en el acceso a las terapias de reemplazo renal en países en vías desarrollo.⁴ Además, entre 1990 y 2017, la mortalidad mundial relacionada con la ERC aumentó un 41,5%, lo que la convierte en la

duodécima causa de muerte en todo el mundo,⁵ y se espera que pase a ser la quinta causa de muerte en el mundo en 2040. ⁶

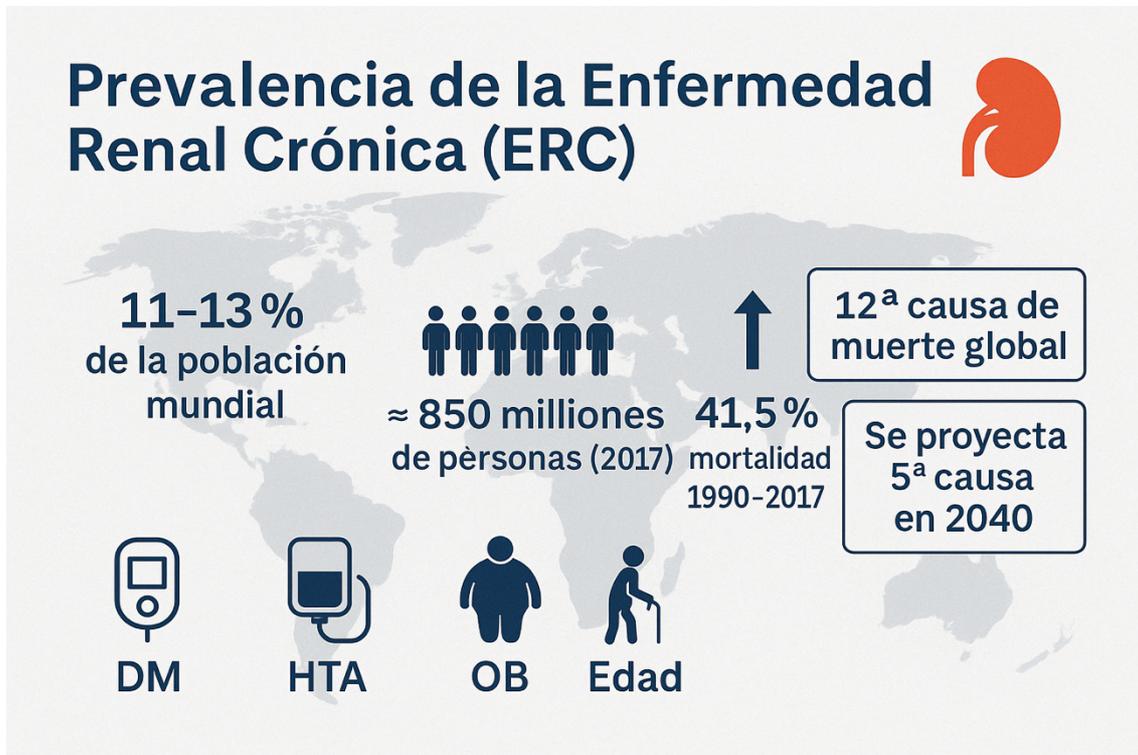


Figura 3. Prevalencia de la enfermedad renal crónica en el mundo.

2.2.3 Repercusión

Viendo que la enfermedad cardiovascular (ECV) es una de las principales causas de muerte en el mundo, la ERC se puede considerar por tanto un acelerador de la ECV y un factor de riesgo cardiovascular independiente.⁷ Resulta bien conocida la relación inversa entre ECV y filtrado glomerular, que es independiente de la edad y sexo, así como de otros factores de riesgo.⁸ No obstante, la influencia de innumerables factores sobre esta relación inequívoca es motivo de intenso estudio.

La ERC es un proceso biológico, naturalmente ligado al envejecimiento, aunque su vinculación con la edad cronológica de la persona es más bien relativa. Su señal de identidad es la sarcopenia,

definida como la pérdida de masa y fuerza muscular, con descenso de las reservas y de la resistencia al estrés.

La ERC se asocia directamente a un estado de fragilidad progresiva. Existen varias escalas para medir la fragilidad, siendo estos criterios predictores sensibles de efectos adversos tales como deterioro cognitivo, caídas con fracturas, sedentarismo, complicaciones cardiovasculares y finalmente hospitalización y muerte.

En este sentido, el manejo de los enfermos se asienta en los siguientes pilares:

- a) Actitud ante factores evitables o reversibles,
- b) Prevenir o retrasar la progresión de la ERC,
- c) Tratar las complicaciones inherentes a la enfermedad renal,
- d) Prevenir la nefrotoxicidad, y,
- e) Preparar al paciente para el TRS.

El manejo conservador de la ERC tiene como principal objetivo prevenir o retrasar la progresión de la enfermedad. Se trata, fundamentalmente, de medidas antiproteinúricas, incluyendo el tratamiento antihipertensivo. Asimismo, existe una amplia evidencia de que los pacientes con ERC padecen mayor riesgo cardiovascular, lo que se explica en parte por los factores de riesgo tradicionales (HTA, síndrome metabólico, diabetes, dislipemia, etc.) más los propios efectos del estado urémico. Por lo tanto, además de las medidas para retrasar la progresión de la ERC, hay dos áreas de actuación fundamentales en el manejo de estos enfermos:

- a) Prevención de las complicaciones propias del estado urémico, y,
- b) Manejo de los trastornos metabólicos asociados al daño renal y cardiovascular que ocurre con frecuencia en estos pacientes.

2.3 Toxinas urémicas

2.3.1 Concepto de toxicidad urémica

En paralelo con la pérdida progresiva de las funciones renales en la ERC, se producen una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas, que dan lugar al denominado síndrome urémico. Este síndrome urémico ocurre como consecuencia de la toxicidad inducida por la acumulación de productos metabólicos de desecho en el torrente sanguíneo.⁹ Estas sustancias de desecho que se acumulan se denominan colectivamente toxinas urémicas (TU), y son responsables de innumerables efectos fisiopatológicos adversos que incluyen inflamación, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, deterioro de la barrera intestinal y alteraciones de la microbiota intestinal.¹⁰⁻¹³ Las TU pueden afectar múltiples órganos y se asocian clínicamente al llamado síndrome urémico, que abarca una variedad de síntomas atribuidos a la acumulación de estas toxinas, tales como náuseas, vómitos, astenia, anorexia y prurito.¹⁴

Las TU son productos metabólicos de desecho normalmente eliminados por los riñones. Sin embargo, en pacientes con ERC, debido a la reducción del filtrado glomerular, a partir de tasas inferiores a 60 ml/min/1,73m² se produce la acumulación de TU en el torrente circulatorio.

La definición de TU se basa en dos aspectos:

- a) Son moléculas que se acumulan a medida que desciende la función renal, al ser el riñón su vía de eliminación, y,
- b) Su acúmulo es responsable de las manifestaciones clínicas de la ERC, pues desaparecen si se elimina esa toxina.

Por lo tanto, las TU se han definido como solutos normalmente excretados por los riñones que se retienen en la ERC e interactúan negativamente con las funciones biológicas.

Los niveles séricos de algunas toxinas pueden no guardar correlación con los niveles de creatinina. Esto puede explicarse tanto por la contribución diferencial en la cantidad de toxinas ingeridas o generadas, como por la reducción generalmente compartida en la depuración.

En este sentido, los solutos de retención urémica pueden representar moléculas derivadas de la ingesta de nutrientes (bisfenol A o la caramboxina) o productos del metabolismo como la creatinina.

2.3.2 Origen de las toxinas urémicas

Cada vez se reconoce más la importancia de las toxinas generadas por el metabolismo microbiano intestinal. Aproximadamente 10 g de proteínas alcanzan el colon diariamente, donde son degradadas por las bacterias intestinales a metabolitos como amonio, aminos, tioles, fenoles e indoles. Estos productos de la fermentación en el colon son eliminados por las heces, aunque una parte son absorbidos y deben ser eliminados por el riñón, por lo que se acumulan en la ERC.

La génesis de las TU se produce principalmente en el intestino, donde las proteínas de la dieta son metabolizadas por la microbiota intestinal, produciendo precursores que luego forman toxinas. Este origen intestinal subraya la creciente importancia del estudio de la microbiota intestinal para prevenir la ERC.¹⁵ Sin embargo, el origen de las TU incluye también la degradación de proteínas endógenas y bacterianas.¹⁶

La microbiota intestinal que conforman algo más de 100 trillones de gérmenes sufre cambios en la ERC, que se denominan en conjunto disbiosis. En estos pacientes, desde estadios iniciales, ocurre un aumento en el número de bacterias proteolíticas como *Clostridium* spp. y *Bacteroides* spp., y con ello un incremento en la producción de TU, que con el declive de la función renal no se eliminan y se acumulan.¹⁷

Un ejemplo muy demostrativo del papel que juega la alteración de la microbiota en los pacientes con ERC lo constituye el bisfenol A, que se ingiere con los alimentos adquiriéndose de los envases de plástico,¹⁸ y cuyos efectos en individuos sin patologías son neutralizados por una microbiota sana en la que predominan las “bacterias sacarolíticas”, por el contrario los pacientes en diálisis se ven expuestos a una mayor concentración de materiales con bisfenol A, generando esto un acumulo de su concentración a nivel sistémico¹⁹

Entre las TU derivadas de la microbiota intestinal en la ERC están:

a) Fenoles e indoles: p-cresol e indoxil sulfato, de los fenoles destacan el p-cresol, p-Cresil sulfato (PCS), p-Cresilglucurónido, el ácido fenilacético, fenil sulfato y fenol ²⁶. El p-cresol/p-Cresil sulfato son productos del metabolismo de la fenilalanina y la tirosina por bacterias anaerobias intestinales. El p-cresol es conjugado en la pared intestinal a PCS y el p-Cresil glucurónido en el hígado. El PCS es el principal metabolito circulante del p-cresol,

b) El P-cresol (4-metilfenol) tiene un bajo PM (108 Da) y es generado a partir del metabolismo de la tirosina y fenilalanina, dos aminoácidos aromáticos que se metabolizan por bacterias putrefactivas de la microbiota intestinal. El p-cresol se procesa mediante sulfatación y glucuronidación por la acción de la enzima sulfotransferasa contenida en el citoplasma celular a medida que pasa a través de la mucosa en la parte distal del colon y el hígado; este proceso luego genera dos compuestos, pC Sulfato y pC glucurónido. Estas sustancias se encuentran en forma conjugada y no conjugada, y en pacientes con ERC, su impacto clínico es diferente. El P-cresol está presente en pequeñas concentraciones en el ser humano, ya que se metaboliza rápidamente y no se detecta en pacientes urémicos, o en personas sanas en su forma no conjugada. Así, PCS (C₇H₈O₄S) es la forma conjugada del P-cresol con evidente retención en pacientes urémicos, que es la forma que circula en el torrente sanguíneo en estos pacientes. Alrededor del 95% del PCS se une reversiblemente en el plasma a la albúmina, y pronto se establece un equilibrio entre las fracciones ligadas y las fracciones libres de este compuesto en

la sangre. Las fracciones libres se filtran directamente en el riñón sano, mientras que su fracción unida a proteínas es eliminada por las células epiteliales tubulares proximales en el riñón. Es decir, ambas fracciones (ligadas a la albúmina o libres) son excretados por la orina.

El fenol procede fundamentalmente de la ingesta, del catabolismo de la tirosina por las bacterias intestinales, así como del consumo de tabaco. El ácido fenilacético es el resultado de la degradación de la fenilalanina.

Entre los indoles destacan el indoxil sulfato [IS] y el ácido indolacético. Ambos se originan de la degradación del triptófano por bacterias intestinales y posteriormente son sulfatados en el hígado a IS. Los indoles y fenoles son TU unidas a proteínas.

Aminas y poliaminas son generadas por el metabolismo microbiano intestinal. Una amina clínicamente relevante y de creciente interés es la trimetilamina N-óxido (TMAO). La TMAO se produce por el metabolismo intestinal de aminas cuaternarias, como colina/fosfatidilcolina, betaína o L-carnitina. La L-carnitina, presente en las carnes rojas, también induce la formación de TMAO y se asocia con un incremento de la enfermedad cardiovascular. Las fuentes de TMAO en la dieta son las carnes rojas, carnes en general, yema de huevo, hígado, productos lácteos y pescados de agua salada. En la ERC se acumula TMAO y sus niveles se relacionan con el filtrado glomerular, pero su unión a proteínas es baja, y se elimina bien mediante la diálisis.

Las poliaminas son cationes orgánicos entre los que se incluyen la cadaverina, espermina, espermidina y putrescina. Proceden de la decarboxilación de la L-arginina, L-ornitina o lisina en el intestino. En la ERC, la putrescina, espermidina y espermina están aumentadas en suero **32**. Se ha demostrado que estas moléculas interactúan con la insulina y las lipoproteínas, y contribuyen, con otros factores de comorbilidad de la ERC tales como la hipertrigliceridemia, a acelerar la aterosclerosis.

A partir de los nutrientes las vías para la producción de toxinas son:

- a) Vías metabólicas para la generación de la TMAO a partir de L-carnitina y colina de la dieta,
- b) Vías metabólicas para la generación de las TU p-cresil-sulfato y p-cresil-glucurónido a partir de la tirosina de la dieta,
- c) Vías metabólicas para la generación de las TU sulfato de indoxilo e indol-3-aldehído a partir del triptófano de la dieta. Las TU así generadas son excretadas por los riñones en sujetos sanos, pero se acumulan como TU en individuos con ERC. **Figura 4**

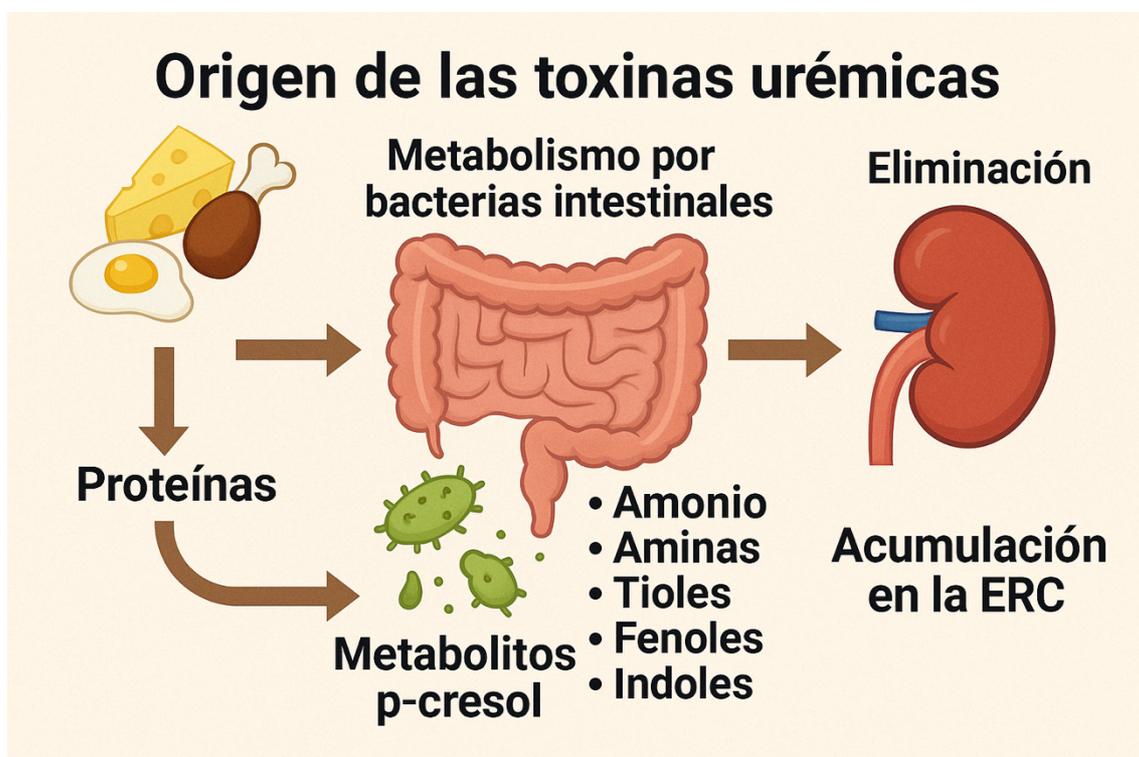


Figura 4, síntesis de las toxinas urémicas.

2.3.3 Caracterización y clasificación de las toxinas urémicas

Las TU viajan en el plasma en su forma libre y unidas a proteínas, atribuyéndose la toxicidad a la fracción libre.²⁰ Este aspecto se vuelve particularmente significativo en pacientes desnutridos, en quienes por la hipoalbuminemia presentan una mayor concentración de la fracción libre, que puede conducir a síntomas urémicos graves.

Y es que las TU son en realidad moléculas pequeñas, inferiores a 500 Da. Sin embargo, su unión a proteínas las confiere un peso molecular efectivo mayor. En este sentido, la albúmina que es la proteína más abundante en el plasma desempeña un papel crucial con sus dos sitios de unión: de alta y baja afinidad.²¹ La albúmina es una proteína muy versátil en su unión a las TU, como a otros compuestos, interaccionando a través de uniones hidrófobas, electrostáticas o mediante enlaces de hidrógeno, y pudiendo permitir alojar ligandos aniónicos, neutros y catiónicos. La estructura química del ligando, el pH y la presencia de otros ligandos definirán la fuerza de unión de estos con la albúmina.^{22,23} **Figura 5.**

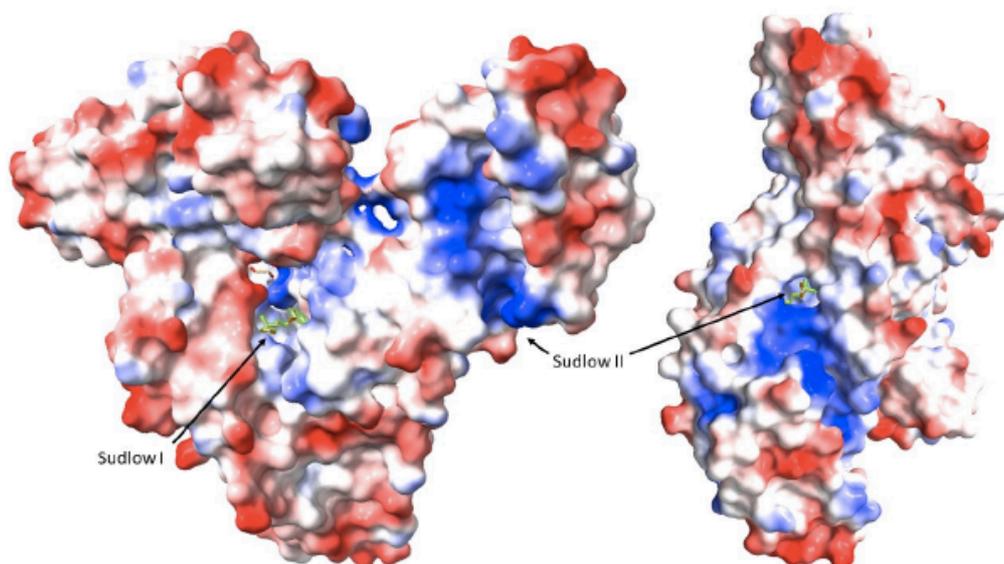


Figura 5, sitios de unión de las TU a la albúmina.

Por el tamaño de la molécula –indistintamente de si van o no unidas a proteínas– las TU pueden ser moléculas pequeñas o grandes. La elevada unión a proteínas de las TU ha hecho que el grupo europeo para el estudio de toxinas urémicas (EUTox) describa en 2003 un total de 25 toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP).²⁴ Las TUUP se subdividen además en diferentes grupos en función del compuesto inicial, a saber: fenoles, indoles, hipuratos, poliaminas, productos finales

de la glicación avanzada (PFGA) y, finalmente, dos péptidos, la leptina y la proteína transportadora de retinol (PTR).

Se establecen cinco criterios para clasificar un soluto orgánico como toxina urémica:

a) **Identificación y análisis químico:** el compuesto debe ser químicamente identificable, con un análisis cuantitativo factible en fluidos biológicos,

b) **Niveles elevados en la uremia:** los niveles totales y plasmáticos deben ser más altos en sujetos urémicos que en individuos no urémicos,

c) **Relevancia clínica:** las concentraciones elevadas deben guardar relación con disfunciones urémicas específicas y/o síntomas que disminuyen o desaparecen cuando se reduce la concentración de las sustancias a considerar como toxina urémica,

d) **Actividad biológica:** deben existir pruebas de la actividad biológica, consistente con los cambios clínicos observados en el síndrome urémico, demostrados en estudios in vivo, ex vivo o in vitro,

e) **Consistencia de la concentración:** las concentraciones en los estudios deben reflejar las concentraciones encontradas en fluidos corporales o tejidos de pacientes urémicos.

Y sobre la base de las propiedades fisicoquímicas de las TU capaces de influir en la depuración de estas sustancias mediante hemodiálisis convencional, EUTox ha propuesto la siguiente clasificación de las TU:**24**

a) **Toxinas hidrofílicas pequeñas (<500 Da):** incluyen compuestos como la urea (60 Da) y el ácido úrico,

b) **Toxinas de tamaño mediano (≥500 Da):** algunos ejemplos son la β2 microglobulina (11,8 kDa) y la hormona paratiroidea (9,5 kDa),

c) **Toxinas unidas a proteínas:** esta categoría abarca moléculas de bajo peso molecular, como SI y SC, unidas a proteínas plasmáticas en más del 80%.

No obstante, el conocimiento cada vez mayor de las TU, con más de 120 moléculas identificadas hasta la fecha (Lista de solutos urémicos: base de datos de solutos urémicos. Disponible en línea: <https://database.uremic-toxins.org/soluteList.php>), junto con los avances en las técnicas de hemodiálisis, ha hecho necesaria una reevaluación de la definición y clasificación de estos solutos.²⁵ Hoy en día, la clasificación actual se encuentra limitada por su inexactitud referente a la variabilidad de la unión a proteínas de las TU y su referencia únicamente a su eliminación vía hemodiálisis convencional. Será necesario reevaluar estas moléculas considerando factores como la compartimentación de solutos y estrategias alternativas para la reducción de la uremia como la preservación de la función renal residual, y el empleo de técnicas de adsorción y convección.

Debe remarcarse el papel de la diálisis. La hemodiálisis convencional elimina de manera efectiva las toxinas pequeñas (<500 Da), utilizando la difusión como mecanismo de transporte primario.²⁶ Si bien el transporte convectivo puede eliminar algunas de las TU de tamaño mediano (≥ 500 Da), el tamaño de estas moléculas constituye el principal límite para su eliminación.²⁷ Al respecto de las TUUP, su depuración se ve afectada negativamente debido a la menor concentración de toxinas no unida a proteínas en contacto con la membrana del dializador.

2.3.4 Efectos de las toxinas urémicas

Las clasificaciones fisicoquímicas actuales de TU no reflejan adecuadamente las consecuencias biológicas de las TU y no son capaces de identificar qué toxinas poseen mayor relevancia clínica. Wolley et al. revisaron el efecto de un grupo de TU, de un tamaño medio, con masas moleculares

mayores a 15 kDa. Los autores analizaron cómo estas moléculas están involucradas en enfermedades crónicas como inflamación, enfermedad cardiovascular, inmunodeficiencia secundaria, y síntomas sistémicos **Tabla 1**.

Órgano/tejido	Toxinas	Efecto
Endotelio	IS SI SI HIPP	Aumento de la senescencia Inhibición de H ₂ O-1 y disminución la producción de NO Aumento de la concentración de ICAM: MCP-1 factor tis Aumento de la adhesión de los leucocitos al endotélio
Fibra muscular lis. vascular	IS SI TMO	Aumento de la producción de endotelina-1 Aumento de la proliferación de células muscas lisas Aumento de la rigidez adidativo y producción de
Vasos	IS SI	Aumento de la fibroscidiativo y ríótrós, expresión denicalotnetaloporotaaas colággño- Aumento de la rigidez arterial, πρβοίς ωcilitía
Corazón	PCS IS SI	Aumento de desarrollo y crecimiento de miofibroblastos Aumento de la fibrosis miocárdica
Tejido cardíaco	IS	Modulación del automatismo distunciión endocárdica
Canales de calcio	IS	Alteración de la expresión génica de Beta-MHC y aumeid) cros bridge
Mitocondria	IS	Aumento del estrés oxidativo y producción de ROS
Riñón	IS, PC IS HAA	Aumento de la secreción de MCP-1, E-selectina, TGF-α, TNF-α y Snii Aumento del estrés oxidativo e inflamación
	PCS	Disminución del aclaramiento de creatinina le la expresión OCN Inhibición de la secreción de la matriz y mineralización
		Inhibición de la transcripcion y secreción de OCN, aumeto de la expresión f0F 23/ Disminución de la expresión de osteocalcina y osteonectina
Osteoblastos	IS PCS	Disminución de lipogénesis y lucha adipogenesis Modulación de la transcripción de PPAR gamma
Células endoteliales precursoras	IS IS	Disminución de la expresión de inhibidores de PI aés polimerización y diferenciación Disminución de la expresión ta diferenciación Mejora én etica

Tabla 1, efectos de las toxinas urémicas a nivel sistémico.

Los efectos demostrados de las diferentes TU se relacionan con mortalidad y deterioro de la calidad de vida. Los efectos más conocidos son:

- a) **Cardiovascular**: Disfunción endotelial. Proliferación del músculo liso vascular,
- b) **Riñón**: Progresión de la ERC,
- c) **Endocrino**: Resistencia a la insulina. Enfermedad mineral ósea,
- d) **Sistema inmunitario**: Deficiencia sistema inmune. Infección,
- e) **Hematología**: Trombogenicidad, anemia,

f) **Gastrointestinal:** Disbiosis intestinal,

g) **Neurológico:** Deterioro cognitivo, y,

h) **Nutrición/ músculo:** Aumento catabolismo proteico. Sarcopenia.

La acumulación de TU en la ERC es responsable de una serie de efectos sistémicos. Particularmente conocidas por su influencia nociva en varios tejidos, las TU afectan significativamente al sistema cardiovascular. Las TU están implicadas en la calcificación vascular, la anemia, la enfermedad arterial periférica, la enfermedad ósea adinámica, la resistencia a la insulina, la desnutrición y déficits del sistema inmunológico.**28**

La disfunción endotelial causada por las TU guarda estrecha relación con el desarrollo de ECV en pacientes con ERC. De esta manera se plantea la hipótesis que sustenta que la ERC se puede considerar un acelerador de la ECV. Las TU pueden causar daño estructural, inflamación y una disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio.**29,30** Además, la disfunción endotelial está asociada con la progresión de la ERC y con la albuminuria.**31** Los pacientes en diálisis muestran una respuesta endotelial marcadamente disminuida a los estímulos en comparación con individuos sanos, y esta respuesta reducida es evidente en varios parámetros de evaluación.**32**

Las TU pueden disminuir la producción de óxido nítrico por parte de las células endoteliales al inhibir la actividad y expresión de la óxido nítrico-sintasa endotelial.**33** Las TU actúan como agentes prooxidantes y proinflamatorios que se asocian con cambios en el sistema hemostático, aumento del estrés oxidativo y activación de monocitos. Esto conduce a un estado protrombótico a través de la activación de factores protrombóticos como el factor tisular y el factor Xa.**34** Traducidos a la clínica, los niveles elevados en suero de SI y SC pueden predecir la ocurrencia de eventos cardiovasculares y permiten estudiar el grado de inflamación endotelial, estrés oxidativo y calcificación vascular.**35**

La mayoría de las complicaciones cardiovasculares asociadas con la ERC son secundarias a la activación de vías pro-oxidativas (inflamatorias) a través de la activación del receptor de hidrocarburos arílicos, que se ha visto en relación con niveles elevados de SI **36** y niveles bajos del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, *epidermal growth factor receptor*, siglas en inglés).**37**

La acumulación de TU, particularmente SI, en cardiomiocitos está relacionada con una mayor producción de citocinas inflamatorias como interleuquina (IL)-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral (FNT)- α .**38** Estas toxinas se han asociado con efectos pro-arritmogénicos y fibrilación auricular. Los estudios también han mostrado cambios estructurales y funcionales en cardiomiocitos, incluida la contracción espontánea reducida e irregularidad después de la exposición a toxinas como SC.**39**

El déficit del sistema inmunológico está relacionado con niveles elevados de TU,**40** básicamente SI, SC y p-Cresilglucurónido.**41** Los niveles elevados en plasma de SI se han asociado con cambios en la cascada de coagulación, aumento del estrés oxidativo y activación de monocitos.**42** Esta molécula muestra una correlación positiva con la neopterina, una molécula generada por macrófagos y monocitos después de ser estimulada por interferón (IFN)- γ y producido por linfocitos T activados. Como resultado, se produce un aumento de la concentración de radicales libres de oxígeno y un aumento en la expresión de moléculas de adhesión celular, lo que promueve la interacción monocito-célula endotelial, y conduce a la inflamación vascular y disfunción endotelial.

En el riñón, la acumulación de SI puede conducir al deterioro de las nefronas renales restantes, afectando principalmente las células tubulares proximales, estimulando la glomerulosclerosis, y fibrosis renal. Este proceso contribuye a una mayor expresión de los genes del procolágeno α -1, factor de crecimiento transformante β -1 (TGF- β 1) y del inhibidor tisular de la

metaloproteinasa-1, lo que da lugar a una mayor pérdida de nefronas y, por lo tanto, acelera la progresión de la ERC.**43**

Los trabajos muestran que niveles elevados de SC en los riñones conducen a una mayor expresión de citocinas y genes pro-inflamatorios en las células tubulares renales, junto con la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y la transición epitelial-mesenquimal, que culmina en fibrosis y nefroesclerosis.**44** Por último, los niveles elevados de SC se asocian con una expresión reducida de Klotho a través de la metilación del gen Klotho, lo que contribuye a la senescencia de las células renales.**45**

2.4 Eliminación de toxinas urémicas

2.4.1 Probióticos y prebióticos

El consumo de probióticos, alimentos que contienen microorganismos vivos y van destinados a mantener una microbiota normal, y de prebióticos, alimentos que actúan como nutrientes de la microbiota, mejora la permeabilidad de la barrera intestinal, y con ello el paso de TU a la circulación, evitando sus innumerables efectos deletéreos.**17** Además, una microbiota sana en el que predominan las bacterias sacarolíticas resta espacio a las bacterias proteolíticas que se asocian a la producción de TU en el enfermo renal.

Una dieta rica en fibra que promueve la proliferación intestinal de bacterias sacarolíticas, favorece el aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta que son responsables fundamentalmente de mantener la integridad de la barrera intestinal.**17** Debe subrayarse que la disponibilidad de nutrientes para la microbiota constituye la manera más importante para modificar y revertir la disbiosis en los pacientes con ERC. No obstante, el consumo del espacio finito que tienen por ocupar las bacterias plantea el empleo combinado de probióticos y prebióticos a los fines de tratamiento.

Constituye un interesante campo de investigación el desarrollo de intervenciones encaminadas al tratamiento de la disbiosis en la ERC, que de momento avalan estudios observacionales.

Una dieta con un mayor contenido de vegetales modifica aún más la microbiota intestinal, lo que puede resultar en una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta y una menor producción de TU nefrotóxicas. Las dietas basadas en plantas y el índice de proteína/fibra de la dieta se asocian significativamente con los niveles séricos de IS y PCS, más allá de su conocida asociación con la función renal. La fibra de la dieta puede reducir la producción de estas toxinas al limitar la fermentación bacteriana proteolítica. Las modificaciones dietéticas hacia un índice de proteína-fibra más bajo pueden contribuir a reducir IS y PCS.

En los últimos años existe un interés creciente por restablecer la simbiosis de la microflora intestinal en la ERC a fin de reducir la generación de TU, el estrés oxidativo y la inflamación. Una dieta rica en fibra aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que proporcionan energía a la flora intestinal y permite que los aminoácidos que llegan al colon se incorporen a las proteínas bacterianas y sean excretados, en lugar de ser fermentados a solutos urémicos; además, los AGCC son utilizados como sustrato por la mucosa intestinal y mantienen su funcionalidad e integridad. La fibra aumenta el tránsito intestinal, reduciendo el tiempo de fermentación de los aminoácidos y mejora la composición de la microflora, reduciendo la producción de solutos indeseables.

En pacientes con ERC existe una relación directa entre el cociente proteína/fibra de la dieta y los niveles de PCS e IS, por lo que una dieta con un índice proteína/fibra menor podría ser beneficiosa. En sujetos sanos, una dieta vegetariana versus dieta omnívora, la primera reduce la generación de IS o PCS, lo que se relacionó con la mayor ingesta de fibra y menor de proteínas. Una dieta muy baja en proteínas (0,3 g/kg peso/día) suplementada con cetanoálogos de aminoácidos también reduce los niveles de IS en pacientes con ERC.

Otro enfoque para modular la producción de TU es la manipulación terapéutica de la composición de la microbiota intestinal. Varios ensayos clínicos en curso están explorando el impacto de cambiar la dieta o usar prebióticos (ingredientes alimentarios no digeribles), probióticos (microorganismos vivos) o simbióticos (una mezcla de ambos compuestos) en la composición de la microbiota.

El uso de antibióticos sobre la simbiosis de la microbiota resulta controvertida. En animales de experimentación, los antibióticos redujeron la producción de TU. Los efectos adversos potenciales del uso de antibióticos para este fin, tanto en el paciente individual como en la salud pública, pueden superar los beneficios potenciales. Sin embargo, los antibióticos no absorbibles crónicos están clínicamente indicados para otras afecciones asociadas con las toxinas generadas por la microbiota, como la encefalopatía hepática y los ensayos clínicos en la ERC que brindan información sobre el balance riesgo/beneficio pueden ser valiosos.

La generación de TU podría reducirse incrementando selectivamente las bacterias sacarolíticas (que digieren la fibra de la dieta) y reduciendo las bacterias proteolíticas (fermentadoras de proteínas y aminoácidos) en el colon. El principal regulador del metabolismo de las bacterias del colon es la disponibilidad de nutrientes y, específicamente, la tasa de hidratos de carbono fermentables versus nitrógeno.

Los prebióticos son componentes alimentarios no digeribles que, fermentando selectivamente, permiten cambios específicos en la composición o actividad de la microflora gastrointestinal que confiere beneficios a la salud y bienestar del huésped. Los probióticos estimulan el crecimiento o la actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon, pueden aumentar la tasa de hidratos de carbono fermentables versus nitrógeno, e incluyen la inulina, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, etc. La inulina enriquecida con oligofruktosa reduce la generación de PCS y sus concentraciones séricas en pacientes en HD, pero no tiene efectos sobre IS. El almidón resistente reduce los niveles de IS en pacientes en HD y reduce no

significativamente el PCS. En un modelo de ERC en ratas, una dieta rica en almidón resistente a la amilasa retrasaba la progresión de la ERC y atenuaba el estrés oxidativo y la inflamación. Actualmente un ensayo clínico, aleatorizado, cruzado, doble ciego, en fase 2 analiza el efecto de la suplementación de arabinoxilanoligosacáridos en pacientes con ERC estadios 3b-4 sobre los niveles plasmáticos de PCS y derivados del indol, sobre su excreción urinaria y la resistencia a la insulina.

Los probióticos se definen como «microorganismos vivos» que cuando se administran en cantidades adecuadas proporcionan un beneficio para la salud del huésped. Una reciente revisión evalúa los posibles beneficios de los probióticos en general y especialmente en la ERC. La eficacia de los probióticos para disminuir los niveles de TU y retrasar la progresión de la ERC ha sido investigada en modelos in vitro, modelos animales y en pacientes con ERC. Sin embargo, no existen hasta la fecha estudios de intervención de calidad a gran escala y sobre eventos clínicos que avalen su uso generalizado. Solo existen pequeños estudios que observan una disminución de los niveles de TU en su mayoría, aunque no en todos. La administración de *Bifidobacterium longum* en cápsula entérica a pacientes con ERC tuvo mínimos efectos sobre la progresión de la enfermedad en pacientes con ERC. Un ensayo aleatorizado, doble ciego en pacientes en diálisis peritoneal observó una reducción significativa de los niveles de endotoxinas y citocinas proinflamatorias en suero, un aumento en los niveles séricos de IL-10, y la preservación de la función renal residual tras 6 meses de tratamiento con un probiótico.

Los simbióticos son suplementos de probióticos combinados con prebióticos. En pacientes en hemodiálisis el tratamiento con un simbiótico disminuyó los niveles de PCS, pero no los de IS, lo que fue confirmado en otro estudio. Otro estudio observó un retraso en la progresión de la ERC con el tratamiento con un simbiótico, mientras otro estudio no observó una mejoría significativa de los marcadores de inflamación. Finalmente, un estudio aleatorizado, doble ciego, cruzado, en pacientes con ERC demostró una reducción de los niveles de PCS, un descenso no significativo

de IS y un aumento de bifidobacterias y reducción de rumicocáceas en heces, pero sin cambios en marcadores de inflamación, estrés oxidativo ni endotoxinas; aunque se observó un discreto aumento de la albuminuria.

Una de las principales limitaciones de la terapia con probióticos o simbióticos es que ningún estudio ha demostrado todavía la supervivencia sostenida de los probióticos en el colon disbiótico de los pacientes con ERC. Tampoco hay estudios que hayan evaluado el efecto de estos tratamientos sobre los niveles de TMAO en esta población. En la elección de probióticos debe considerarse la contribución de bacterias que poseen ureasa, ya que pueden incrementar la generación de amonio intestinal, que puede dañar las uniones estrechas epiteliales, aumentando la permeabilidad intestinal al paso de endotoxinas desde la luz intestinal.

Los PGA (productos de glicación avanzada) también pueden promover la toxicidad. Varios alimentos procesados son una fuente de PGA en la dieta. En este sentido, un ensayo reciente de restricción dietética de PGA en pacientes en diálisis peritoneal demostró una disminución de los PGA séricos, así como un cambio en la microbiota bacteriana.

2.4.2 El papel de la diálisis

La diálisis convencional sigue siendo la modalidad de tratamiento principal para la eliminación de TU. Sin embargo, la hemodiálisis convencional elimina por difusión de manera efectiva las toxinas pequeñas (<500 Da),²⁶ aunque podría eliminar algunas moléculas de tamaño mediano (≥ 500 Da). En este sentido, la elevada afinidad de las TU por proteínas plasmáticas representa un desafío para el manejo de la toxicidad urémica, sobre todo porque el tamaño de las moléculas limita su eliminación utilizando la difusión.

El transporte por difusión de solutos que es pasivo se produce por la diferencia de concentración entre dos compartimentos, dependiendo la cantidad de soluto que difunde de dos factores:

- a) Coeficiente de transferencia de masas, que es el producto de la permeabilidad de la membrana K_0 por su superficie A (definido por la resistencia a la difusión de cada soluto según su peso molecular), definiendo la capacidad máxima de la membrana para extraer un soluto determinado, es decir su eficacia depurativa, calculada en función del flujo sanguíneo (Q_b), del flujo de diálisis (Q_d), del aclaramiento (K), y,
- b) Gradiente de concentración, que es la diferencia de concentración de un soluto entre el compartimento sanguíneo y el del dializado (dializado y sangre circulan en contracorriente y en paralelo).

2.4.2.1 Importancia del tiempo

Uno de los factores más importantes en la eficacia para eliminar TU es el tiempo en diálisis. Sin embargo, en la literatura se hace referencia a la diálisis prolongada y frecuente, aunque no existen estudios exhaustivos que evalúen los resultados de estas a largo plazo en comparación con la clásica hemodiálisis convencional,⁴⁶ ni con la diálisis peritoneal, pudiéndose considerar todas estas a efectos de intervenciones similarmente eficaces.⁴⁷

Se entiende, por tanto, que sesiones de diálisis más largas permiten una eliminación más efectiva de TU.⁴⁸ Y es que cuanto más larga sea la sesión de diálisis, más fracción libre se eliminará. La disociación de la forma unida a proteínas requiere de más tiempo, la depuración de TUUP aumenta cuando se elimina la forma libre, y esto ocurre en sesiones de diálisis prolongadas.⁴⁹ Aumentando los flujos del dializado promoverá también mejores gradientes y favorecerá la eliminación de más TU.

Observaciones con diálisis prolongadas durante la noche mostraron una mayor eliminación de SI y SC.⁵⁰ Gran parte del problema también está en la lenta transferencia difusiva de las TU y en

el paso de estas desde las células al intersticio y a la sangre. La diálisis prolongada proporciona tiempo para esta transferencia.

2.4.2.2. Papel de la convección

La convección que agrega el poder del arrastre del agua a la eliminación de TU, sobre todo de aquellas moléculas que no son de pequeño tamaño (≥ 500 Da), e incluso de las TUUP, pone sobre relieve las potenciales mejoras que pueden hacerse sobre la difusión de la clásica hemodiálisis convencional para optimizar la eliminación de TU. No obstante, los estudios no muestran resultados que permitan concluir en una superioridad de la hemodiafiltración pre- ni post-dilucional sobre la diálisis convencional.⁵¹

El transporte de solutos que depende de la ultrafiltración, es decir, del efecto del gradiente de presión hidrostática, o del arrastre del agua para decirlo en términos simples depende de:

- a) Coeficiente de cribado de la membrana para un soluto determinado, que es la relación entre la concentración de un soluto en el ultrafiltrado y en el plasma, con valores próximos a 1 para solutos de bajo peso molecular, disminuyendo conforme aumenta el peso molecular,
- b) Concentración sanguínea del soluto, y,
- c) Presión transmembrana, que es el gradiente de presión que existe dentro del dializador entre el compartimento sanguíneo y el líquido de diálisis (depende de la presión oncótica de las proteínas no dializables, que tiende a retener agua en el compartimento sanguíneo y su valor medio es de 25-30 mmHg).

2.4.2.3 Dializadores con coeficientes de tamizado altos

La industria farmacéutica ha mejorado los dializadores optimizando el tamaño del poro y el diámetro interno para conseguir mayores volúmenes de sustitución y mejores aclaramientos. Gracias al desarrollo en el diseño de los dializadores se ha conseguido aumentar el volumen convectivo con el aumento del tamaño del poro o del diámetro de las fibras capilares. Manteniendo un coeficiente de ultrafiltración (CUF) superior a 40ml/h/mmHg y elevados coeficientes de cribado para la β_2 -m y mioglobina, pudiendo este proceso optimizar la eliminación de TUUP.

Centrados en las TUUP, se han adoptado distintos enfoques,⁵¹ aunque los avances en la tecnología de membranas y las técnicas de purificación son las que ganan más adeptos. Algunas membranas, especialmente aquellas con coeficientes de tamizado altos, destacan en mejorar la eliminación de TU. Será recomendable optimizar el rendimiento de los dializadores a la mínima superficie posible adecuando la prescripción del tratamiento.

Es importante destacar, no obstante, que ninguna membrana, independientemente de su alto coeficiente de tamizado, ha sido capaz de eliminar por completo las TU. Es posible demostrar una reducción en la fracción libre, pero con un impacto clínico muy modesto, ya que la fracción libre constituye una porción mínima de la cantidad total de TU.

En los últimos años, los perfiles de depuración de las membranas de hemodiálisis han experimentado mejoras significativas. Se deben considerar varias características en la evaluación de las nuevas membranas. Hay que considerar las tasas de permeabilidad, la naturaleza hidrófila o hidrófoba de las membranas, la capacidad de adsorción y el potencial eléctrico. Además, se debe medir el límite del peso molecular de retención y el coeficiente de área de transferencia de masa.

2.4.2.4 Otros intentos

Infundir albúmina en el dializado puede promover la unión de TU a la albúmina del baño.⁵¹ Esta podría ser otra manera para optimizar la eliminación de TU. Aumentando los flujos del baño, mejoraría la eliminación de TUUP. Esto plantea que las membranas de diálisis no son el factor limitante, sino la unión de la TU a las proteínas.

A modo de resumen, no hay que olvidar que la difusión es, la responsable de la eliminación de TU, que se optimiza aumentando el tiempo en las sesiones de diálisis, aumentando los flujos, mejorando la permeabilidad de las membranas, y quizás agregando albúmina en el baño.

2.4.3 Terapias adsorptivas

Las terapias de adsorción representan una estrategia innovadora para abordar la eliminación de TU en pacientes con ERC. A pesar de su eficacia, los costes, la biocompatibilidad y la saturación del material limitan su uso.

Estas terapias se basan en la capacidad de ciertos materiales adsorbentes para capturar selectivamente TUUP del torrente sanguíneo, y no sólo la fracción libre de determinada TU, debido a su alta afinidad por las TUUP. Cuando la sangre del paciente fluye a través de un dispositivo de terapia de adsorción, las TUUP se unen a la superficie adsorbente por fuerzas químicas y físicas, y una vez unidas no se desprenden, eliminándose toda la cantidad de TUUP que permita el dispositivo adsorbente hasta su saturación.⁵²

Entre los materiales adsorbentes utilizados se encuentra el carbón activado, que mejora significativamente la depuración de TUUP cuando se utiliza simultáneamente con hemodiálisis convencional.⁵³ El carbón activado tiene propiedades adsorptivas excepcionales.⁵⁴ Además del carbón, se han utilizado muchas otras moléculas, principalmente celulosas o polímeros. Por

ejemplo, se han utilizado cadenas de hexadecilo inmovilizadas en poros de celulosa con hemodiálisis convencional, lo que ha resultado en una disminución del 34% en la forma libre de SI.⁵⁵ CMK-3 es otro adsorbente nanoporoso a base de sílice y carbono que se ha encontrado muy eficiente en la eliminación de TUUP.⁵⁶ En líneas generales, todos estos adsorbentes favorecen la eliminación de TUUP.

Con la adsorción de TUUP, se plantea el abordaje del problema de la transferencia de TU desde el compartimento tisular a la sangre, que es un proceso muy lento. El aumento del tiempo en diálisis de momento es la solución y ya se ha probado sin el uso de adsorbentes.

A pesar de los prometedores beneficios de las terapias de adsorción, existen desafíos que deben abordarse, entre ellos, la optimización de los materiales adsorbentes, con el manejo de los posibles efectos secundarios, y la duración de la terapia. Se necesita más investigación para comprender plenamente el impacto de estas terapias en la calidad de vida de los pacientes con ERC.

El uso de sorbentes orales podrían disminuir las TU o endotoxinas circulantes de origen intestinal. El sorbente oral AST-120 disminuye los niveles de IS de forma dosis-dependiente. Además, se ha descrito una reducción de los niveles de IS, PCS o fenil sulfato y de estrés oxidativo en pacientes en hemodiálisis. Otros autores han descrito que la administración de AST-120 mejora la respuesta sanguínea a factores eritropoyéticos. El AST-120 mejora la disfunción de la barrera intestinal y disminuye los niveles plasmáticos de endotoxinas, marcadores de inflamación y estrés oxidativo en un modelo de ERC en ratas.

Aunque pequeños estudios controlados en animales de experimentación y estudios retrospectivos en pacientes han señalado un efecto nefroprotector de AST-120; un gran ensayo aleatorizado y controlado posterior en pacientes con ERC no lo pudo confirmar. Este estudio tenía algunas limitaciones metodológicas, pero también planteaba la posibilidad de que el objetivo de tratar unas TU específicas pudiera no ser suficiente. Sin embargo, otro estudio

retrospectivo sobre los efectos a largo plazo de AST-120 en pacientes con ERC estadios 3-5 objetivó una disminución del riesgo de progresión a diálisis, de mortalidad, de eventos cardíacos y de accidente vascular vs. aquellos pacientes que no lo recibieron.

Aunque se ha descrito un efecto beneficioso de sevelamer sobre IS y PCS en estudios in vitro, estudios in vivo en ratones o pacientes no han demostrado una reducción en los niveles de estas TU. Sin embargo, sevelamer sí reduce los niveles de endotoxinas y la inflamación sistémica en pacientes en hemodiálisis.

2.4.4 Impacto de la función renal residual

Es importante destacar también la importancia de la función renal residual (FRR). El riñón nativo elimina las TU principalmente como formas libres, mientras que las formas unidas a proteínas se eliminan como una pequeña fracción. A los efectos pertinentes, con la diálisis se ha intentado en realidad potenciar la eliminación de las formas unidas a proteínas. Es conocido el beneficio de mantener la FRR de los pacientes en diálisis, remarcando sobre todo la supervivencia de estos pacientes. Sin embargo, por pequeña que sea la FRR, esta contribuye a la regulación continua de los electrolitos, al control del volumen, a la producción de eritropoyetina y la eliminación de TU y otros solutos.⁵⁷

En lo referente a la depuración de solutos, es de particular importancia el papel que juegan los riñones nativos que son muy superiores a la hemodiálisis en la eliminación de varios solutos “no ureicos”, en particular aquellos que son de gran peso molecular, secretados por el riñón nativo.⁵⁸ Esto resulta especialmente tangible si se hace referencia a la efectividad de los dializadores para eliminar TU, sobre la base de su concepción que persigue una eliminación óptima de urea para acometer a dosis de diálisis Kt/V_{urea} adecuadas, que se calculan sobre la base de la cinética de la urea desde siempre.

Los niveles de TU serán inferiores en los pacientes con FRR respecto a aquellos que han perdido esta, sin importar la dosis de diálisis que reciban (K_t/V_{urea} 1,7 vs. 1,3).⁵⁹ La FRR proporciona un nivel adicional de depuración continua de TU, que no proporciona la hemodiálisis. La incapacidad de la hemodiálisis convencional para controlar eficazmente los niveles de TU puede contribuir al aumento del riesgo de ECV y mortalidad por todas las causas observado en la población de pacientes que han perdido la FRR.⁶⁰

Los esfuerzos encaminados a mantener la FRR es un aspecto clave. Una atención especial a los factores dietéticos que se sabe que contribuyen al daño renal (por ejemplo, proteínas, sal, precursores ácidos, daño oxidativo y agentes nefrotóxicos, tanto recetados como de venta libre) y una ingesta hídrica adecuada (considerando la reserva cardíaca de los pacientes) incidirán en una pérdida menos acusada de la FRR. A efectos a considerar en la FRR, la secreción tubular destaca sobre la filtración glomerular para la eliminación de TUUP.

La FRR ejerce efectos beneficiosos a través de la eliminación de toxinas urémicas, que no supera la diálisis, para la que la diálisis constituye una ayuda. Sin embargo, no conociendo el nivel de FRR en el que la eliminación de TU se vuelve insignificante, mantener esta es crucial.

2.5 Nuevos enfoques en la eliminación de toxinas urémicas

2.5.1 El concepto de desplazar toxinas urémicas

La definición que subyace al concepto de la unión de una determinada molécula a su correspondiente receptor que se emplea ampliamente en Farmacología, proporciona las explicaciones para entender el papel del “desplazador”, o cualquier molécula capaz de competir con otra por un determinado sitio de unión en la albúmina o cualquiera otra proteína plasmática.

En lo referente a las TU, cualquier otro ligando que desplace a una determinada TU de su sitio de unión en una proteína plasmática dada conllevaría a un aumento de la fracción libre de dicha TU, facilitando su eliminación, ofreciendo un nuevo enfoque terapéutico para los pacientes en diálisis.

La albúmina, la principal proteína transportadora en el plasma sanguíneo, tiene subdominios específicos que se unen a las TU a través de enlaces no covalentes. La competencia por estos sitios de unión por parte de determinados desplazadores adquiere protagonismo en la mejora de la eliminación de TU. En este sentido, es importante destacar la potencia con que estos desplazadores compiten con las TU por unirse a la albúmina, con diferencias a subrayar entre fármacos de una misma familia. El tiempo de vida media es otro factor que considerar en la decisión de usar uno u otro desplazador. **Figura 6**

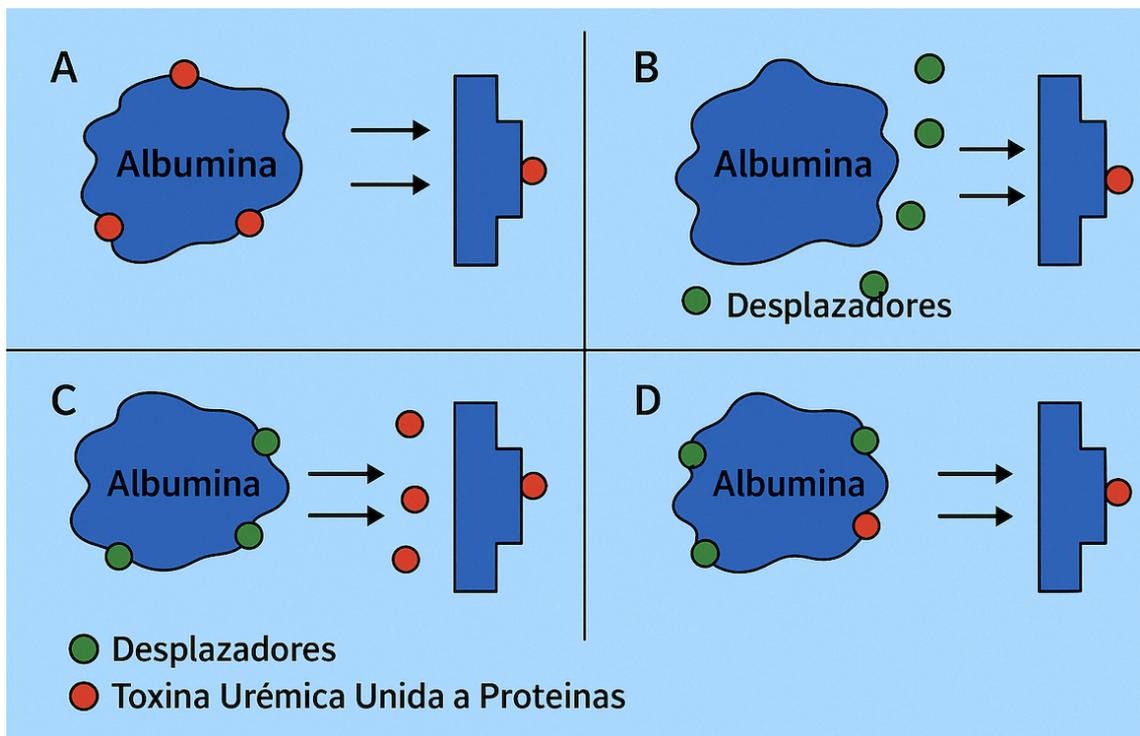


Figura 6, acción de los desplazadores sobre los sitios de unión de la albúmina.

Sulfato de indoxilo, ácido indolacético y ácido hipúrico constituyen ejemplos de TU con, respectivamente, elevada, media y baja afinidad por la albúmina, que pueden desplazarse infundiéndose a los pacientes ibuprofeno, triptófano o furosemida durante sus sesiones de diálisis, con una previsible mayor eficacia combinando desplazadores.**61** No obstante, existe todavía bastante reticencia para el uso de estos desplazadores en la clínica, siendo en su mayoría estudios preclínicos los que aportan el grueso de argumentos para instaurar el empleo de desplazadores con pacientes en la práctica clínica.**62**

2.5.2 Potenciales desplazadores

Ibuprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) con una alta capacidad de unión a proteínas, que es capaz de desplazar eficazmente las TU unidas a proteínas como SC y SI. Se han desarrollado membranas de celulosa embebidas con ibuprofeno, que muestran un aumento de 1,2 veces la eliminación de TUUP. Otra alternativa sería la perfusión de ibuprofeno, con los riesgos potenciales asociados.**63**

Furosemida es un diurético de asa que muestra una alta afinidad por la albúmina pudiendo aumentar la fracción libre de ciertas TU, tales como el AH. Combinado con ibuprofeno, se han observado mejoras en el desplazamiento de TU como el SI.**61**

Triptófano al ser precursor del SI en el metabolismo de la microbiota intestinal, comparte similitudes estructurales con algunas TU, lo que influye importantemente sobre todo en su unión a la albúmina.**64**

Los ácidos grasos no esterificados (AGNE) han demostrado una alta capacidad para aumentar la fracción libre de TU.**65** Sin embargo, se requieren altas concentraciones de estas moléculas para lograr este efecto, lo que puede predisponer a los pacientes a efectos adversos, particularmente de hemólisis.

Los ácidos salvianólicos, entre los que se encuentran el ácido litospérmico (AL), el ácido salvianólico A (SaA), el tanshinol, el ácido cafeico (AC), el ácido salvianólico B (SaB), el aldehído protocatecuico (AP) y el ácido rosmarínico (AR), son moléculas con alta afinidad por la albúmina, lo que aumenta significativamente la concentración libre de TU, con dependencia de su concentración plasmática **66, Tabla 2.**

Displacer	Effect on PBUT Removal	Considerations
Ibuprofen (1 mM)	Free fraction of IS and pCS increased by a factor 3 No impact on HA removal	Handling high doses can be a risk for HD patients
Furosemide (1 mM)	Free fraction of IS and pCS increased by a factor of 1.3 HA by a factor of 1.5	Side effects such as ototoxicity
Ibuprofen + Furosemide	Increased the removal of IS by a factor of 3 and IAA by a factor of 2	Enhanced PBUT displacement but increased the risk of side effects
Tryptophan (1 mM)	Free fraction of IS and pCS increased by a factor of 2.0 No impact on HA removal	Could increase uremic syndrome
Non-esterified fatty acids (NEFAs)	High capacity to increase free fraction of IS and pCS	High doses required Risk of hemolysis
Salvianolic acids	In vitro, increased the dialysis efficiency of IS and pCS by 99.13% and 142.00%, and in vivo (rats), by 135.61% and 272.13%	Need to test these results in patients

Tabla 2, Efectos in vitro de varios desplazadores en terapias de diálisis.

Si bien los estudios experimentales han mostrado resultados prometedores con los desplazadores arriba mencionados, su eficacia clínica y seguridad no están completamente definidas. Se requieren ensayos clínicos exhaustivos para validar su eficacia en la reducción de los niveles de TU a lo largo del tiempo.⁶⁷ Los posibles efectos secundarios y las limitaciones clínicas del uso a largo plazo de algunos desplazadores, como el ibuprofeno y la furosemida, requieren una consideración cuidadosa de su aplicación.

2.5.3 Valoración del impacto de la función renal residual

La FRR, definida como la capacidad de los riñones nativos para eliminar agua y toxinas urémicas, se encuentra estrechamente relacionada con la mortalidad y morbilidad tanto entre los pacientes en HD como en DP, al conservarse en estos una depuración continua de sustancias. A estos efectos, la preservación de la FRR se considera uno de los objetivos principales al que apunta el tratamiento de los pacientes con ERC terminal dependientes de terapia renal sustitutiva (TRS).**68**

Muchos factores, como la causa de la ERC, las comorbilidades (en especial las cardiovasculares), factores propios del tipo de TRS que utilizan los pacientes (HD o DP), la dieta y el consumo de agentes nefrotóxicos, influyen en la pérdida de la FRR. Por sus implicaciones pronósticas, la enfermedad poliquística, la nefropatía diabética y las glomerulonefritis, respectivamente, pueden asociarse a una pérdida más acusada de la FRR que otras causas de ERC.**69** La HD se asocia a una pérdida más acusada de la FRR que la DP. Sin embargo, debe remarcar el impacto del empleo de soluciones para los intercambios de DP libres de productos de degradación de la glucosa (PDG), y de la disminución de la incidencia de peritonitis sobre la conservación de la FRR.**68** Resulta particularmente importante el control del volumen en los pacientes en HD que apunta al tratamiento con diuréticos para preservar la FRR.**70**

La FRR debiera medirse con fines de su valoración. No obstante, una vez iniciada la TRS ninguna de las fórmulas ampliamente utilizadas para medir el FG, como MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*, siglas en inglés) o la ecuación de Cockcroft-Gault, encuentran ya utilidad. En este sentido, las pautas NKF-KDOQI (*National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*, siglas en inglés) recomiendan medir la FRR calculando la media de creatinina en orina de 24 horas y el aclaramiento de urea en ml/min/1,73 m² o lt/semana/1,73 m², tanto para pacientes en HD como en DP. Sin embargo, moléculas de tamaño medio como la cistatina C, β₂-microglobulina y el fragmento de agrina C-terminal, que son resistentes a su eliminación

mediante diálisis convencional, y también el bicarbonato sérico y el ácido úrico, podrían emplearse para medir la FRR.**68** Sin apenas aplicación en la clínica, algunos especulan que la FRR también podría medirse con iohexol, inulina, iotalamato y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

En números, un aclaramiento residual de urea de 1 ml/min se traduce en una mejor supervivencia que un aclaramiento de urea en HD de 1 ml/min, lo que se puede explicar por una mayor eliminación de moléculas de tamaño mediano y un mejor control del volumen por parte de los riñones nativos.**71** La contrapartida a lo anterior se aprecia en que una disminución de la FRR en el primer año en los pacientes en HD se asocia con un aumento en la mortalidad por todas las causas en estos pacientes.**72** Quizás con sesiones de diálisis menos frecuentes y más cortas se conserve mejor la FRR y por más tiempo.**73** Los resultados de la investigación en pacientes en DP siguen la misma dirección, y tanto de HD como en DP se subraya el impacto de conservar la FRR en un mejor control de las cifras tensionales, una mejora de la hipertrofia ventricular izquierda, inflamación sistémica, malnutrición, anemia y metabolismo óseo-mineral.**68**

Llegados a este punto, es importante aclarar lo que debemos considerar como FRR, que va más allá de la mera conservación de la diuresis en los pacientes en diálisis como clásicamente se ha entendido. En este sentido, resulta cada vez más evidente el alcance del transporte tubular, que es la vía a través de la cual se excretan aquellas TU unidas a proteínas que no se pueden eliminar por filtración a nivel glomerular.

Sin embargo, con la intención de querer medir el efecto de la FRR en la eliminación de TU y basados en el aclaramiento de urea residual, se pueden proponer límites para comparar pacientes por encima y por debajo de estos límites y con pacientes sin FRR.**74** No hay que olvidar que la función “remanente” de los riñones nativos sigue siendo muy superior a la hemodiálisis

en la eliminación de TU, que lleva a plantear la hipótesis de que incluso un grado “clínicamente insignificante” de FRR influiría de forma importante en el aclaramiento de TU.**74**

Entender que la FRR no se considera actualmente para adecuar la dosis de diálisis de los pacientes.**75** Ha de mencionarse que, en la práctica clínica actual, el desarrollo de los dializadores reposa sobre la base de una óptima eliminación de urea y no considera la eliminación de otros solutos.**76**

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La unión de ciertas toxinas urémicas a proteínas plasmáticas, en particular la albúmina, complica su eliminación mediante cualquier tipo de hemodiálisis en la enfermedad renal crónica (ERC). Dentro de las estrategias usadas para su depuración se encuentra el mantenimiento de la función renal residual, las terapias de adsorción y el uso de desplazadores, como el ibuprofeno, la furosemida y el triptófano. Por diferentes mecanismos todas ellas permiten la separación de estas toxinas y permiten su eliminación. La orina de los pacientes en diálisis, sobre todo en HD incremental y el uso de diuréticos de asa actuando como desplazadores incrementarán la depuración de estas toxinas.

3.1 Objetivo principal

-Evaluar el papel en la eliminación de toxinas unidas a proteínas de:

- a) La orina en pacientes con función renal residual.
- b) Los diuréticos de asa furosemida y torasemida al desplazar las TU de su sitio de unión a la albúmina, y así optimizar su eliminación en diálisis.

3.2 Objetivos secundarios

- a) Comparar las concentraciones de TUUP en una población heterogénea de pacientes con diferentes grados de FRR versus pacientes en HD con FRR en HD incremental
- b) Analizar la eliminación de TUUP en la orina de pacientes en HD.
- c) Confirmar la diferencia de concentración sérica de TUUP entre pacientes con HDF en línea vs incremental.
- d) Confirmar las variaciones de TUUP antes y después de cada sesión de diálisis, con HD en línea.

e) Confirmar las diferencias de TUUP antes y después de la HD en pacientes tratados con diuréticos de asa como furosemida y torasemida.

f) Ver las diferencias en las concentraciones séricas de TUUP en pacientes con y sin diuréticos de asa.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Población a estudio

4.1.1 Estudios realizados

El presente trabajo de tesis doctoral, está fundamentado en pacientes con Enfermedad Renal Crónica (ERC) en sus estadios más avanzados, que necesitan de tratamiento con terapia renal sustitutiva, en este caso, la hemodiálisis. Por lo tanto, la investigación que aquí se presenta representa un esfuerzo dedicado a comprender mejor las particularidades de este grupo de pacientes, buscando estrategias que permitan una mejor atención para los pacientes que reciben tratamiento con hemodiálisis y, en última instancia, mejorar su pronóstico y calidad de vida.

La presente línea de investigación reconoce la hemodiálisis no como una terapia uniforme, sino como un espectro de modalidades terapéuticas, en la que cada una con sus propias características y potenciales ventajas e inconvenientes contribuyen a mantener la estabilidad clínica de los pacientes que reciben tratamiento con estas técnicas. Se parte de la premisa de que la optimización de la hemodiálisis requiere un enfoque personalizado, que considere las particularidades de cada individuo y su contexto clínico específico. Dentro de estas particularidades, se presentan dos elementos centrales en el diseño de esta tesis: la función renal residual (FRR) y la modalidad de hemodiálisis empleada. La FRR, entendida como la función renal remanente que persiste a pesar de la ERC avanzada, representa un factor de variabilidad interindividual de gran relevancia, con un impacto demostrado en la eliminación de toxinas urémicas, el control del volumen y el equilibrio electrolítico. Por otro lado, la modalidad de hemodiálisis, ya sea la convencional en línea o la incremental, introduce otra variable de heterogeneidad, con implicaciones potenciales en la eficacia depurativa, la tolerancia clínica y la calidad de vida de los pacientes.

Para abordar esta complejidad, la investigación se estructuró en torno a tres estudios interrelacionados, cada uno diseñado para explorar facetas específicas de la interacción entre la

población de pacientes con ERC, la FRR y la modalidad de hemodiálisis. El **Estudio 1** se estableció como el punto de partida, enfocándose en una cohorte heterogénea amplia de pacientes con FRR variable, sometidos a hemodiálisis convencional en línea. Este estudio buscó caracterizar la eliminación de toxinas urémicas en este contexto clínico común, sirviendo como referencia para las comparaciones posteriores. El **Estudio 2**, en cambio, se centró en el terreno de la hemodiálisis incremental, una modalidad menos intensiva de diálisis, en pacientes con FRR significativa desde el punto de vista del aclaramiento de toxinas urémicas. La pregunta central aquí fue si la hemodiálisis incremental, con su menor frecuencia de sesiones, podía ofrecer una eficacia depurativa comparable a la hemodiálisis convencional en pacientes con función renal remanente. Finalmente, el **Estudio 3** abordó un escenario clínico desafiante: pacientes anúricos, es decir, aquellos que han perdido prácticamente por completo su función renal y, por ende, carecen de FRR. En este grupo, también bajo hemodiálisis convencional, se investigó una estrategia farmacológica innovadora: el uso de diuréticos de asa como agentes desplazadores de toxinas urémicas, buscando optimizar la eliminación de estas sustancias en ausencia de función renal fisiológica. A través de estos tres estudios, la tesis doctoral se propone construir una imagen completa y detallada de cómo la FRR y la modalidad de diálisis desempeña un papel importante para modular la eficacia de la hemodiálisis en la eliminación de toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP), con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes con ERC avanzada. La población estudiada, lejos de ser un conjunto homogéneo, se presenta con la diversidad clínica que la caracteriza, demandando un abordaje científico riguroso y sensible a las necesidades específicas de este grupo de pacientes.

4.2 Criterios generales

Para asegurar la validez y pertinencia de los resultados obtenidos en esta investigación, se definieron una serie de criterios de inclusión generales que todos los pacientes debían cumplir

para ser considerados elegibles y participar en el estudio. Estos criterios, que se detallan a continuación, fueron fundamentales para garantizar la homogeneidad de la muestra y la robustez de las conclusiones.

Edad: Se incluyeron pacientes mayores de edad, es decir, con 18 años o más. Este criterio demográfico fue esencial para asegurar que la población estudiada correspondiera a adultos, el grupo poblacional típicamente afectado por la Enfermedad Renal Crónica (ERC) en estadios avanzados y que requiere tratamiento con hemodiálisis.

Tratamiento con hemodiálisis crónica: Se consideraron para el estudio aquellos pacientes que estuvieran recibiendo tratamiento de hemodiafiltración en línea o hemodiálisis incremental, según correspondiera a cada caso. Un aspecto crucial fue que este tratamiento debía tener una duración mínima de 6 meses previos a su inclusión en el estudio. Este período temporal fue establecido para asegurar que los pacientes se encontraran en una fase estable de su tratamiento de hemodiálisis crónica. Un período de tratamiento de al menos 6 meses minimiza la posible influencia de la fase inicial de la hemodiálisis, un momento en el que los pacientes pueden experimentar ajustes fisiológicos y clínicos significativos. Además, este criterio temporal garantiza que los pacientes estén familiarizados con el régimen de diálisis y que los datos obtenidos reflejen una situación clínica crónica y estable. La inclusión de pacientes en ambas modalidades de hemodiálisis (en línea e incremental) reflejó la intención de abarcar la diversidad de la práctica clínica habitual en el tratamiento de la ERC, permitiendo analizar las posibles diferencias entre estas modalidades en relación con los objetivos de la investigación.

Expectativa de vida: Se consideraron elegibles aquellos pacientes que no presentaran ninguna causa clínica que sugiriera una expectativa de vida inferior a 6 meses. Este criterio, de naturaleza ética y metodológica, fue fundamental para asegurar que la participación en el estudio no supusiera un riesgo indebido para los pacientes. Asimismo, garantizó que los resultados obtenidos fueran relevantes en el contexto de pacientes con una perspectiva de tratamiento

crónico. La exclusión de pacientes con expectativa de vida limitada, habitualmente asociada a otras comorbilidades o condiciones clínicas graves, permitió enfocar el estudio en pacientes que se beneficiarían potencialmente de la investigación y que podrían completar el período de seguimiento establecido.

4.3 Criterios particulares de cada estudio

Una vez definidos los criterios de inclusión generales, se procedió a la conformación de tres cohortes de pacientes, tal y como se describió previamente. Cada una de estas cohortes se caracterizó por criterios específicos, definidos en base a la función renal residual (FRR) de los pacientes y la modalidad de hemodiálisis recibida. Esta estratificación fue esencial para abordar las preguntas de investigación específicas y analizar las potenciales diferencias entre los grupos de pacientes con perfiles fisiopatológicos distintos.

4.3.1 Estudio 1: Análisis de TUUP en una población heterogénea de pacientes en hemodiálisis.

Tamaño de la Cohorte: Esta cohorte estuvo conformada por un total de 148 pacientes. Este tamaño muestral, permitió obtener una potencia estadística adecuada para detectar diferencias significativas en los parámetros de interés y, por lo tanto, obtener conclusiones robustas.

Criterios de Selección: Los pacientes incluidos en esta cohorte cumplían los siguientes criterios específicos:

Función renal residual: Pacientes seleccionados independientemente de si presentaban FRR o no, definida clínicamente como un aclaramiento de urea medido menor o igual a 1,5 ml/min. Este umbral de aclaramiento de urea fue el propuesto en el estudio HEMO (74) como un

indicador de función renal residual significativa, aunque disminuida. La diuresis, además de otros parámetros fue recogida, pero no analizada.

Diuresis diaria: Pacientes con diuresis variable lo que hace que la muestra sea heterogénea, la mayoría de los pacientes eran anúricos.

Modalidad de hemodiálisis: Pacientes en hemodiafiltración en línea (HDF en línea). La hemodiafiltración en línea es una modalidad frecuente de hemodiálisis, caracterizada por la utilización de dializadores de alta eficiencia y la realización de sesiones de diálisis típicamente tres veces por semana. La inclusión de pacientes en hemodiálisis convencional permitió estudiar este grupo poblacional de manera específica y obtener resultados relevantes para la práctica clínica habitual.

Centros Participantes: La participación de dos centros hospitalarios diferentes incrementó la representatividad de la muestra y redujo el riesgo de sesgos asociados a un único centro. Los pacientes de esta cohorte procedían de dos centros hospitalarios de Madrid:

- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz de Madrid: Este hospital aportó una parte significativa de los pacientes de esta cohorte (n=48).
- Centro de Diálisis Santa Engracia de la Fundación Renal Española: Este centro de diálisis, perteneciente a una institución de referencia en Nefrología, contribuyó con la mayoría de los pacientes de esta cohorte (n=100).

4.3.2 Estudio 2: Análisis de TUUP en una población con diálisis incremental

Tamaño de la Cohorte: Este grupo estuvo conformado por un total de 29 pacientes. El tamaño de esta cohorte es menor que el del estudio 1, reflejando la menor prevalencia de pacientes en hemodiálisis incremental.

Criterios de Selección: Los pacientes incluidos en esta cohorte cumplían los siguientes criterios específicos:

Función renal residual: Pacientes con FRR, definida por un aclaramiento de urea medido mayor de 1,5 ml/min. Este umbral superior de aclaramiento de urea, en comparación con el estudio 1, definió un grupo de pacientes con una función renal residual preservada. La selección de pacientes con este nivel de FRR permitió investigar el impacto de una función renal residual más significativa en el contexto de la hemodiálisis incremental.

Diuresis diaria: Pacientes con diuresis diaria de al menos 500 ml. Al igual que en el estudio 1, este criterio de diuresis mínima aseguró que los pacientes tuvieran una capacidad residual de excreción urinaria. La combinación de un aclaramiento de urea alto y una diuresis mínima de 500 ml definió un grupo de pacientes con FRR presente y relativamente preservada, lo que es relevante para el estudio de la hemodiálisis incremental.

Modalidad de hemodiálisis: Pacientes en hemodiálisis incremental. La hemodiálisis incremental es una modalidad menos intensiva de hemodiálisis, caracterizada por la realización de sesiones de diálisis con menor frecuencia (típicamente 1 o 2 veces por semana) en comparación con la hemodiálisis convencional. La inclusión de pacientes en hemodiálisis incremental permitió estudiar este grupo poblacional específico y analizar las posibles ventajas y desventajas de esta modalidad en relación con la función renal residual y otros parámetros de interés.

Centro Participante: Los pacientes de esta cohorte procedían del Hospital Viamed Fuensanta de Madrid. Este hospital fue el único centro participante para esta cohorte, lo que podría reflejar la especialización de este centro en la modalidad de hemodiálisis incremental o la disponibilidad de pacientes que cumplieran los criterios de inclusión específicos para esta cohorte en este centro.

4.3.3 Estudio 3: Análisis de las TUUP en pacientes anúricos tratados con diuréticos de Asa

Tamaño de la Cohorte: Este grupo estuvo conformado por un total de 17 pacientes. El tamaño de esta cohorte es el menor de los tres, lo cual se explica por tratarse de un estudio piloto con una muestra reducida de pacientes.

Criterios de Selección: Los pacientes incluidos en este grupo cumplían los siguientes criterios específicos:

Anuria: Pacientes anúricos, definidos como pacientes con diuresis de menos de 100 ml/día. Este criterio de anuria definió un grupo de pacientes sin función renal residual significativa en términos de excreción urinaria. La selección de pacientes anúricos permitió investigar el impacto de la ausencia de función renal residual en el contexto de la hemodiálisis convencional, y específicamente en el primer estudio diseñado como un estudio cruzado para evaluar el efecto de diuréticos de asa en la eliminación de toxinas urémicas en este grupo de pacientes.

Modalidad de Hemodiálisis: Pacientes en hemodiálisis convencional en línea. Al igual que en el estudio 1, la inclusión de pacientes en hemodiálisis convencional permitió estudiar este grupo poblacional específico, que también recibía hemodiálisis convencional, pero presentaba ausencia de función renal residual.

Centros Participantes: La participación de dos centros hospitalarios, al igual que en el estudio 1, permitió aumentar la representatividad de la muestra y reducir el riesgo de sesgos asociados a un único centro, incluso para esta cohorte de menor tamaño. Los pacientes de este grupo procedían de dos centros hospitalarios:

- Hospital Universitario de Burgos: Este hospital aportó la mayoría de los pacientes de esta cohorte (n=11).

- Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz de Madrid: Este hospital también contribuyó con una parte de los pacientes anúricos incluidos en este grupo (n=6).

4.4 Diseño del estudio

4.4.1 Estudio 1: Análisis de TUUP en una población heterogénea de pacientes en hemodiálisis

4.4.1.1 Tipo de diálisis

Los pacientes incluidos en este estudio se encontraban en tratamiento mediante hemodiafiltración en línea. Es fundamental comprender la definición y conceptos que rigen esta modalidad, ya que constituye un factor diferenciador clave entre los diferentes grupos estudiados y un elemento central en el diseño de la investigación presentada en esta tesis doctoral.

4.4.1.2 Independiente de FRR

Todos los pacientes se dializan 3 días semana, y siendo su diuresis escasa o ausente por lo que no es un criterio diferencial. Consideramos la orina inexistente. Las toxinas se depuran solo por la diálisis. Se podrá correlacionar TUUP con la propia diálisis y otros criterios clínicos y analíticos.

4.4.1.3 Hemodiafiltración en línea

La hemodiafiltración en línea (HDF en línea) se define típicamente por la realización de tres sesiones de hemodiálisis por semana, con una duración de cada sesión que varía entre 3 y 5 horas, dependiendo de las características del paciente y los objetivos de diálisis.

En el contexto de este estudio, la hemodiafiltración en línea se aplicó principalmente a los grupos 1 y 3, que representaban a pacientes con función renal residual disminuida o ausente, respectivamente. El objetivo en la HDF en línea, es proporcionar una depuración extracorpórea suficiente para compensar la pérdida casi total de la función renal, manteniendo al paciente en un estado metabólico y clínico estable. Este sistema convectivo se basa en la infusión de un volumen significativo de líquido de diálisis ultrapuro, generado en línea en el propio monitor de diálisis, para posteriormente ser directamente infundido en el circuito sanguíneo del paciente. La eficacia de este transporte convectivo está directamente relacionada con el volumen de sustitución, es decir, la cantidad de líquido ultrapuro infundido a lo largo de la sesión de diálisis. En el contexto de esta investigación, es relevante destacar que todos los pacientes incluidos en los grupos que recibieron hemodiafiltración en línea presentaron un volumen de sustitución superior a 20 litros por sesión. Este elevado volumen de sustitución, considerado significativo en la práctica clínica, garantiza la eficacia del transporte convectivo, un mecanismo especialmente relevante para la eliminación de toxinas urémicas de mayor peso molecular, que la difusión por sí sola depura de manera menos eficiente. La hemodiafiltración en línea, con su sistema convectivo optimizado mediante altos volúmenes de sustitución, se configuró, así como una modalidad dialítica de alta eficiencia depurativa en el contexto de este estudio, permitiendo investigar de manera robusta la eliminación de toxinas urémicas en las diferentes cohortes de pacientes. Para el Estudio 1, la modalidad de terapia renal sustitutiva empleada de manera uniforme en todos los pacientes fue la hemodiafiltración en línea. Esta elección no es casual, sino que responde a la necesidad de estudiar la eliminación de toxinas urémicas en el contexto de una modalidad de diálisis ampliamente extendida y considerada un estándar en la práctica clínica habitual. La hemodiafiltración en línea, en esencia, representa una evolución de la hemodiálisis tradicional, integrando dos mecanismos de transporte de solutos: la difusión, característica de la hemodiálisis tradicional, y la convección. En este último mecanismo, la convección, se logra mediante la infusión de un volumen significativo de líquido de diálisis

ultrapuro directamente en el circuito sanguíneo del paciente, generando un flujo de arrastre que facilita la eliminación de solutos, especialmente aquellos de mayor peso molecular, que la difusión por sí sola depura de manera menos eficiente.

La denominación "en línea" en hemodiafiltración hace referencia precisamente a la generación in situ de este líquido de diálisis ultrapuro, directamente en la máquina de hemodiálisis, evitando la necesidad de un procesamiento externo y garantizando la máxima pureza del líquido infundido. Esta pureza es un factor crítico, ya que minimiza el riesgo de contaminación bacteriana y la exposición del paciente a endotoxinas y otros contaminantes presentes en el agua de diálisis convencional. La hemodiafiltración en línea, por tanto, se caracteriza por una mayor eficacia depurativa, particularmente en la eliminación de toxinas urémicas de peso molecular medio y alto, y por un perfil de biocompatibilidad superior en comparación con la hemodiálisis convencional. En el contexto del Estudio 1, la utilización exclusiva de hemodiafiltración en línea permitió centrar el análisis en la respuesta a esta modalidad específica, estableciendo una base sólida para la comparación con otras estrategias dialíticas, como la hemodiálisis incremental, que serán objeto de estudio en apartados posteriores de esta tesis doctoral.

4.4.1.4 Datos recogidos

Instrumento de Recolección de Datos: Hoja de Microsoft Excel

Para la recolección y organización sistemática de la información de todos los pacientes participantes en este estudio, se diseñó una hoja de cálculo en Microsoft Excel. Excel es una herramienta ampliamente utilizada en investigación clínica debido a su versatilidad, facilidad de uso y capacidad para almacenar y organizar grandes volúmenes de datos de manera estructurada.

La hoja de Excel se diseñó cuidadosamente para incluir todas las variables de interés relevantes para los objetivos de la investigación, asegurando la exhaustividad y la consistencia en la recolección de datos. Cada fila de la hoja de Excel correspondió a un paciente individual, y cada columna representó una variable específica. Se definieron encabezados de columna claros y descriptivos para cada variable, y se utilizaron formatos de celda apropiados para cada tipo de dato (numérico, texto, fecha, etc.)

La utilización de una hoja de Excel como instrumento de recolección de datos facilitó la entrada de datos, la verificación de la calidad de los datos, la organización de la información y la posterior importación de los datos a programas estadísticos para el análisis. Además, la hoja de Excel sirvió como un registro completo y accesible de toda la información recolectada durante el estudio.

Variables registradas

En la hoja de Microsoft Excel se recogieron los siguientes datos para cada paciente participante en el estudio. Estos datos se clasificaron en diferentes categorías para facilitar su organización y análisis:

Datos Demográficos:

a) Edad: Se registró la edad de cada paciente en años cumplidos al momento de su inclusión en el estudio. La edad es una variable demográfica fundamental que puede influir en diversos aspectos clínicos y fisiopatológicos en pacientes con ERC en hemodiálisis. La edad se registró como una variable numérica continua para permitir análisis estadísticos cuantitativos.

b) Sexo: Se registró el sexo de cada paciente (masculino o femenino). El sexo es otra variable demográfica importante que puede influir en la prevalencia, la progresión y la respuesta al tratamiento de la ERC y otras enfermedades. El sexo se registró como una variable categórica binaria.

Antecedentes Cardiovasculares:

Se registraron los antecedentes cardiovasculares de cada paciente, ya que las enfermedades cardiovasculares son una comorbilidad muy frecuente y relevante en pacientes con ERC, y constituyen la principal causa de morbimortalidad en esta población. Se recolectaron los siguientes antecedentes cardiovasculares específicos:

a) Hipertensión Arterial (HTA): Se registró la presencia o ausencia de diagnóstico previo de hipertensión arterial en cada paciente. La hipertensión arterial es un factor de riesgo cardiovascular mayor y una comorbilidad muy prevalente en pacientes con ERC. Se registró como una variable categórica binaria (presente/ausente).

b) Diabetes Mellitus (DM): Se registró la presencia o ausencia de diagnóstico previo de diabetes mellitus en cada paciente. La diabetes mellitus es otra comorbilidad muy frecuente y relevante en pacientes con ERC, y una de las principales causas de ERC terminal. Se registró como una variable categórica binaria (presente/ausente).

c) Dislipemia (DP): Se registró la presencia o ausencia de diagnóstico previo de dislipemia (alteraciones en los niveles de lípidos en sangre, como colesterol y triglicéridos) en cada paciente. La dislipemia es un factor de riesgo cardiovascular importante y frecuente en pacientes con ERC. Se registró como una variable categórica binaria (presente/ausente).

Otros Antecedentes Médicos:

a) Otros antecedentes: Se registró información sobre otros antecedentes médicos relevantes de cada paciente, además de los antecedentes cardiovasculares. Esta categoría permitió recolectar datos sobre otras comorbilidades, enfermedades previas o condiciones clínicas que pudieran ser relevantes para el estudio y para la interpretación de los resultados. La naturaleza específica de estos "otros antecedentes" no se detalla en el documento original, pero podría

incluir información como enfermedades infecciosas previas, enfermedades autoinmunes, enfermedades respiratorias, enfermedades hepáticas, neoplasias, etc. La información sobre "otros antecedentes" se recolectó de manera abierta, permitiendo registrar cualquier condición médica relevante que pudiera influir en los resultados del estudio.

b) Causa de la ERC: Se registró la causa principal de la enfermedad renal crónica en cada paciente. La etiología de la ERC puede influir en la progresión de la enfermedad, las comorbilidades asociadas y la respuesta al tratamiento. Se registraron las causas de ERC más frecuentes, como glomerulonefritis, nefropatía diabética, nefropatía hipertensiva, poliquistosis renal, etc. La causa de la ERC se registró como una variable categórica nominal, con categorías predefinidas basadas en las causas más comunes de ERC terminal.

Datos Relacionados con la Diálisis:

a) Fecha de inicio de diálisis: Se registró la fecha de inicio del tratamiento de diálisis crónica para cada paciente. La fecha de inicio de diálisis es un dato cronológico importante para caracterizar la historia clínica del paciente y para analizar la evolución temporal de diferentes variables. Se registró como una variable de fecha.

b) Número de sesiones por semana y tiempo de duración de cada sesión de diálisis: Se registró el número de sesiones de hemodiálisis que recibía cada paciente por semana y la duración en minutos de cada sesión. Estos datos describen el régimen de hemodiálisis de cada paciente y son relevantes para calcular la dosis de diálisis y para analizar la relación entre la intensidad del tratamiento de diálisis y los resultados del estudio. El número de sesiones por semana se registró como una variable numérica discreta, y la duración de la sesión como una variable numérica continua.

c) Volumen de diuresis de 24 horas: Se registró el volumen de orina recolectado en 24 horas para cada paciente perteneciente a los grupos 1 y 2. La diuresis diaria es un indicador de la función renal residual y es un criterio de estratificación en las cohortes del estudio. Se registró como una variable numérica continua, y se especificó "si procede" para indicar que este dato podría no estar disponible en pacientes anúricos o con diuresis muy baja como en el caso del grupo 3.

d) Dosis de diálisis por Kt/Vurea: Se registró la dosis de diálisis semanal alcanzada por cada paciente, medida mediante el índice Kt/Vurea. El Kt/Vurea es un indicador de la eficacia de la diálisis en la eliminación de urea y se utiliza como medida estándar de la dosis de diálisis. Se registró como una variable numérica continua.

e) Peso y Talla: Se registró el peso y la talla de cada paciente al momento de su inclusión en el estudio. Estas variables antropométricas, aparentemente sencillas, revisten una importancia fundamental en el contexto de la hemodiálisis, especialmente en el cálculo de la dosis de diálisis adecuada para cada paciente. El peso y la talla son elementos esenciales para estimar el volumen de distribución de la urea (V), un parámetro fisiológico que refleja el espacio corporal en el que se distribuye la urea y otras toxinas urémicas. El volumen de distribución (V) es, a su vez, un componente clave en la fórmula del Kt/V, índice utilizado de manera universal como medida estándar de la dosis de diálisis. Dado que el objetivo central de esta investigación se centra en la optimización de la eliminación de toxinas urémicas, y que la dosis de diálisis es un factor determinante en este proceso, la recolección precisa de datos de peso y talla se justifica plenamente por su relevancia directa en el cálculo del Kt/Vy, por ende, en la interpretación de los resultados del estudio.

Datos Analíticos Basales:

La recolección exhaustiva de estos datos analíticos basales permitió caracterizar integralmente el estado clínico y metabólico de los pacientes al inicio del estudio, y proporcionó información

valiosa para el análisis de los resultados y la interpretación de las asociaciones entre las variables de interés. Se recolectaron una amplia batería de datos analíticos basales, obtenidos a partir de muestras de sangre y, en algunos casos, de orina, al inicio del estudio para cada paciente. Estos datos analíticos basales proporcionaron información sobre el estado metabólico, hematológico, bioquímico y hormonal de los pacientes al inicio del estudio, y sirvieron como línea basal para las comparaciones y análisis posteriores:

a) Datos analíticos basales en sangre: Se recolectaron los siguientes parámetros analíticos en muestras de sangre:

Creatinina plasmática (mg/dl): la creatinina plasmática es un indicador de la función renal y se utiliza para estimar el filtrado glomerular. Se registró en mg/dl.

FG estimado por CKD-EPI (ml/min/1,73 m²): Se calculó el filtrado glomerular estimado (FGe) utilizando la ecuación CKD-EPI a partir de la creatinina plasmática, la edad y el sexo del paciente. El FGe es una medida estandarizada de la función renal. Se registró en ml/min/1,73 m².

Hemoglobina (g/dl): La hemoglobina es un indicador de la concentración de hemoglobina en sangre y se utiliza para evaluar la presencia de anemia, una complicación frecuente en pacientes con ERC. Se registró en g/dl.

Proteínas totales (g/dl): Las proteínas totales en sangre son un indicador del estado nutricional y de la función hepática. Se registraron en g/dl.

Albúmina (g/dl): La albúmina es la proteína plasmática más abundante y es un indicador del estado nutricional, la función hepática y la inflamación. Se registró en g/dl.

Colesterol total (mg/dl): El colesterol total es un lípido plasmático y un factor de riesgo cardiovascular. Se registró en mg/dl.

Triglicéridos (mg/dl): Los triglicéridos son otro tipo de lípido plasmático y un factor de riesgo cardiovascular. Se registraron en mg/dl.

Calcio total (mg/dl) y calcio iónico (mEq/l): Se midieron tanto el calcio total como el calcio iónico en sangre. El calcio es un mineral esencial para diversas funciones fisiológicas y su metabolismo se altera en la ERC. Se registró el calcio total en mg/dl y el calcio iónico en mEq/l.

Fósforo (mg/dl): El fósforo es otro mineral cuyo metabolismo se altera en la ERC, y su elevación (hiperfosfatemia) es una complicación frecuente. Se registró en mg/dl.

Magnesio (mg/dl): El magnesio es un mineral importante para diversas funciones celulares y su metabolismo también puede alterarse en la ERC. Se registró en mg/dl.

Sodio (mEq/l): El sodio es el principal catión extracelular y es fundamental para el equilibrio hidroelectrolítico. Se registró en mEq/l.

Potasio (mEq/l): El potasio es el principal catión intracelular y es esencial para la función neuromuscular y cardíaca. Se registró en mEq/l.

Paratohormona (pg/ml): La paratohormona (PTH) es una hormona que regula el metabolismo del calcio y el fósforo, y su elevación (hiperparatiroidismo secundario) es una complicación frecuente de la ERC. Se registró en pg/ml.

Vitamina D (pg/ml): La vitamina D es una hormona esteroidea que también participa en el metabolismo del calcio y el fósforo, y su deficiencia es frecuente en pacientes con ERC. Se registró en pg/ml.

Beta-2 microglobulina (µg/ml): La beta-2 microglobulina es una proteína de bajo peso molecular que se elimina por vía renal y cuyos niveles se elevan en la ERC. Se registró en µg/ml.

Proteína C reactiva (mg/L): La proteína C reactiva (PCR) es un marcador de inflamación sistémica, que está aumentada en pacientes con ERC y se asocia a mayor riesgo cardiovascular. Se registró en mg/L.

Transferrina (mg/dl): La transferrina es una proteína transportadora de hierro y un indicador del estado nutricional y del metabolismo del hierro. Se registró en mg/dl.

Índice de saturación de transferrina (%): El índice de saturación de transferrina (IST) es un indicador de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis y se utiliza para evaluar el estado de hierro en pacientes con anemia. Se registró en %.

Ferritina (ng/ml): La ferritina es una proteína almacenadora de hierro y un indicador de los depósitos de hierro en el organismo. Se registró en ng/ml.

Citoquinas inflamatorias (IL-6, FNT-alfa): Se midieron los niveles plasmáticos de dos citoquinas inflamatorias relevantes en la ERC: interleuquina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa). Estas citoquinas son marcadores de inflamación sistémica y se asocian a diversas complicaciones de la ERC. Se registraron las unidades de medida específicas para cada citoquina (no especificadas en el documento original).

4.4.2 Estudio 2: Análisis de TUUP en una población con diálisis incremental

4.4.2.1 Tipo de diálisis

El Estudio 2 se centró en la modalidad de hemodiálisis incremental, una estrategia dialítica que se distingue fundamentalmente por su menor intensidad en comparación con la hemodiálisis convencional. Esta modalidad se caracteriza por la prescripción de un número reducido de sesiones de diálisis por semana, típicamente una o dos, y una duración de sesión que puede ser similar o ligeramente inferior a la de la hemodiálisis convencional. La hemodiálisis incremental no busca reemplazar por completo la función renal, sino complementarla, especialmente en aquellos pacientes que aún conservan un grado significativo de función renal residual (FRR). Este enfoque menos intensivo persigue el objetivo de prolongar el tiempo durante el cual la

hemodiálisis convencional de tres sesiones semanales no es estrictamente necesaria, buscando un equilibrio entre la eficacia depurativa y la preservación de la función renal remanente. La elección de la hemodiálisis incremental como modalidad de estudio en esta cohorte específica responde al interés de investigar sus particularidades en relación con la eliminación de toxinas urémicas y su interacción con la FRR.

4.4.2.2 Estudio de pacientes con diálisis incremental. Análisis de la dosis de diálisis

El Estudio 2 se diseñó específicamente para pacientes que, al inicio de la terapia dialítica, aún presentaban un grado considerable de función renal residual (FRR). Este criterio fue fundamental en la selección de la cohorte, diferenciándola del Estudio 1 en cuanto al perfil de FRR de los participantes. En concreto, los pacientes del Estudio 2 se caracterizaron por un aclaramiento de urea medido superior a 1,5 ml/min, un umbral que, en comparación con el Estudio 1, define este grupo de pacientes con una función renal residual relativamente mejor preservada. Esta diferencia en la FRR basal es un elemento clave en el diseño comparativo de la línea de investigación de la presente tesis, permitiendo analizar cómo la modalidad de hemodiálisis incremental interactúa de manera específica con distintos niveles de función renal remanente.

El análisis de la dosis de diálisis en el Estudio 2 se abordó de manera particular, considerando las características propias de la hemodiálisis incremental. Dada la menor frecuencia de sesiones, la dosis de diálisis semanal se calculó y ajustó individualmente para cada paciente, buscando alcanzar objetivos de depuración similares a los establecidos para la hemodiálisis convencional, pero adaptados al contexto de la terapia incremental. Este análisis de la dosis se desglosó en varios componentes:

Análisis del aclaramiento de urea de la FRR: Se evaluó de forma precisa el aclaramiento de urea atribuible a la función renal residual de cada paciente al inicio del estudio. Este parámetro, como ya se ha mencionado, fue un criterio de inclusión fundamental y se monitorizó como un indicador clave de la función renal remanente a lo largo del estudio.

Análisis del tiempo total de tratamiento semanal (TTV) al estar con 1-2 sesiones semana. Se analizó el (TTV) que recibían los pacientes en hemodiálisis incremental, que podía variar entre una o dos sesiones semanales. Este análisis permitió caracterizar la intensidad de la terapia dialítica en cada paciente y relacionarla con los resultados de eliminación de toxinas urémicas.

Análisis del Kt/V conjunto semanal de urea en orina y diálisis: Se calculó el Kt/V total semanal, considerando tanto la depuración de urea proporcionada por la diálisis incremental como la contribución del aclaramiento renal de urea. Este análisis integrado fue esencial para obtener una medida precisa de la dosis de diálisis total recibida por los pacientes, teniendo en cuenta ambas fuentes de depuración.

CÁLCULO Kt/V TOTAL INCLUYENDO FRR

2 sesiones semana: $Kt/V_{total} = Kt/V \text{ de diálisis} + (9.5 \times KRU) / V$

3 sesiones semana: $Kt/V_{total} = Kt/V \text{ de diálisis} + (5.9 \times KRU) / V$

CÁLCULO Kt/V SEMANAL DEPENDIENDO NÚMERO SESIONES SEMANA

$Kt/V \text{ semanal} = 168 * (1 - \exp[-eKt/V]) / t / ((1 - \exp[-eKt/V]) / (eKt/V) + 1680 / N / t - 1)$

N= Número de Sesiones semana; **t**= Tiempo en horas

eKt/V: Equilibrado Kt/V, ajustado por la redistribución de urea después de la sesión (equilibrado postdiálisis).

t: Tiempo de una sesión de diálisis, en horas.

N: Número de sesiones de diálisis por semana

168: Número de horas que tiene una semana.

1680/ (N.t-1): Término de corrección relacionado con la frecuencia y duración de las sesiones. Ajusta el modelo para la frecuencia semanal.

exp-eKt/V: Exponencial negativa, describe cómo se elimina la urea en un modelo de primer orden.

4.4.2.3 Hemodiafiltración en línea

El estudio 2 se centró en la hemodiálisis incremental que, aunque se trata de una modalidad de diálisis con unas características específicas, usa como técnica de diálisis la hemodiafiltración en línea que se ha descrito en detalle con anterioridad. Sin embargo, al igual que en el Estudio 1, se mantuvo un criterio de estandarización en el tipo de dializador utilizado. Todos los pacientes participantes en el Estudio 2 fueron dializados empleando el mismo tipo de dializador, con el objetivo de minimizar la variabilidad técnica y evitar la introducción de sesgos de confusión en los resultados. Se utilizaron dializadores de polinefrona de 1,9 m² o polisulfona de 1,8 m², materiales sintéticos de alta permeabilidad, coherente con la justificación para el Estudio 1. La elección de dializadores de alta permeabilidad se mantuvo en el desarrollo de esta línea de investigación, dada la evidencia científica de la que se dispone para estos dispositivos médicos, respecto a la eliminación de toxinas urémicas, incluyendo aquellas de mayor peso molecular.

4.4.2.4 Datos recogidos

Los datos recogidos en el Estudio 2 fueron análogos a los del Estudio 1, manteniendo la coherencia metodológica entre ambos estudios y facilitando la posterior comparación de los resultados. Se recopilaron datos en las siguientes categorías principales:

Datos Demográficos: Edad y sexo de los pacientes.

Antecedentes Cardiovasculares: Prevalencia de Hipertensión Arterial (HTA), Diabetes Mellitus (DM) y Dislipemia (DP).

Otros Antecedentes Médicos: Información relevante sobre otras comorbilidades y la causa de la Enfermedad Renal Crónica (ERC).

Datos Relacionados con la Diálisis: Fecha de inicio de diálisis, número de sesiones semanales, tiempo de duración de cada sesión, volumen de diuresis de 24 horas y dosis de diálisis (Kt/Vurea).

Datos Analíticos Basales: Una amplia batería de parámetros analíticos en sangre y orina, incluyendo creatinina plasmática, FG estimado por CKD-EPI, hemoglobina, proteínas totales, albúmina, colesterol total, triglicéridos, calcio total e iónico, fósforo, magnesio, sodio, potasio, paratohormona, vitamina D, beta-2 microglobulina, proteína C reactiva, transferrina, índice de saturación de transferrina, ferritina y citoquinas inflamatorias (IL-6, FNT-alfa). En orina, se recogieron datos de urea y creatinina.

La exhaustividad en la recolección de datos, siguiendo un esquema similar al del Estudio 1, permitió obtener una caracterización completa de la población del Estudio 2, facilitando el análisis de las variables de interés y la comparación de los resultados con los del Estudio 1 y el Estudio 3.

Datos analíticos basales en orina: En los pacientes incluidos en el estudio 2, se recolectaron los siguientes parámetros analíticos en muestras de orina basal:

Urea (en mg/dl): La concentración de urea en orina es un indicador de la excreción de urea por vía renal y se utiliza para calcular el aclaramiento de urea. Se registró en mg/dl.

Creatinina (en mg/dl): La concentración de creatinina en orina es un indicador de la excreción de creatinina por vía renal y se utiliza para calcular el aclaramiento de creatinina y para la estandarización de otros parámetros urinarios. Se registró en mg/dl.

4.4.3 Estudio 3: Análisis de las TUUP en pacientes anúricos tratados con diuréticos de Asa

4.4.3.1 Tipo de diálisis. Tratamiento con diuréticos

El Estudio 3, diseñado con un enfoque innovador, se centró en una cohorte de pacientes con una característica clínica distintiva: la anuria. Estos pacientes, definidos por una diuresis mínima, inferior a 100 ml/día, representan un subgrupo dentro de la población en hemodiálisis con ausencia prácticamente total de función renal residual (FRR). En este contexto de anuria, donde la función renal fisiológica no contribuye significativamente a la depuración de toxinas urémicas, el estudio se propuso investigar el potencial de una intervención farmacológica específica: el tratamiento con diuréticos de asa. La hipótesis central radicó en evaluar si estos diuréticos, concretamente: furosemida y torasemida, podrían actuar como agentes desplazadores de toxinas urémicas unidas a proteínas plasmáticas, principalmente la albúmina, incrementando así la fracción libre de estas toxinas y, por ende, su eliminación durante la sesión de hemodiálisis convencional en línea. La elección de la hemodiálisis convencional en línea como modalidad dialítica en este estudio fue deliberada, buscando unificar el contexto dialítico y aislar el efecto específico de los diuréticos de asa en la depuración de toxinas urémicas en pacientes anúricos.

4.4.3.2 Sin Función renal residual.

Un rasgo definitorio de la población del Estudio 3, como se ha mencionado, fue la ausencia de función renal residual (FRR) significativa. El criterio de inclusión de anuria, evaluado en aquellos pacientes con una diuresis inferior a 100 ml/día, aseguró la selección de pacientes en los que la contribución renal a la depuración de toxinas urémicas fuera prácticamente nula. Esta característica fue esencial para el diseño del estudio, ya que permitió atribuir cualquier efecto observado en la eliminación de toxinas urémicas principalmente a la intervención farmacológica

con diuréticos de asa, y no a una posible variabilidad en la función renal residual de los pacientes. Al eliminar la FRR como variable de confusión, el Estudio 3 buscó aislar y analizar con mayor precisión el impacto específico de los diuréticos de asa en la depuración de toxinas urémicas en el contexto de la hemodiálisis convencional en línea en pacientes anúricos.

4.4.3.3 Hemodiafiltración en línea. Dializador

Al igual que en el Estudio 1, la modalidad de hemodiálisis empleada en el Estudio 3 fue la HDF en línea, buscando mantener la coherencia metodológica y la comparabilidad entre los estudios. Esta elección garantizó que todos los pacientes, independientemente de la cohorte a la que pertenecieran, recibieran una modalidad de hemodiálisis estandarizada y caracterizada por la utilización de dializadores de alta eficiencia y la generación en línea de líquido de diálisis ultrapuro. En cuanto al dializador, y siguiendo el criterio de estandarización implementado en los estudios previos, se utilizó el mismo tipo de dializador para todos los pacientes en el Estudio 3. Se emplearon dializadores de polinefrona de 1,9 m² o polisulfona de 1,8 m², que son materiales sintéticos de alta permeabilidad, con la misma justificación que en los Estudios 1 y 2: maximizar la eliminación de toxinas urémicas, incluyendo aquellas de mayor peso molecular, y minimizar la variabilidad técnica asociada al dializador.

4.4.3.4 Datos recogidos

Los datos recogidos en el Estudio 3, manteniendo la línea metodológica de los estudios previos, se centraron en la caracterización clínica y bioquímica de los pacientes anúricos, así como en la evaluación de la eliminación de toxinas urémicas bajo diferentes condiciones de tratamiento con diuréticos de asa. Se recopilaron datos en las siguientes categorías principales, siguiendo un esquema similar a los que se han descritos para los Estudios 1 y 2 previamente:

Datos Demográficos: Edad y sexo de los pacientes.

Antecedentes Cardiovasculares: Prevalencia de Hipertensión Arterial (HTA), Diabetes Mellitus (DM) y Dislipemia (DP).

Otros Antecedentes Médicos: Información relevante sobre otras comorbilidades y la causa de la Enfermedad Renal Crónica (ERC).

Datos Relacionados con la Diálisis: Fecha de inicio de diálisis, número de sesiones semanales, tiempo de duración de cada sesión y dosis de diálisis (Kt/Vurea). Es importante señalar que, dada la anuria de los pacientes del Estudio 3, no se recolectaron datos de orina ni volumen de diuresis de 24 horas.

Datos Analíticos Basales: Una batería de determinaciones analíticas en sangre, análoga a la descrita para los Estudios 1 y 2, incluyendo creatinina plasmática, FG estimado por CKD-EPI, hemoglobina, electrolitos, marcadores de inflamación y estrés oxidativo, entre otros. En el Estudio 3, dada la anuria de los pacientes, tampoco se recolectaron datos analíticos basales en orina.

La recolección de datos, adaptada a las particularidades del Estudio 3 y la población anúrica, permitió obtener una caracterización exhaustiva de los pacientes y evaluar el impacto de la intervención farmacológica en la eliminación de toxinas urémicas en este contexto clínico específico. La consistencia en la metodología de recolección de datos con los Estudios 1 y 2 facilitó, además, la posterior comparación de los resultados entre las diferentes cohortes y modalidades de tratamiento.

4.4.4 Análisis de toxinas urémicas

4.4.4.1 Recogida de muestras

El protocolo de recogida de muestras sanguíneas, un pilar metodológico en esta investigación, se llevó a cabo siguiendo un esquema estandarizado para asegurar la calidad y comparabilidad de los datos obtenidos, siendo este protocolo de aplicación común a las tres cohortes de pacientes estudiadas en esta tesis. La extracción de sangre, que es un procedimiento rutinario pero esencial, fue realizada por personal de enfermería cualificado, directamente de los accesos vasculares de los pacientes en hemodiálisis. Un aspecto crucial fue la temporalidad de la toma de muestras: se obtuvieron en momentos predefinidos mediante un protocolo de actuación diseñado de forma específica para esta línea de investigación, con respecto a la sesión de diálisis, específicamente antes del inicio y al finalizar la segunda sesión de diálisis de la semana. Este criterio temporal, cuidadosamente planificado, buscó estandarizar el momento de la toma de muestras y minimizar potenciales sesgos técnicos. La sangre fue recolectada en tubos estériles con EDTA, un anticoagulante esencial para la posterior obtención de plasma, destinado a la determinación de toxinas urémicas. Inmediatamente tras la extracción, y con el objetivo de prevenir la formación de fibrina que pudiera interferir con los análisis, los tubos fueron invertidos suavemente entre 8 y 10 veces. Posteriormente, las muestras fueron refrigeradas a 4°C hasta su procesamiento, que se realizó en las siguientes dos horas a la extracción para garantizar la integridad de los analitos. El procesamiento incluyó una centrifugación a 1.100-1.300 g durante 10 minutos a 4°C para la separación del plasma, evitando rigurosamente la resuspensión del pellet celular durante esta etapa. El plasma obtenido, cuidadosamente alicuotado para evitar ciclos de congelación-descongelación, fue almacenado a -80°C para su conservación a largo plazo hasta el momento de su análisis. Este protocolo estandarizado, desde la extracción a la conservación, fue un elemento clave para asegurar la robustez y fiabilidad de los resultados obtenidos en esta investigación.

4.4.4.2 Protocolo de recogida de muestras de orina

El protocolo de recogida de muestras también incluyó la obtención de muestras de orina, para permitir la evaluación del aclaramiento renal de urea, toxinas urémicas y otros parámetros urinarios.

Para la cohorte de pacientes del Estudio 2, y con el objetivo de complementar la información obtenida de las muestras sanguíneas, se implementó un protocolo específico para la recolección de muestras de orina, indispensable para una evaluación integral de la función renal y la excreción de toxinas urémicas en este grupo particular de pacientes. Dado que el Estudio 2 se enfocó en pacientes con función renal residual aún presente, aunque variable, esta muestra biológica representa un gran valor diagnóstico. La recolección de orina se realizó siguiendo un protocolo de orina de 24 horas, un método estandarizado en nefrología que permite cuantificar la excreción urinaria de solutos a lo largo de un día completo, minimizando las fluctuaciones diurnas en la composición urinaria. Para cada paciente del Estudio 2, se proporcionó un recipiente estéril y adecuado para la recolección de orina de 24 horas, instruyéndoles detalladamente sobre el procedimiento a seguir. Se indicó a los pacientes iniciar la recolección al despertar por la mañana, desechando la primera micción del día y recolectando todas las micciones posteriores durante las siguientes 24 horas, incluyendo la primera micción de la mañana del día siguiente. Se enfatizó la importancia de recolectar la totalidad del volumen urinario emitido durante el período de 24 horas para garantizar la representatividad y precisión de los resultados. Una vez finalizado el período de recolección, los pacientes fueron instruidos para refrigerar inmediatamente la muestra de orina y entregarla lo antes posible al personal del centro donde se realizan el tratamiento de diálisis. En el laboratorio, se procedió a medir con precisión el volumen total de orina de 24 horas, un dato fundamental para expresar los resultados de excreción urinaria de manera cuantitativa y normalizada. Posteriormente, se alicuotaron las muestras de orina para evitar ciclos de congelación-descongelación, y se

almacenaron a -80°C para su conservación a largo plazo. Estas muestras de orina, recolectadas y procesadas bajo el estricto protocolo diseñado específicamente para el desarrollo de la línea de investigación presentada en esta tesis, fueron destinadas a la realización de analítica básica urinaria, incluyendo la determinación de parámetros como creatinina y urea, así como la aplicación de un protocolo específico para la determinación de toxinas urémicas unidas a proteínas, siguiendo la metodología descrita más adelante, para el procesamiento de muestras biológicas tanto de sangre como de orina. Este protocolo de recolección y procesamiento de orina, riguroso y estandarizado, fue un componente metodológico esencial para la caracterización de la función renal residual y la excreción de toxinas urémicas en los pacientes del Estudio 2.

4.4.4.3 Protocolo de recogida de muestras de sangre

El protocolo de recogida de muestras en el Estudio 3, al igual que en los Estudios 1 y 2, se diseñó con el objetivo de asegurar la comparabilidad de los datos entre las diferentes cohortes y modalidades de tratamiento. Se empleó una metodología estandarizada para la extracción de muestras de sangre, realizada por personal de enfermería cualificado en momentos específicos relacionados con las sesiones de hemodiálisis convencional en línea. Si bien los detalles específicos del protocolo de recogida de muestras, incluyendo la temporalidad y el procesamiento, se describieron en apartados previos correspondientes al Estudio 1, es importante reiterar que la metodología empleada para la extracción, manejo y conservación de las muestras biológicas objeto de estudio en esta tesis, fue esencialmente la misma en los tres estudios, garantizando así la consistencia y la comparabilidad de las determinaciones tanto en sangre como en orina obtenidos. En el contexto del Estudio 3, y dada la naturaleza de diseño cruzado, el protocolo de recogida de muestras se adaptó para obtener las variaciones en las

concentraciones de toxinas urémicas en los diferentes periodos de intervención y no intervención con diuréticos de asa, de la siguiente manera:

Este diseño, en el que cada paciente actuó como su propio control, implicó la implementación de un protocolo de muestreo repetido, con extracciones de sangre realizadas en momentos puntuales a lo largo de un período total de 7 semanas de intervención y observación de cada paciente. El protocolo se estructuró en cuatro fases principales divididas en semanas:

Semana 1 (Período basal sin diuréticos): Durante la primera semana, se estableció una línea basal de las concentraciones de toxinas urémicas y otros parámetros de interés, en ausencia de intervención farmacológica. En esta semana basal, se realizaron extracciones de muestras de sangre al inicio y al final de las sesiones de diálisis de la segunda diálisis semanal, buscando estandarizar el momento de la toma de muestras y evitar sesgos técnicos.

Semanas 2 y 3 (Primer período de tratamiento con diurético de asa): Tras la semana basal, los pacientes iniciaron tratamiento durante 1 semana con uno de los diuréticos de asa investigados, furosemida o torasemida, según la secuencia aleatorizada. Teniendo en cuenta la biodisponibilidad de la furosemida y torasemida, se estableció la toma del medicamento una hora antes de la diálisis, para garantizar que, al inicio de esta, la concentración del fármaco en sangre era la adecuada para provocar el efecto desplazador esperado, esta metodología se aplicó en todas las fases del estudio y para los dos fármacos, que presentan una biodisponibilidad similar. Al finalizar la segunda semana de tratamiento, y coincidiendo con la segunda sesión de diálisis de la tercera semana, se extrajeron muestras de sangre, antes y después de la sesión de diálisis, manteniendo el tratamiento con el diurético asignado. Este período de tratamiento permitió evaluar el efecto de los diuréticos de asa en la eliminación de toxinas urémicas durante las sesiones de hemodiálisis.

Semanas 4 y 5 (Segundo período sin diuréticos - "periodo de lavado"): En la cuarta semana, se suspendió el tratamiento con diuréticos de asa para permitir un período de "lavado"

farmacológico de 1 semana. En el primer día de la quinta semana, y coincidiendo con la segunda sesión de diálisis de esa semana, se tomaron nuevamente muestras de sangre antes y después de la sesión de diálisis, esta vez en ausencia de tratamiento diurético. Este período sin tratamiento farmacológico tuvo como objetivo eliminar el efecto residual del primer diurético, asegurando condiciones basales similares para el siguiente período de tratamiento.

Semanas 6 y 7 (Segundo período de tratamiento con el diurético de asa alternativo): Tras el período de "lavado", los pacientes iniciaron un segundo período de tratamiento de 1 semana con el diurético de asa alternativo al recibido en el primer periodo. El primer día de la séptima semana, y coincidiendo con la segunda sesión de diálisis de esa semana, se extrajeron las últimas muestras de sangre antes y después de la diálisis, manteniendo el tratamiento con el diurético alternativo. Este segundo periodo permitió evaluar el efecto del diurético alternativo y comparar directamente los efectos de furosemida y torasemida en la eliminación de toxinas urémicas en el mismo grupo de pacientes. **Figura 7**

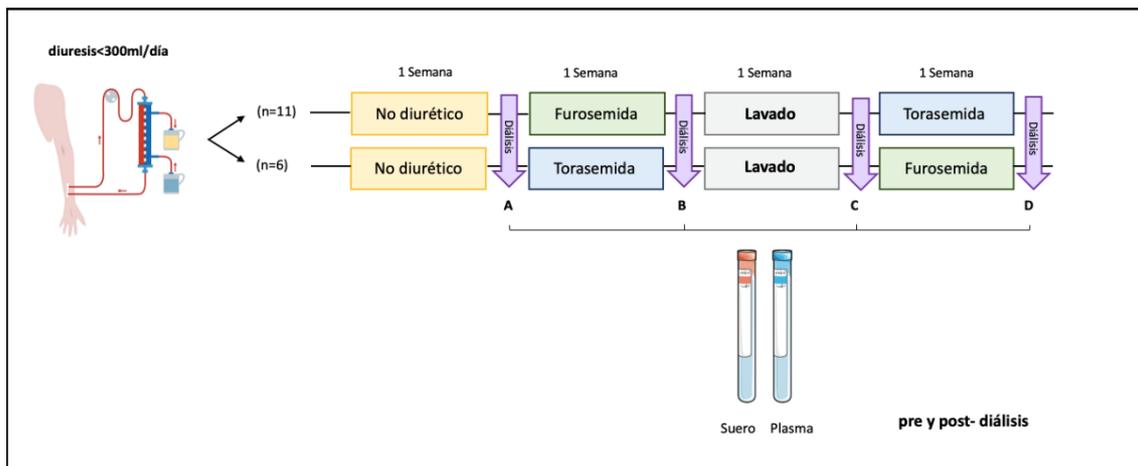


Figura 7, esquema recogida muestras de sangre.

Es importante destacar que, para minimizar posibles sesgos relacionados con el orden de administración de los tratamientos, la secuencia de diuréticos de asa (furosemida primero y luego torasemida, o viceversa) se contrabalanceó entre los centros participantes, asegurando una distribución equitativa de las secuencias de tratamiento en cada centro hospitalario. Este diseño cruzado, con un protocolo de recogida de muestras estrictamente planificado, fue esencial para evaluar de manera robusta y comparativa el efecto de los diuréticos de asa en la eliminación de toxinas urémicas en pacientes anúricos en hemodiálisis.

4.4.4.4 Determinación de toxinas urémicas

Se determinaron las concentraciones en suero de AH, SC y SI. Para ello, se extrajeron de los pacientes participantes las correspondientes muestras de sangre por venopunción. Tras su extracción, se procesaron para obtener suero y plasma, que se guardaron a -80°C para el posterior análisis de determinación de TU.

Se llevó a cabo un procedimiento de extracción líquido-líquido con metanol a razón de 1/5 con 100 μl de plasma. Las muestras se trataron con glucuronidasa/sulfatasa en acetato de amonio 1 M y a pH 7 con metanol al 20% durante toda una noche. Se emplearon controles para AH, SC y SI con una fiabilidad del 99 % (Supelco/Sigma-Aldrich Química, S.L., Madrid, España).

A continuación, se realizó el análisis por espectrometría de masas, mediante el cual se determinaron los niveles de AH, SC y SI. El análisis se llevó a cabo en espectrómetros de triple cuadrupolo LCMS-8030 (Shimadzu, Japón) que permiten la determinación de forma automatizada (reacciones múltiples) de los niveles de AH, SC y SI por espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida. Se decidió trabajar con volúmenes de muestra de 10 μL y la separación cromatográfica se logró en columnas de fase inversa (no polar, o estacionaria o hidrófoba) Phenomenex Gemini C18 de 5 μm , 100 x 21,2 mm, poros de 110 Å (Torrance, CA, EE.

UU.). La fase móvil o polar consistió en acetato de amonio 5 mM en agua (fase A) y acetonitrilo (fase B).

El programa de elución (proceso de extraer un material de otro lavando con un solvente) se decidió en gradiente y fue el siguiente: 0 min, 5% fase B; 7 min, 100% fase B; 8 min, 100% fase B; 8,5 min, 5% fase B. El tiempo total de ejecución del análisis fue de 10 min, con un caudal de 0,4 ml/min. Las relaciones masa / carga según indicaciones del fabricante fueron para AH, SC y SI: 178,0 > 134,1, 187,1 > 107,1, y 212,1 > 80,0.

4.4.5 Análisis estadístico

Los niveles de TU y otros parámetros de laboratorio de rutina correspondientes a las extracciones antes y después de cada sesión de diálisis se presentan utilizando la media y error típico de la media (ETM) en las tablas y la media y desviación típica (DT) en gráficos.

La distribución de estos niveles determinados en tanto que variables se evalúan utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Los niveles de TU pre y post diálisis se compararon utilizando la prueba t pareada o la prueba de Wilcoxon según correspondía. Los niveles de TU basales, con furosemida, y con torasemida de TU, se compararon con la prueba de ANOVA o la prueba de Kruskal Wallis según corresponda. En todas las comparaciones, se estableció como límite un p-valor de <0,05 para afirmar la significación estadística de las comparaciones. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa informático GraphPad Prism. versión 8 (Boston, Estados Unidos).

4.4.6 Implicaciones éticas

La información para este estudio se obtuvo de pacientes tratados en las unidades de diálisis de los hospitales y centro de diálisis participantes. Los pacientes que decidieron participar en este estudio prestaron su consentimiento informado para el acceso a sus datos y muestras que se requirieron para el análisis respectivo, que dejaron plasmado con su firma, y que se encuentran a disposición de quien lo solicite si es necesario **anexo IV**. Se garantizó la confidencialidad en el manejo de toda la información clínica obtenida, así como de las muestras biológicas, que se suministraron al equipo investigador tras el proceso de anonimización correspondiente, y este aspecto se remarcó con explicaciones detalladas a los pacientes participantes.

Siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki, los respectivos comités de ética de los dos hospitales participantes evaluaron el protocolo de este estudio para ver si estos se adherían a los principios fundamentales de respeto y protección de los participantes, y aprobaron los métodos que se presentaron, otorgando el código de aprobación N° 2944 del CEIm del Hospital Universitario de Burgos y que fue ratificado y aceptado por los CEIm del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz y por la Fundación Renal Española **anexos I, II**.

La información clínica de los participantes en los estudios de investigación que presenta esta tesis doctoral, se extrajo de las respectivas historias clínicas de los pacientes incluidos. Todos estos pacientes aceptaron los procedimientos que se han explicado con anterioridad, que incluyeron la extracción de muestras de sangre, la recogida de muestras de orina, el tratamiento de estas y su resultado, así como del resto de la información clínica recabada que se requería para los diferentes estudios, cuyos resultados presenta esta tesis doctoral **anexo III**.

5. RESULTADOS

Los resultados de esta tesis se analizan separadamente sobre los hallazgos de los tres estudios desarrollados con las siguientes cohortes:

a) **Estudio 1:** Una cohorte heterogénea de 148 pacientes con FRR con aclaramiento de urea medido menor o igual a 1,5 ml/min y diuresis diaria variable, en hemodiafiltración en línea.

b) **Estudio 2:** La cohorte de 29 pacientes con FRR con aclaramiento de urea medido mayor de 1,5 ml/min y diuresis diaria de al menos 500 ml, en hemodiálisis incremental.

c) **Estudio 3:** La cohorte de 17 pacientes anúricos (diuresis de menos de 100 ml/día) en hemodiálisis convencional en línea.

5.1 Estudio 1

El análisis de la población estudiada se detalla en las tablas 1-3. La **Tabla 3** recoge las características demográficas, clínicas y resultados de la analítica de rutina de los 148 pacientes participantes en este estudio. La **Tabla 4** recoge la causa de la ERC de estos pacientes. La **Tabla 5** presenta la información relacionada con la diálisis que recibían estos pacientes.

Tabla 3. Características demográficas, clínicas y analíticas de la población. Los datos se presentan en media y DT

Variable Clínica	Media
Edad	67.88
Hb basal (g/dl)	11.55
Albúmina basal (mg/dl)	12.43
PCR (mg/L)	518.
Peso seco (kg)	66.11
Talla (m)	164.78

Tabla 4. Causa de la ERC en la población.

Causa de ERC	Número de Pacientes	Porcentaje (%)
Insuficiencia renal crónica de etiología desconocida.	51	34.46
Diabetes Tipo II.	15	10.14
Glomerulonefritis con control histológico.	11	7.43
Enfermedad vascular renal secundaria a hipertensión (No enfermedad renal primaria).	8	5.41
Riñones poliquísticos.	6	4.05
Otro tipo de alteración renal.	5	3.38
Diabetes Tipo I.	5	3.38
Nefropatía hereditaria con sordera de percepción (Síndrome de Alport).	4	2.70
Nefropatía membranosa.	4	2.70
Nefropatía diabética.	3	2.03
Enfermedades multisistémicas.	3	2.03
Otros trastornos renales concretos.	3	2.03
Nefropatía por IgA.	2	1.35
Nefritis intersticial tubular (no pielonefritis).	2	1.35
GN membrano proliferativa tipo I.	2	1.35
Enfermedad vascular de tipo no especificado.	2	1.35
Tumor renal.	2	1.35
Otras enfermedades vasculares renales.	2	1.35

Amiloidosis.	2	1.35
Necrosis tubular aguda no filiada.	2	1.35
Fracaso renal agudo.	2	1.35
Pielonefritis/Nefritis intersticial asociada con vejiga neurogénica.	1	0.68
ERC secundaria a daño microvascular por HTA.	1	0.68
Pérdida traumática o quirúrgica del riñón.	1	0.68
Etiología no filiada.	1	0.68
Pielonefritis/Nefritis intersticial de causa no especificada.	1	0.68
Glomerulonefritis sin control histológico.	1	0.68
Pielonefritis/Nefritis intersticial secundaria a reflujo uretero-vesical sin obstrucción.	1	0.68
Pielonefritis/Nefritis intersticial debida a otras causas.	1	0.68
Pielonefritis/Nefritis intersticial asociada a urolitiasis	1	0.68
Enfermedad vascular renal secundaria a hipertensión maligna.	1	0.68
Lupus eritematoso diseminado.	1	0.68
Mielomatosis/enfermedad por depósito de cadenas ligeras.	1	0.68

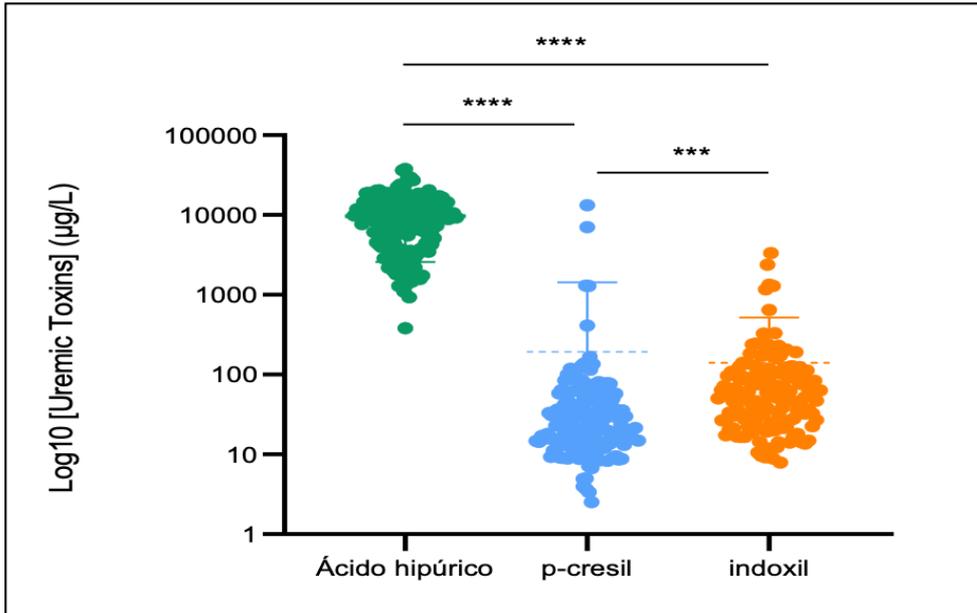
Tabla 5. Información relacionada con la diálisis en la población.

Variable relacionada con diálisis	Media
Horas_por_semana	9.97
Horas_por_sesión	3.55
Sesiones_por_semana	3
Kt/V	1.49

Se determinaron los niveles de las tres toxinas urémicas motivo de este estudio en los pacientes de esta cohorte, siendo la media \pm desviación típica (DT) y error típico de la media (ETM) de estos valores, respectivamente para ácido hipúrico (AH); sulfato de p-Cresil (PCS); sulfato de indoxilo (SI).

AH: 156.590 $\mu\text{g/L} \pm 827,31 \mu\text{g/L}$ (68,01 $\mu\text{g/L}$), SC: 68,05 $\mu\text{g/L} \pm 187,73 \mu\text{g/L}$ (15,43 $\mu\text{g/L}$), SI: 181,75 $\mu\text{g/L} \pm 484,06 \mu\text{g/L}$ (39,73 $\mu\text{g/L}$). Al corte transversal de estos datos, los niveles de estos tres solutos fueron distintos entre sí, lo que se puede explicar por la naturaleza molecular distinta de estos compuestos ($p < 0,05$, **Figura 8**).

Figura 8. Niveles de AH, SP y SI en la cohorte de pacientes en HD en línea (n=148)



AH, ácido hipúrico; SC, sulfato de p-Cresil; SI, sulfato de indoxilo.

5.2 Estudio 2

De manera similar a lo que se presenta para el Estudio 1, la **Tabla 6** presenta, las características demográficas, clínicas y resultados de la analítica de rutina de los 29 pacientes participantes en este estudio.

Tabla 6. Características demográficas, clínicas y analíticas de la población.

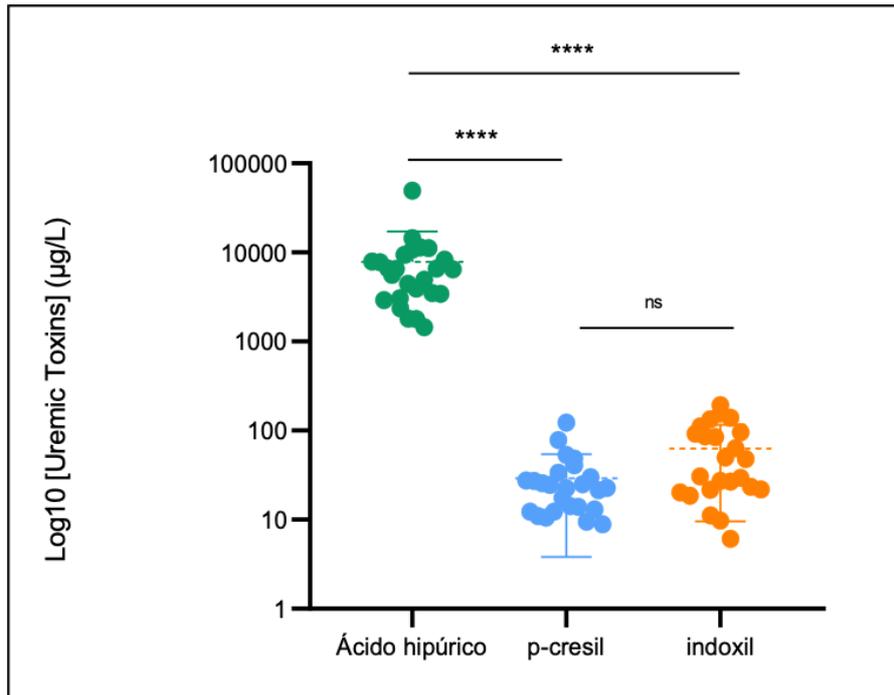
Variable	Media
Edad (años)	57,67
Hemoglobina (g/dl)	12,37
Calcio (mg/dl)	8,82
Fósforo (mg/dl)	3,79
Potasio (mg/dl)	4,78

Creatinina (mg/dl)	6,81
K Crea	15,59
K Urea	8,47
PTH (pg/dl)	289,60
Urea (mg/dl)	127,33
Diuresis 24h (ml)	1500
Urea en orina (mg/dl)	871,67
Creatinina en orina (mg/dl)	79,67

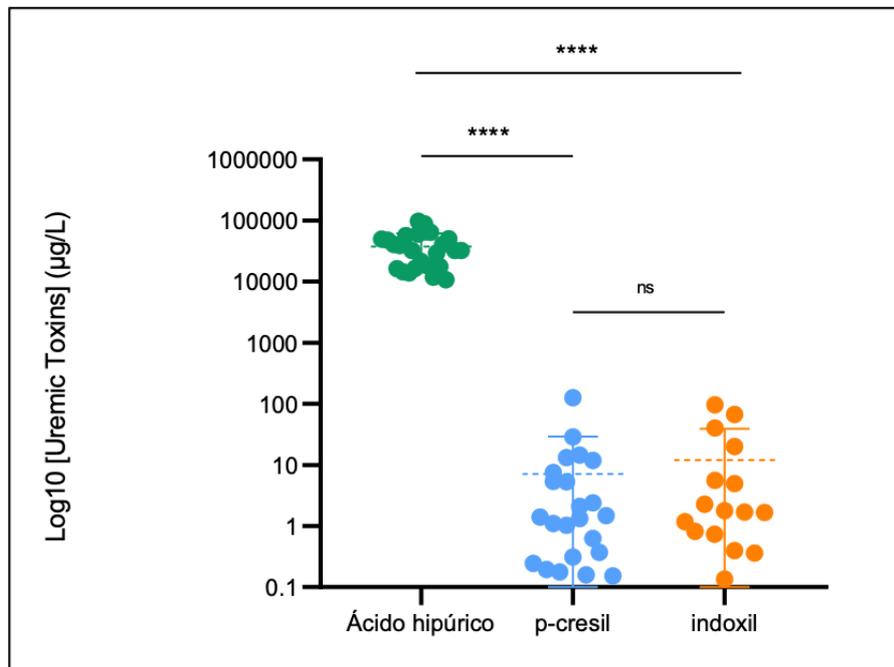
La media \pm desviación típica (DT) y ETM de los niveles de AH, SC y SI que se determinaron en esta cohorte de pacientes en sangre y orina, fueron, respectivamente, en sangre AH: 5591,82 $\mu\text{g/L} \pm$ 500,99 $\mu\text{g/L}$ (1868,36 $\mu\text{g/L}$); SC: 52349,39 $\mu\text{g/L} \pm$ 1260,21 $\mu\text{g/L}$ (6369,71 $\mu\text{g/L}$) y SI 22,81 $\mu\text{g/L} \pm$ 73,83 $\mu\text{g/L}$ (5,05 $\mu\text{g/L}$). En orina: AH: 9,41 $\mu\text{g/L} \pm$ 23,23 $\mu\text{g/L}$ (18,27 $\mu\text{g/L}$), SC: 42,40 $\mu\text{g/L} \pm$ 123,77 $\mu\text{g/L}$ (10,82 $\mu\text{g/L}$), SI: 14,63 $\mu\text{g/L} \pm$ 28,14 $\mu\text{g/L}$ (25,70 $\mu\text{g/L}$). Observamos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de estos tres solutos que se explica por la naturaleza molecular distinta de estos compuestos ($p < 0,05$, **Figura 9**). Llama la atención que el AH es el más elevado tanto en sangre como en orina. Era de esperar unos valores inferiores en sangre al excretar más. La generación de esta toxina es muy elevada. Pero si observamos unos valores proporcionales entre sangre y orina. Se eliminan en orina concentraciones proporcionales a los valores en plasma. Al excretarse por excreción tubular es un dato esperable en el contexto fisiológico.

Figura 9. Niveles de AH, SP y SI en la cohorte de pacientes en HD incremental ($n=29$). Los niveles se determinaron en sangre (A) y en orina (B).

(A)



(B)

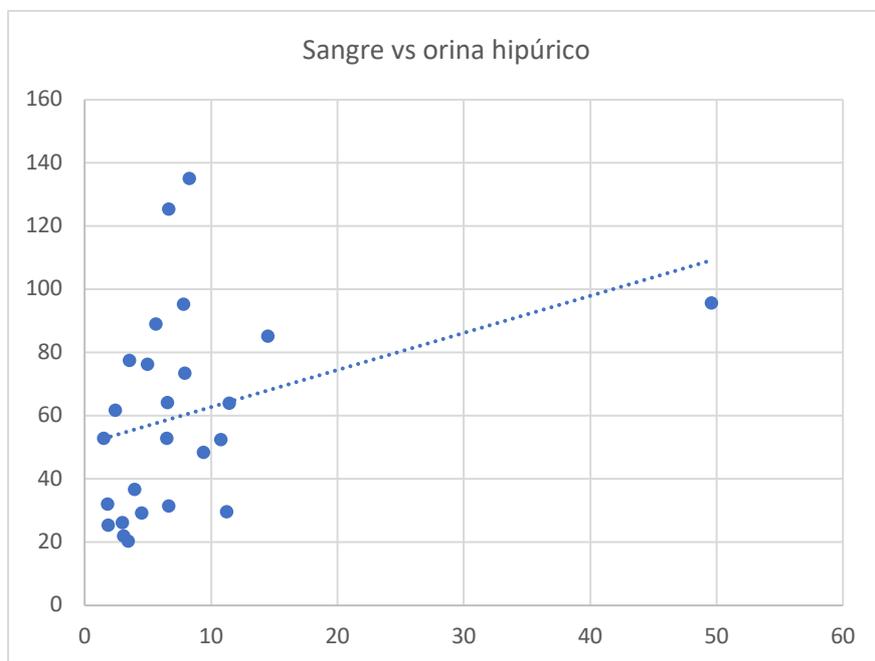


AH, ácido hipúrico; SC, sulfato de p-Cresil; SI, sulfato de indoxilo.

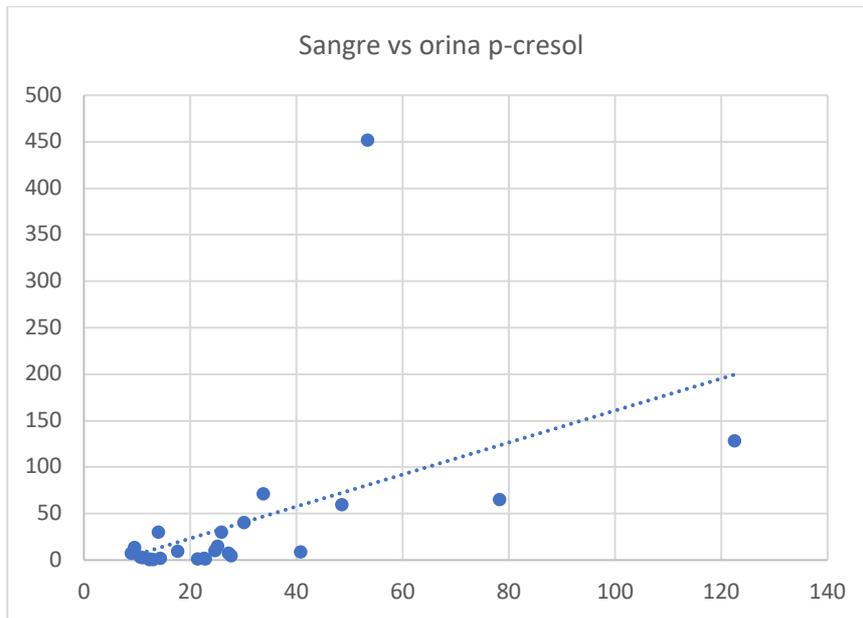
En el análisis de correlación lineal (**Figura 10**), encontramos relación significativa y positiva entre los niveles en sangre y orina para AH (Spearman 0.48, p: 0.0144) y SC (Spearman 0.64, p: 0.0005), pero no para SI (Spearman 0.238, p 0.3731).

Figura 10. Análisis de correlación lineal para las TU medidas en los pacientes en HD incremental (n=29).

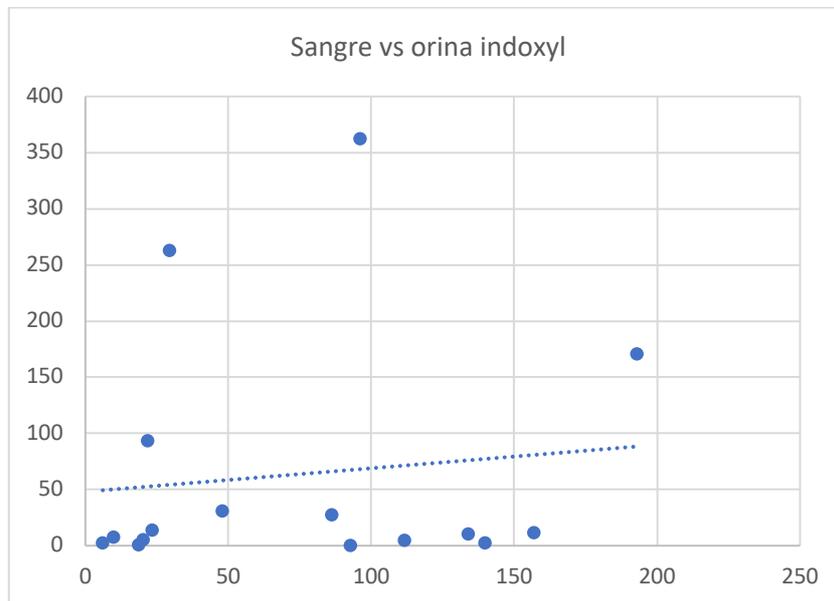
(A)



(B)



(C)



Los niveles se determinaron en sangre, presentándose la relación de los niveles de AH (A), SP (B) y SI (C) en sangre y orina. AH, ácido hipúrico; SC, sulfato de p-Cresil; SI, sulfato de indoxilo.

Observamos una relación negativa entre los niveles de AH en orina con el Kt/Vmixto (-0,521, 0,0090).

En las figuras 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17 se presentan los diagramas de correlación que ilustran la relación entre diferentes variables estudiadas, como el volumen de diuresis, los parámetros de diálisis y las concentraciones de toxinas. Estas gráficas permiten observar de manera visual si existe o no un vínculo estadísticamente significativo entre las concentraciones séricas y urinarias de dichas toxinas, así como evaluar el papel de otros factores, por ejemplo, su comportamiento en presencia o ausencia de diuréticos. A continuación, se describen los resultados más relevantes de este análisis.

Figura 11

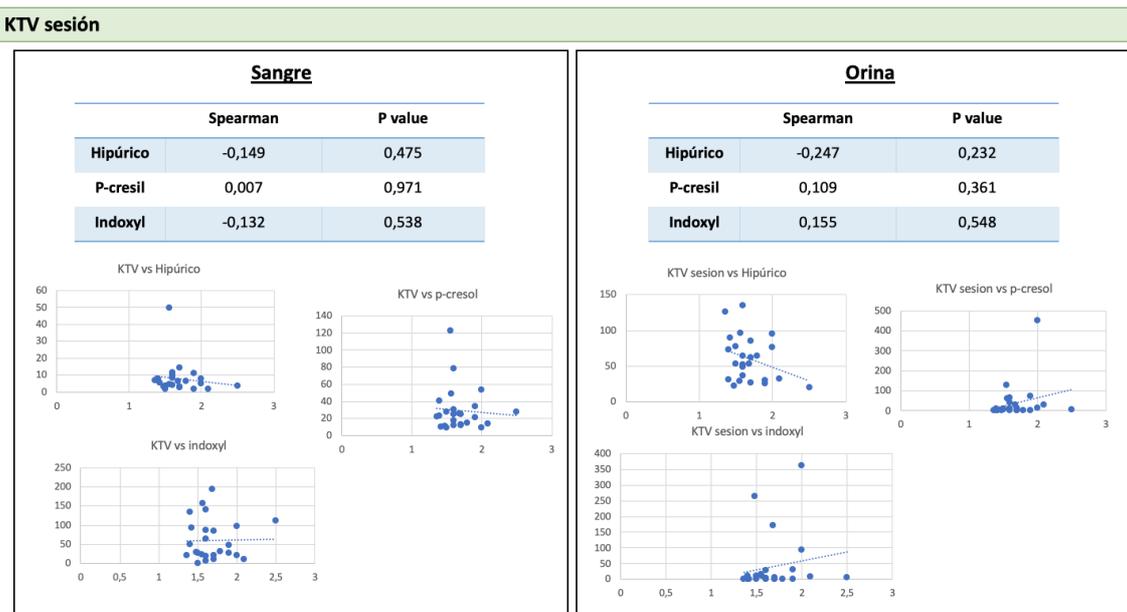


Figura 12

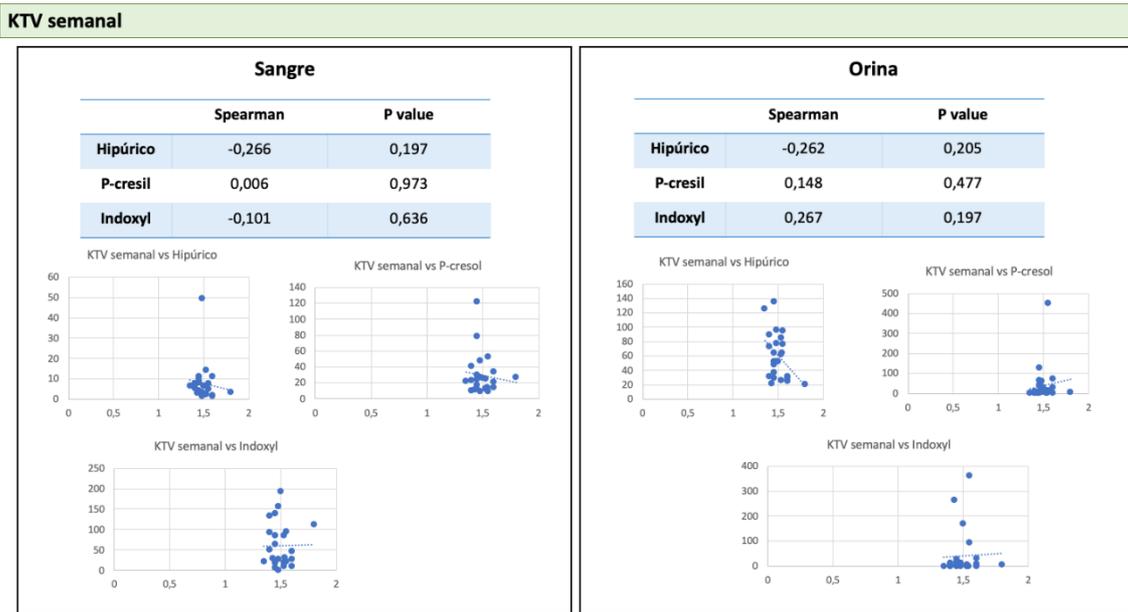


Figura 13

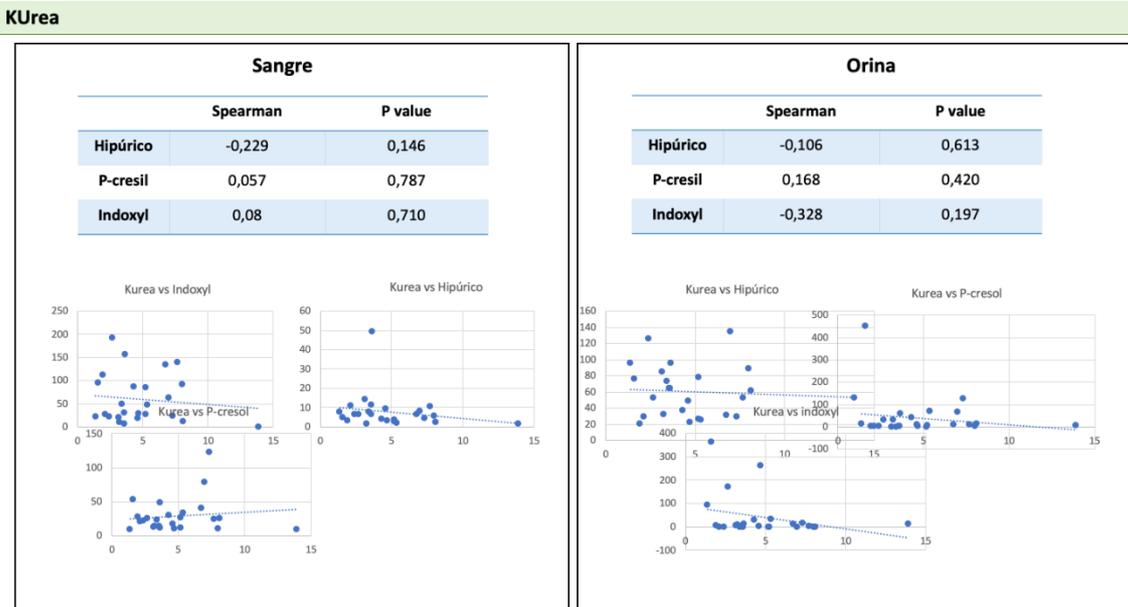


Figura 14

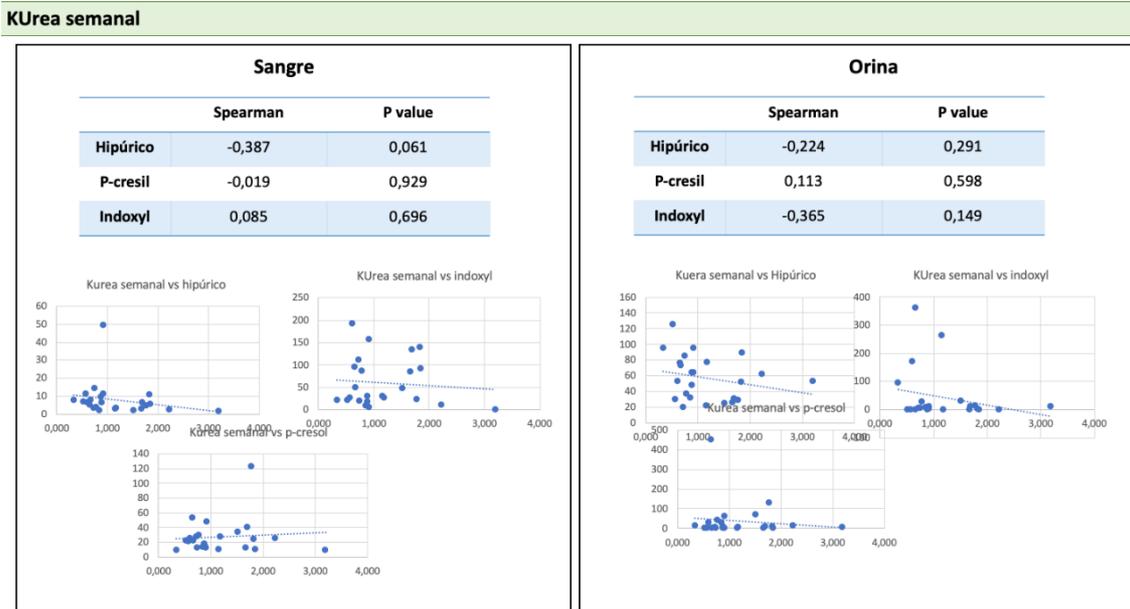


Figura 15

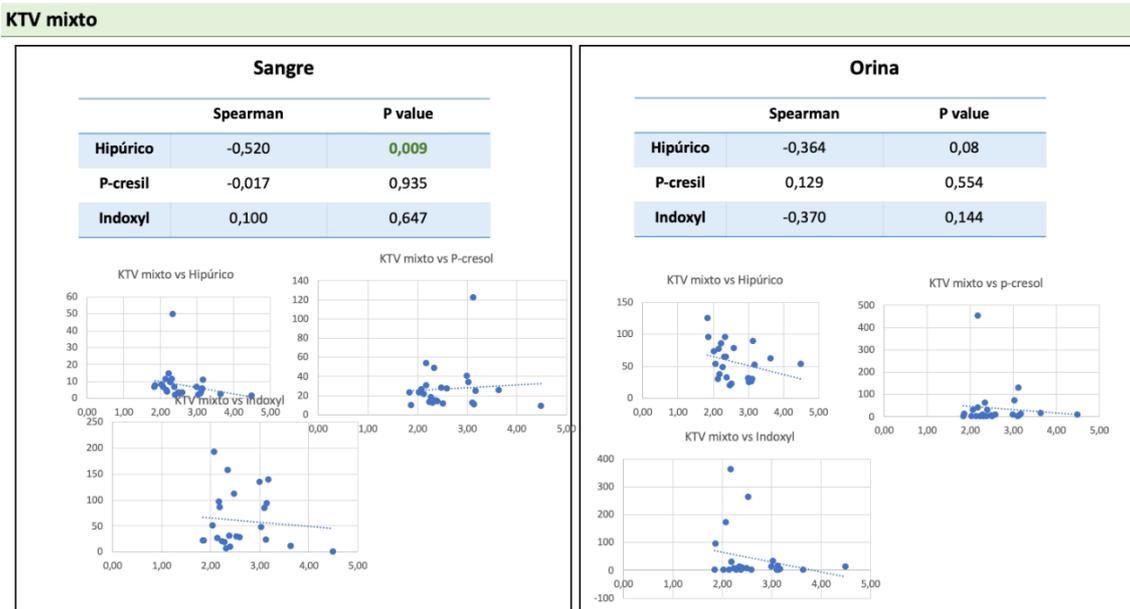


Figura 16

Concentración de toxinas en sangre vs concentración de toxinas en orina

	Spearman	P value
Hipúrico	0,483	0,014
P-cresil	0,642	0,001
Indoxyl	0,238	0,373

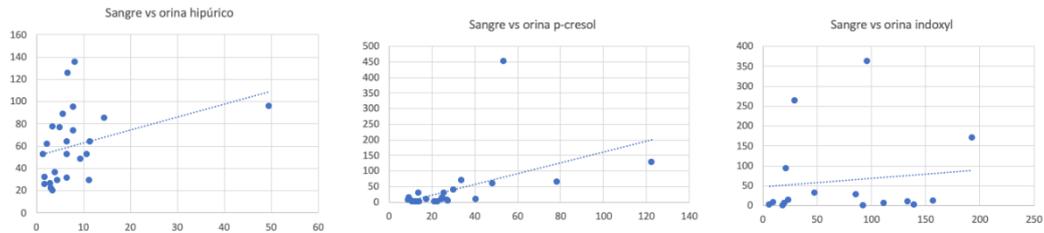
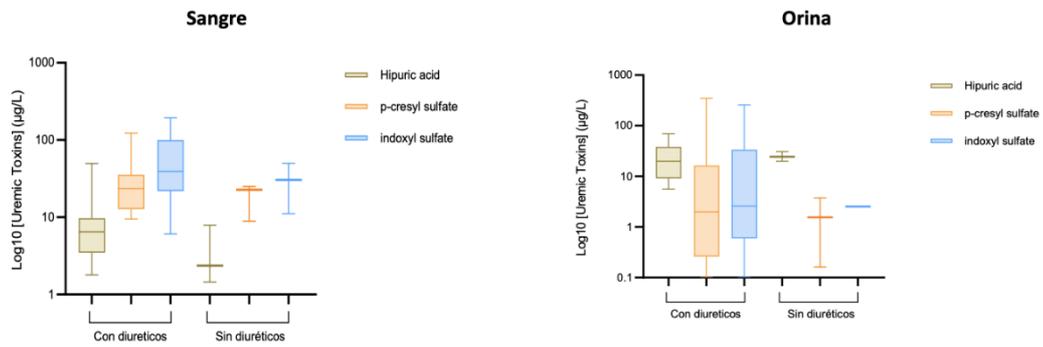


Figura 17

Separar a los pacientes en función de si tienen o no diuréticos



	Kruskal-Wallis test				
	Dunn's multiple comparisons	Mean rank diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
PLASMA	Hipúrico (Diuréticos vs no diuréticos)	9,091	No	ns	>0,9999
	p-cresil (Diuréticos vs no diuréticos)	7,121	No	ns	>0,9999
	Indoxil (Diuréticos vs no diuréticos)	9,864	No	ns	>0,9999
ORINA	Kruskal-Wallis test				
	Dunn's multiple comparisons	Mean rank diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
	Hipúrico (Diuréticos vs no diuréticos)	-3,227	No	ns	>0,9999
	p-cresil (Diuréticos vs no diuréticos)	8,955	No	ns	>0,9999
Indoxil (Diuréticos vs no diuréticos)	5,875	No	ns	>0,9999	

La **Tabla 7** presenta un análisis de correlación lineal (coeficiente de Spearman) entre los niveles de las toxinas urémicas (ácido hipúrico, sulfato de p-Cresil e indoxilo sulfato, tanto en sangre como en orina) y diversos indicadores de la función renal y de la eficacia dialítica:

1. **Kt/Vpor sesión:** mide la eficacia de cada sesión de diálisis.
2. **Kt/Vsemanal:** evalúa la adecuación dialítica acumulada a lo largo de la semana.
3. **Kurea:** hace referencia al aclaramiento de urea por vía renal (es decir, la función renal residual), complementario a la diálisis.

Lo que se buscaba era determinar si niveles más elevados o más bajos de toxinas urémicas en sangre y orina se asociaban de forma significativa con mayor o menor función renal residual y con la capacidad de la diálisis para depurar sustancias, que se determina con el KT/V. En la tabla se ve que la mayoría de los p-valores son superiores a 0,05, lo que implica que no se encontró una correlación lineal estadísticamente significativa entre los niveles de las toxinas y los distintos parámetros de eficacia dialítica o aclaramiento renal. En otras palabras, dentro de este grupo de pacientes:

- No hubo una relación consistente entre el Kt/Vde la sesión o el Kt/Vsemanal y la concentración de estas toxinas ni en sangre ni en orina, tanto positiva como negativa.
- Tampoco se demostró una relación clara con el Kurea, que refleja la función renal residual.

Desde el punto de vista clínico, estos datos sugieren que, en esta cohorte, ni la fracción de diálisis medida por el KT/Vni la función renal residual medida por el aclaramiento de urea explican por sí solas la variabilidad de los niveles de ácido hipúrico, sulfato de p-Cresil e indoxilo sulfato. Por lo que la relación no fue significativa para la relación entre las tres toxinas determinadas en sangre y orina y el Kt/Vde la sesión, Kt/Vsemanal, el aclaramiento de urea.

Tabla 7 Resto de resultados del análisis de correlación lineal para las TU medidas.

	Spearman	p-valor
Kt/Vsesión		
AH sangre/orina	-0,149/-0,247	0,475/0,232
SC sangre/orina	0,007/0,109	0,971/0,361
SI sangre/orina	-0,132/0,155	0,538/0,548
Kt/Vsemanal		
AH sangre/orina	-0,266/-0,262	0,197/0,205
SC sangre/orina	0,006/0,148	0,973/0,477
SI sangre/orina	-0,101/0,267	0,636/0,197
Kurea		
AH sangre/orina	-0,229/-0,106	0,146/0,613
SC sangre/orina	0,057/0,168	0,787/0,420
SI sangre/orina	0,08/-0,328	0,710/0,197

Pacientes en HD incremental (n=29). Abreviaturas: AH, ácido hipúrico; HD, hemodiálisis, SC, sulfato de p-Cresil; SI, sulfato de indoxilo; TU, toxinas urémicas.

5.2.1 Comparación niveles plasmáticos de TUUP pacientes estudio 1 y estudio 2

Finalmente, se realizó una comparación directa entre los niveles plasmáticos de las toxinas urémicas estudiadas en los pacientes de la cohorte 1 (n=148) y los de la cohorte 2 (n=29). Los resultados muestran que la media de ácido hipúrico fue sustancialmente más baja en los

pacientes del estudio 2 (5.59 mg/L) en comparación con los pacientes del estudio 1 (156.59 mg/L). En el caso del p-cresol, los valores también fueron inferiores en la cohorte incremental (52.35 µg/L vs. 68.05 µg/L), mientras que el sulfato de indoxilo presentó una diferencia aún mayor (22.81 µg/L en incremental vs. 181.75 µg/L en pacientes del estudio 1).

Estos resultados se representan de forma detallada en las gráficas de resultados: la **Figura 18** muestra las concentraciones de TUUP en plasma en los pacientes de la cohorte del estudio 1, la **Figura 19** recoge las mismas toxinas en los pacientes correspondientes al estudio 2, y la **Figura 20** presenta la comparación directa entre ambos grupos. En esta última se aprecia visualmente la reducción marcada de las concentraciones plasmáticas en el grupo incremental para todas las toxinas analizadas, especialmente para el ácido hipúrico.

Figura 18 Concentraciones de TUUP en plasma en los pacientes de la cohorte del estudio 1.

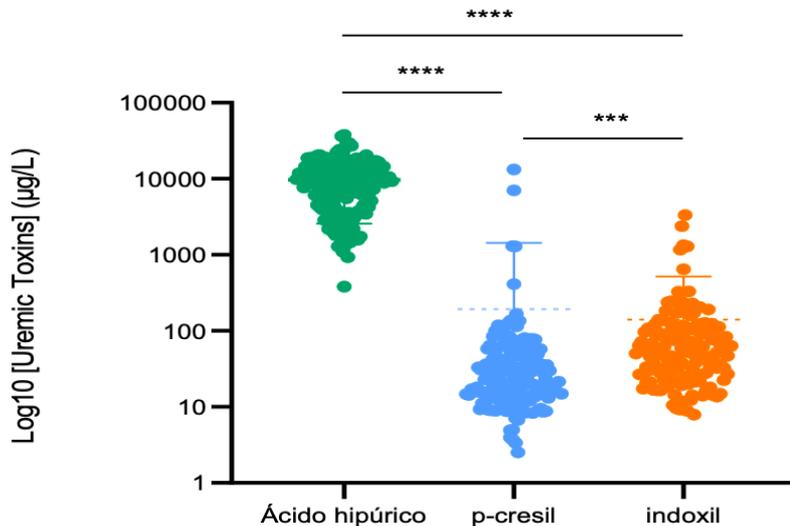


Figura 19 Concentraciones de TUUP en plasma en los pacientes de la cohorte del estudio 2

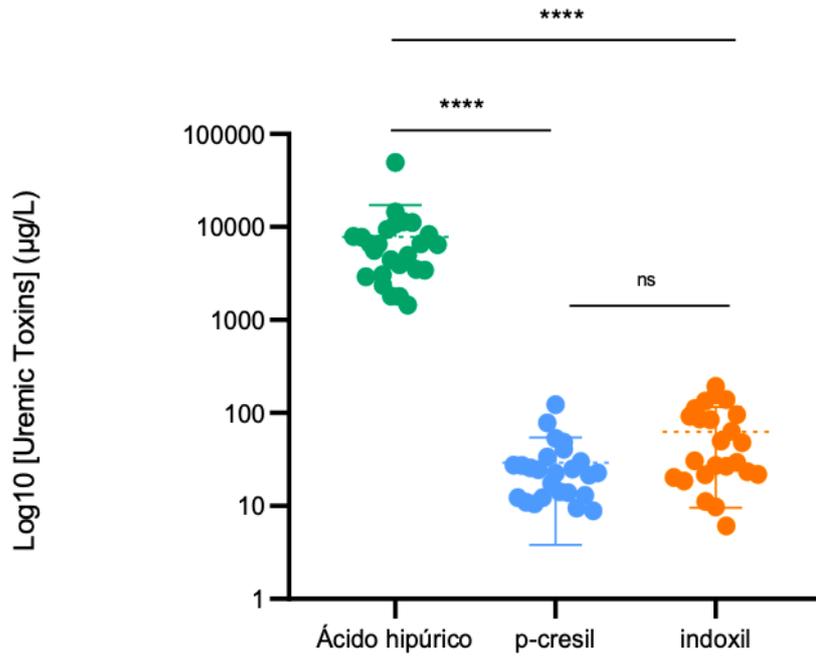
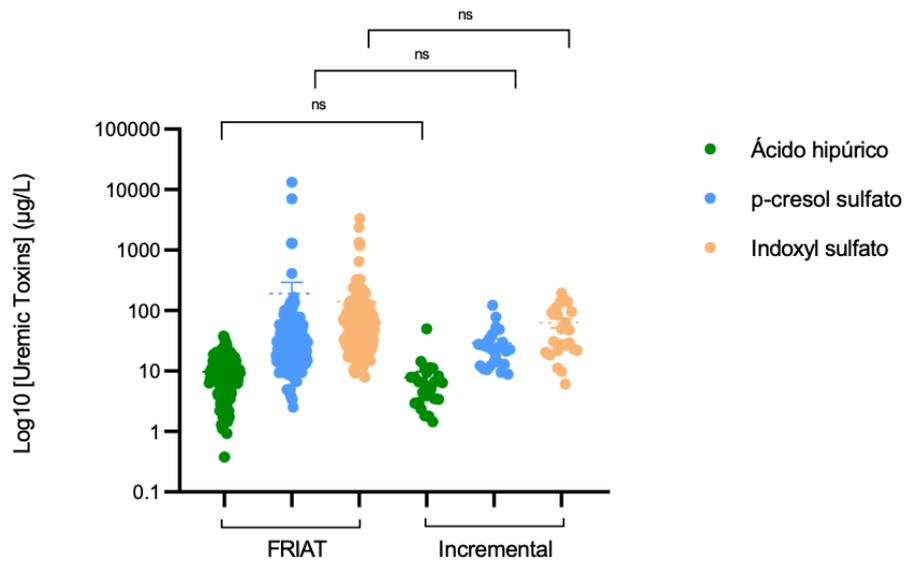


Figura 20 Comparación directa entre ambos grupos.



Estas diferencias son consistentes con la hipótesis fisiológica de que la función renal residual, presente en los pacientes de HD incremental, permite un aclaramiento continuo y sostenido de toxinas urémicas, especialmente aquellas que se eliminan por secreción tubular activa, como el ácido hipúrico **92**. Los resultados refuerzan el papel determinante de la función tubular en la depuración de TUUP, más allá de la eficacia dialítica convencional.

5.3 Estudio 3

Las **Tabla 8**, **Tabla 9** y **Tabla 10** presentan, respectivamente, las características demográficas, clínicas y resultados de la analítica de rutina de los 17 pacientes participantes en este estudio, su causa de ERC, y la información relacionada con la diálisis que recibían estos pacientes.

Tabla 8: Características demográficas y clínicas de los pacientes

Código Paciente	Edad	Sexo	Tiempo en HD	Inflamación o cáncer	Diuresis	Tratamiento diurético	Hb basal (g/dl)	Albúmina basal (mg/dl)	PCR (mg/L)
1	81	M	4.7	No, no	0	Sí	13.3	3723	2
2	45	M	29.3	No, no	0	Sí	10.3	4323	2
3	57	M	1.9	No, no	0	Sí	10.3	3760	2
4	70	M	11.3	No, no	0	Sí	12.3	3088	58
5	72	F	1.0	No, no	0	Sí	11.9	3681	0
6	63	M	2.6	No, no	0	Sí	10.8	3229	96
7	39	M	9.5	No, no	0	Sí	13.1	3601	1
8	72	M	10.5	No, no	0	Sí	13,7	3780	3
9	65	M	2.4	No, no	0	Sí	11.9	4052	1
10	65	F	1.4	No, no	0	Sí	12.4	3804	3
11	35	F	18.8	No, no	0	Sí	12.3	3557	7
12	73	M	22.0	No, no	0	Sí	9.7	--	7.83
13	72	M	2.0	No, no	0	Sí	11.6	--	0,09
14	72	F	2.0	No, no	0	Sí	10.3	--	0.1
15	66	M	10.0	No, no	0	Sí	9.4	--	0,51
16	51	M	1.0	No, no	0	Sí	15.1	--	0,31
17	65	M	7.0	No, no	0	Sí	10.7	--	0.16

Tabla 9: Causas de enfermedad renal crónica en esta población

Código Paciente	Causa de ERC
1	Nefropatía diabética.
2	Pielonefritis crónica secundaria.
3	Glomerulonefritis mesangial IgA.
5	Sin filiar.
6	PQRAD, Mutación PKD-1, c.11390-11393del (p.Tr.3697Ter)
7	Glomerulonefritis por cambios mínimos.
9	Afectación renal por mieloma.
10	Poliquistosis hepatorrenal.
14	Nefritis inmunoalérgica.
15	Glomerulonefritis extracapilar.
16	Enfermedad tubulointersticial autosómica dominante tipo 2 asociada al gen MUC1.
17	Anéfrico (nefrectomía derecha por tumor de células claras).

Tabla 10: Información relacionada con la diálisis

Parámetro	Media / Valor común
Kt/V	1,74
Tiempo en HD (min)	234,71
Bicarbonato (mmol/L)	34,71
Dializador	Nipro 19H

Tal como se explica en la sección de Material y Métodos, además de las determinaciones de laboratorio habituales, se determinaron en estos participantes los niveles pre- y post-diálisis de las TU. La depuración de toxinas urémicas medidas en sangre y su cinética siguiendo los métodos utilizados con furosemida y torasemida según correspondió se explica en los párrafos siguientes:

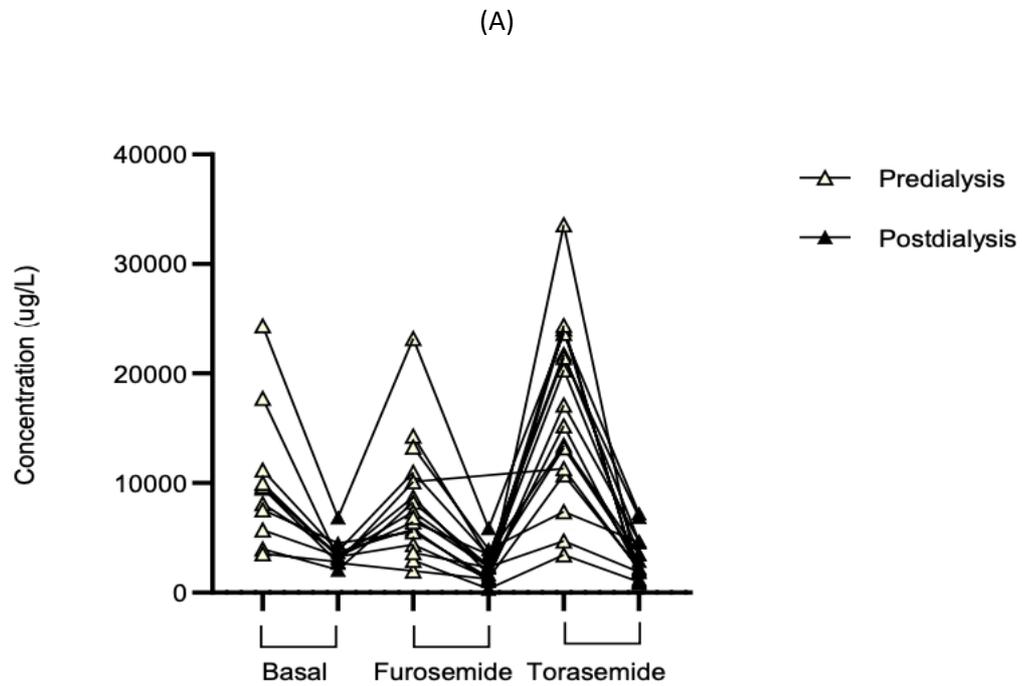
Ácido hipúrico:

Los niveles de ácido hipúrico fueron altos con y sin tratamiento con diuréticos de asa y no se observaron diferencias significativas ($p=0,06$) entre cualquiera de estos (**Figura 21 A**). Los niveles pre-diálisis fueron más altos después de usar torasemida durante una semana que tras el tratamiento con furosemida (**Figura 21 B**). Respecto a los niveles post-diálisis, los valores de AH son similares con y sin diuréticos de asa, aunque el aclaramiento total es mayor con diuréticos de asa, especialmente con torasemida, con la que disminuyen más los niveles de AH al finalizar las sesiones de diálisis (**Figura 21 B**): se observó una disminución de AH 76,79% con torasemida y 63,18% con furosemida, y sin diuréticos de asa la disminución de AH fue de 57,31% (**Figura 21 C**).

Figura 21 Cinética de los niveles de ácido hipúrico.

En la Figura 21 A se representan los niveles individuales de toxinas urémicas antes y después de la sesión de hemodiálisis en tres condiciones distintas: basal sin tratamiento, tras una semana con furosemida, y tras una semana con torasemida. En la fase basal, los niveles pre-diálisis son elevados y descienden moderadamente tras la sesión de hemodiálisis. Con furosemida, los niveles pre-diálisis disminuyen notablemente respecto a la basal, siendo la reducción post-diálisis más leve. En cambio, con torasemida, los niveles pre-diálisis se elevan nuevamente en comparación con furosemida, indicando una mayor movilización de toxinas desde los depósitos tisulares o proteínas plasmáticas, lo que se acompaña de una mayor reducción pos-diálisis,

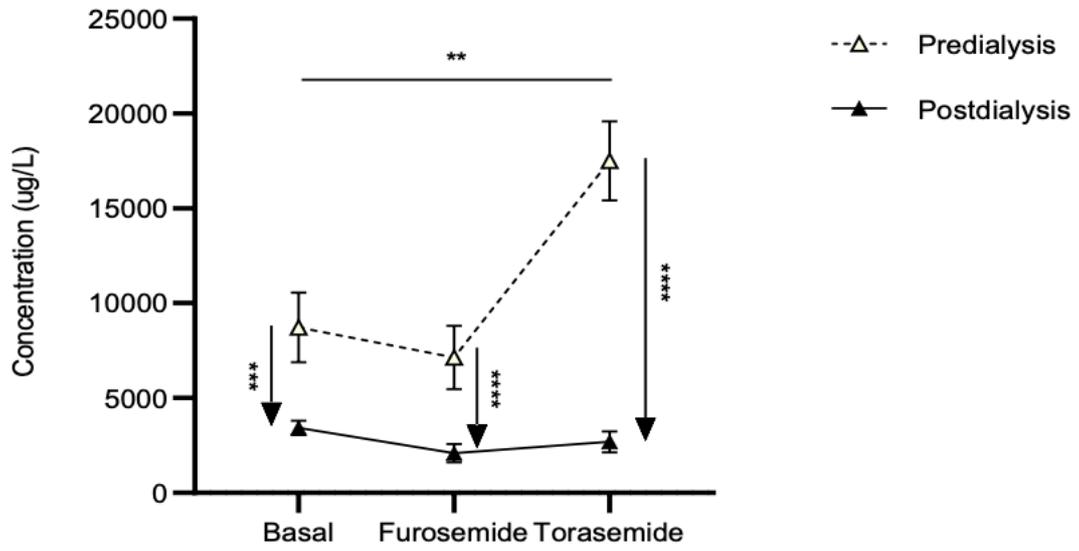
reflejando un efecto más potente de la torasemida en facilitar la eliminación dialítica de las toxinas.



(C) Concentración representada a nivel individual antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre- y post- diálisis de cada paciente).

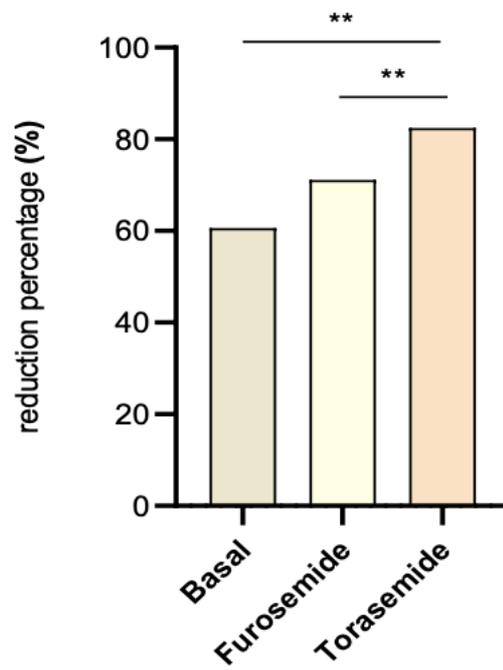
En la figura B se observa cómo el empleo de diuréticos de asa (especialmente torasemida) incrementa la liberación de toxinas desde sus compartimentos de unión a proteínas hacia el plasma, lo cual posibilita una mayor reducción pos-diálisis. Así, la barra correspondiente a torasemida muestra el descenso más pronunciado tras la sesión de diálisis, indicando un efecto potencial de la torasemida en mejorar la eliminación de la toxina durante la diálisis.

(B)



(B) Concentración promedio medida antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre-diálisis entre sí al igual que los de post-diálisis mostrando las diferencias entre ambos momentos y entre las tres condiciones).

(C)



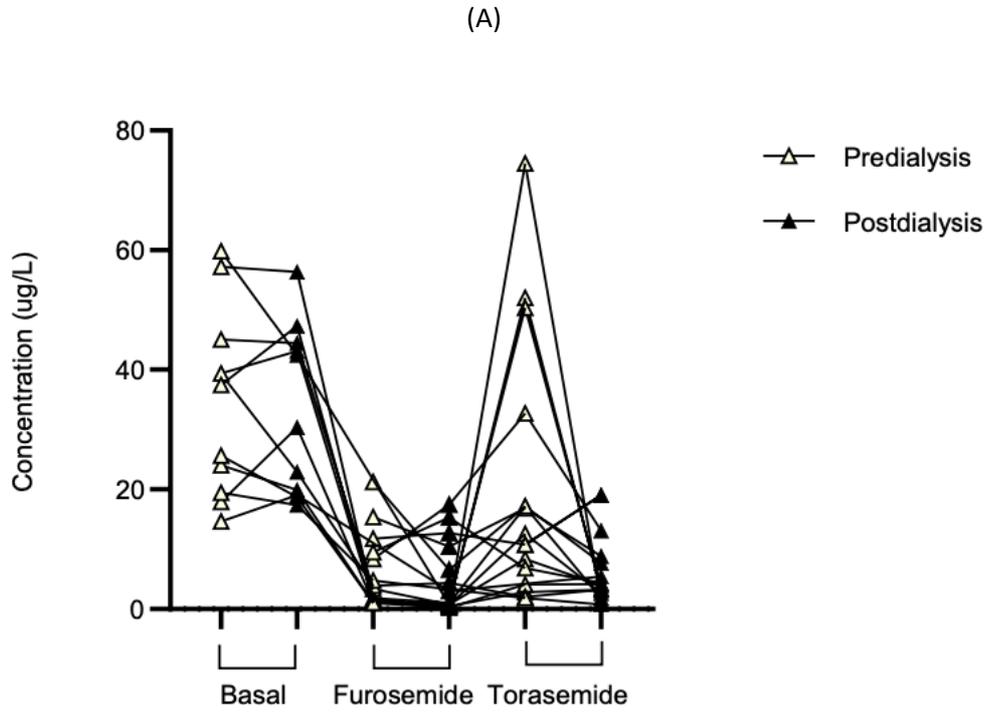
(C) Porcentaje de reducción del ácido hipúrico tras la sesión de diálisis (el porcentaje se calculó a partir de las diferencias entre los valores pre- y post- diálisis mostrando diferencias entre las condiciones).

Las gráficas representan media \pm ETM de ambos grupos de pacientes (n=17) y las concentraciones están expresadas en $\mu\text{g/L}$. Las diferencias estadísticamente significativas se indican como: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ y **** $p < 0,0001$. Las significancias representadas en las gráficas corresponden a los valores pre-diálisis. Sin embargo, algunos valores post-diálisis también muestran diferencias estadísticamente significativas como el caso de los valores basales frente a furosemida con ** $p < 0,01$. ETM, error típico de la media.

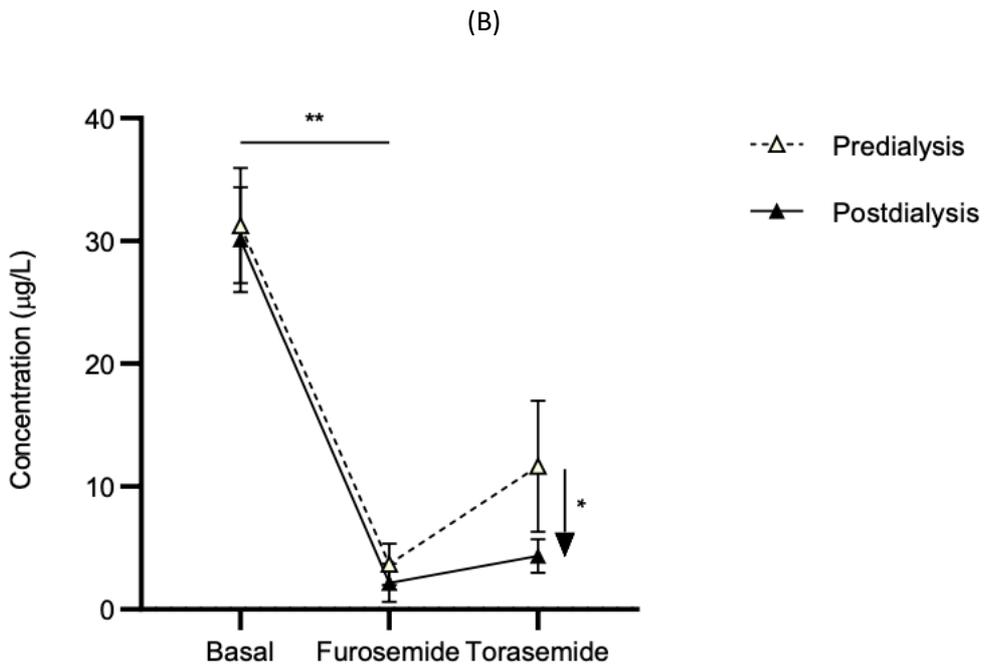
Sulfato de p-Cresil:

Los niveles basales de sulfato de p-Cresil fueron significativamente más elevados sin tratamiento que con tratamiento con diuréticos de asa ($p < 0,05$; **Figura 22 A**). Con furosemida los niveles pre- y post-diálisis fueron más bajos que con torasemida (**Figura 22 B**), aunque las diferencias no son significativas ($p > 0,05$). El descenso de PCS pre-diálisis con torasemida es significativamente mayor que con furosemida (**Figura 22 B**). Sin tratamiento con diuréticos de asa, PCS sólo se reduce un 24% (**Figura 22 C**), mientras que el aclaramiento en tratamiento con furosemida alcanza el 66,34% y con torasemida el 61,83% (**Figura 22 C**).

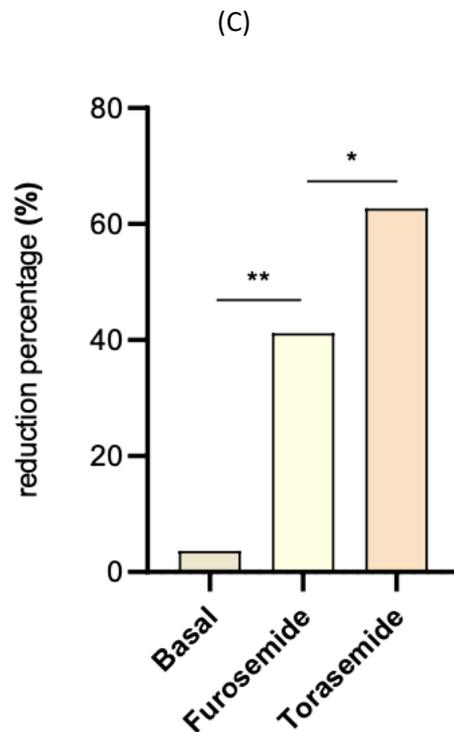
Figura 22 Cinética de los niveles de sulfato de p-Cresil



(A) Concentración representada a nivel individual antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre- y post- diálisis de cada paciente).



(B) Concentración promedio medida antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre-diálisis entre sí al igual que los de post-diálisis mostrando las diferencias entre ambos momentos y entre las tres condiciones).



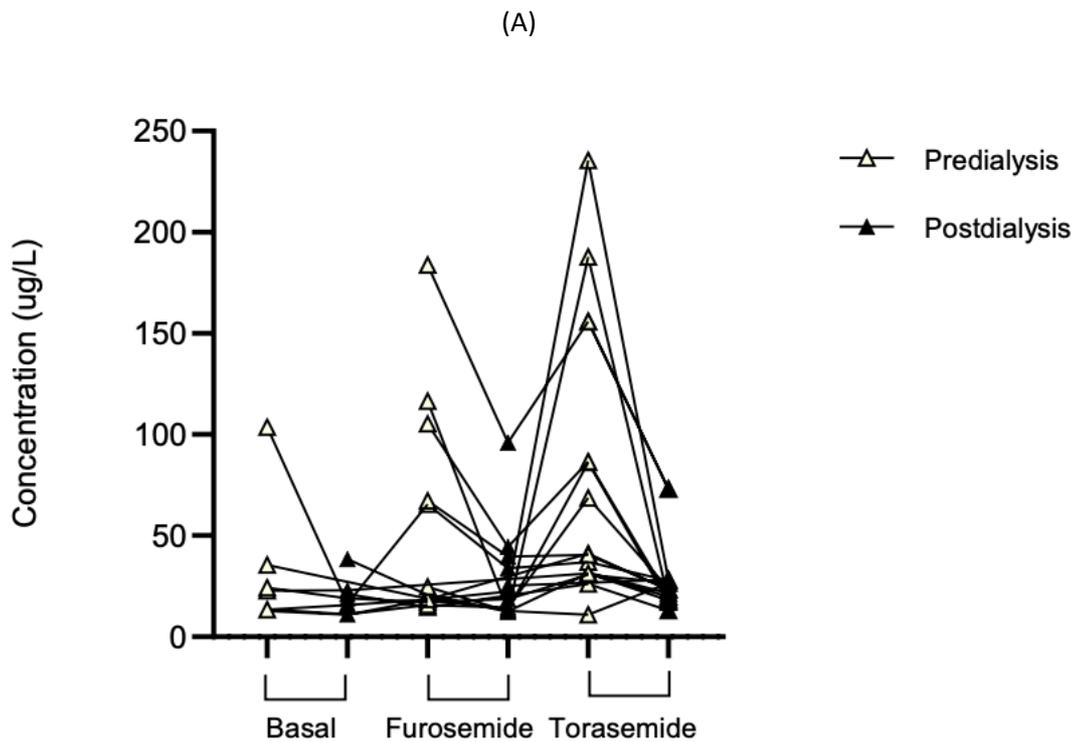
Los niveles corresponden a basal, con furosemida, y con torasemida, (C) Porcentaje de reducción del PCS tras la sesión de diálisis (el porcentaje se calculó a partir de las diferencias entre los valores pre- y post- diálisis mostrando diferencias entre las condiciones).

Las gráficas A, B y C representan media \pm ETM de ambos grupos de pacientes (n=17) y las concentraciones están expresadas en $\mu\text{g/L}$. Las diferencias estadísticamente significativas se indican como: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ y **** $p < 0,0001$. Las significancias representadas en las gráficas corresponden a los valores pre-diálisis. Sin embargo, algunos valores post-diálisis también muestran diferencias estadísticamente significativas como el caso de los valores basales frente a furosemida con ** $p < 0.01$. ETM, error típico de la media.

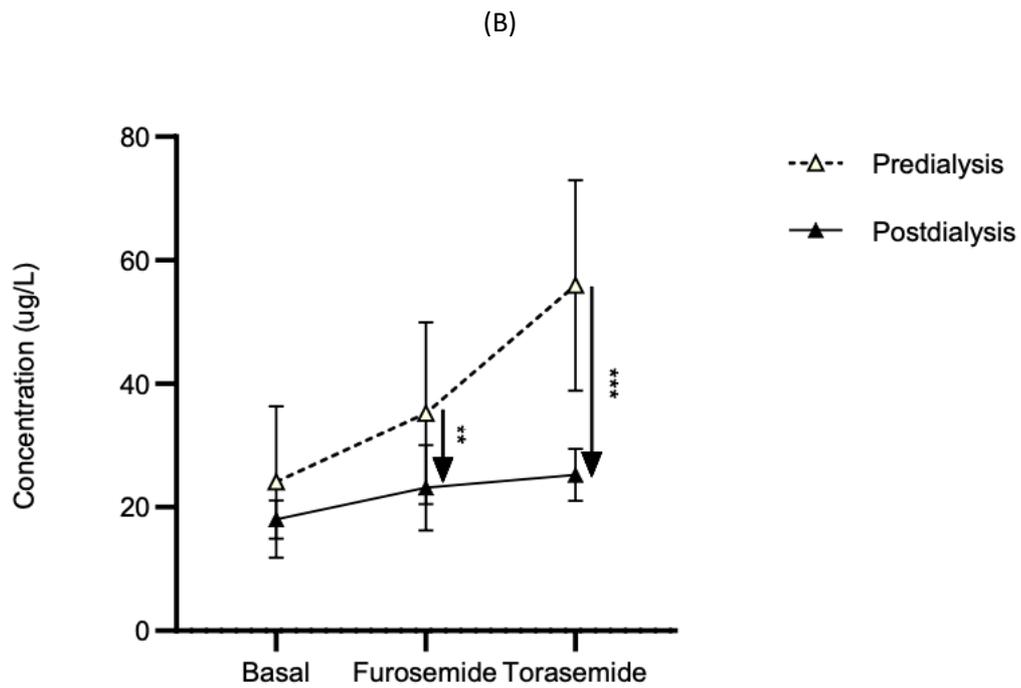
Sulfato de indoxilo:

Los niveles de sulfato de indoxilo fueron altos con y sin tratamiento con diuréticos de asa y no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre estos (**Figura 23 A**). No obstante, con furosemida y torasemida los niveles pre-diálisis aumentaron de forma significativa ($p<0,05$), los que luego disminuyeron también de forma significativa ($p<0,05$; **Figura 23 B**). Con torasemida, la reducción de los niveles de SI es mayor que con furosemida (**Figura 23 C**): con furosemida el aclaramiento de SI es del 59,11%, con torasemida del 58,80%, en ausencia de tratamiento con diuréticos de asa del 26,15%.

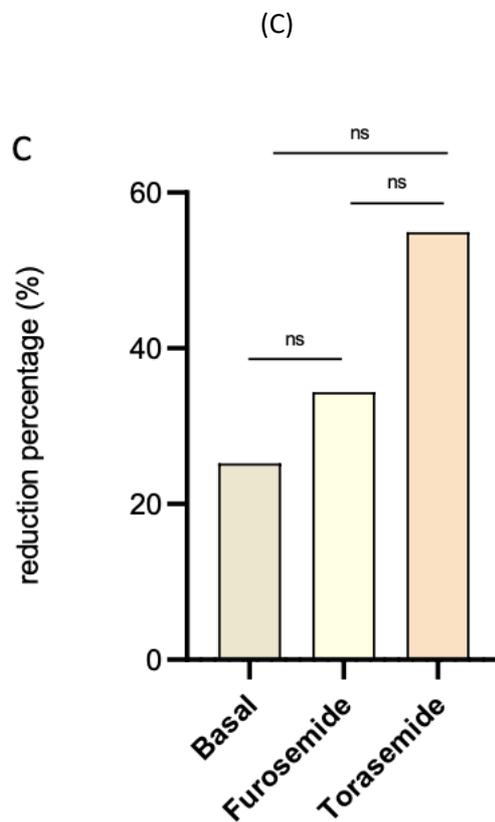
Figura 23. Cinética de los niveles de sulfato de indoxilo



(A) Concentración representada a nivel individual antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre- y post- diálisis de cada paciente).



(B) Concentración promedio medida antes y después de cada sesión de diálisis (las líneas unen los valores pre-diálisis entre sí al igual que los de post-diálisis mostrando las diferencias entre ambos momentos y entre las tres condiciones)



(C) Porcentaje de reducción del ácido hipúrico tras la sesión de diálisis (el porcentaje se calculó a partir de las diferencias entre los valores pre- y post- diálisis mostrando diferencias entre las condiciones).

Las gráficas representan media \pm ETM de ambos grupos de pacientes (n=17) y las concentraciones están expresadas en $\mu\text{g/L}$. Las diferencias estadísticamente significativas se indican como: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ y **** $p < 0,0001$. Las significancias representadas en las gráficas corresponden a los valores pre-diálisis. Sin embargo, algunos valores post-diálisis también muestran diferencias estadísticamente significativas como el caso de los valores basales frente a furosemida con ** $p < 0.01$. ETM, error típico de la media.

6. DISCUSIÓN

6.1 Discusión Estudio 1

El primer análisis realizado ha consistido en conocer la situación de las TUUP en una muestra heterogénea de pacientes, con el fin de saber los valores medios y sus variaciones, en la población estudiada. En España nunca se ha realizado este estudio, y para poder analizar los estudios 2 y 3 necesitábamos caracterizar bien la muestra con la que vamos a trabajar.

Como primer condicionante, del que somos conscientes, es que la muestra es muy heterogénea. Los pacientes no tenían ningún criterio de selección y por ende esperábamos resultados variables. Por lo tanto, hay pacientes de diferentes edades, función renal residual, todos en tratamiento con hemodiálisis en línea, pero con tiempos y pautas variables, de diferentes edades, situación clínica y hábitos dietéticos. Cuando se planteó el estudio, se decidió ver cuales son los condicionantes de esa variabilidad, pero es el motivo de la presente tesis, que está enfocada en mejorar su depuración.

El resultado principal de esta primera parte de la tesis es la constatación de valores sensiblemente inferiores de estas TUUP medidas en sangre, que las publicaciones analizadas. Si bien este tipo de estudios no es común, y hay poca evidencia, por los motivos que analizaremos ahora.

En nuestra cohorte de pacientes (n=148), los valores medios plasmáticos fueron:

Ácido hipúrico (HIPP): 156.59 mg/L

p-Cresil sulfato (PCS): 0.068 mg/L

Indoxil sulfato (IS): 0.182 mg/L

Estas cifras han sido calculadas tras la conversión de unidades desde $\mu\text{g/L}$ y confirman una distribución notablemente asimétrica, especialmente en el caso del HIPP, con valores extremos que distorsionan la media.

Comparación con la literatura

p-Cresil sulfato (PCS)

Nuestros niveles de PCS (media: 0.068 mg/L) son considerablemente inferiores a los de la mayoría de los estudios publicados. Por ejemplo, Bammens et al. informaron valores de 23 ± 11 mg/L en pacientes anúricos **77**, mientras que Marquez et al. reportaron niveles cercanos a 30 mg/L **78**, y Florens et al. describieron un rango de 20–35 mg/L **79**. Esta discrepancia sugiere que la muestra de los pacientes incluidos en nuestro estudio es muy heterogénea como hemos comentado. Los estudios publicados se realizan en una muestra homogénea para intentar identificar las causas y las consecuencias de tener altas concentraciones de TUUP.

Indoxil sulfato (IS)

El valor medio hallado en nuestra muestra fue de 0.182 mg/L, frente a los valores que oscilan entre 10 y 25 mg/L en estudios similares. Marquez et al. sitúan IS en torno a 15 mg/L **78**, Liabeuf et al. en un rango de 10–25 mg/L **80**, y Florens et al. entre 13 y 19 mg/L **79**. La diferencia es notoria y plantea la posibilidad de que los métodos analíticos empleados en nuestra cohorte, en particular la etapa de preparación y separación de la fracción libre estén midiendo principalmente la fracción no unida o representen solo concentraciones totales sin normalización por proteína plasmática.

Ácido hipúrico (HIPP)

En contraste con PCS e IS, los valores de HIPP observados en esta tesis (media: 156.59 mg/L) son considerablemente más altos que los reportados por otros autores. Mihaila et al. sitúan el rango entre 25–50 mg/L **81**, Marquez et al. entre 30–60 mg/L **78**, y Vanholder et al. amplían el rango hasta 70 mg/L **82**. Esto puede deberse a que HIPP es menos dependiente de la unión a proteínas, se excreta por secreción tubular activa, y su acumulación puede dispararse en condiciones de disfunción tubular profunda o en presencia de un metabolismo hepático hipergenerador **81,82**.

Posible explicación de los resultados del estudio 1

Las diferencias encontradas entre nuestros datos y la literatura tienen dos posibles explicaciones.

1.- Causas bioquímicas, técnicas o metodológicas.

Nuestro grupo ha analizado cuidadosamente la técnica empleada en las determinaciones, han sido repetidas con máximo rigor y por dos técnicas diferentes confirmando los datos. Las muestras se trataron con enzimas proteicas para eliminar los fragmentos conjugados y medir la fracción libre total. Por ese motivo descartamos un posible error metodológico. No observamos diferencias en los métodos de análisis realizados por otros grupos, algunos estudios miden la fracción libre, otros la fracción total; algunos usan HPLC y otros técnicas espectrofotométricas o ELISA **80,81**. En nuestro caso medimos fracción libre después de tratar la muestra para liberar todas las moléculas conjugadas.

La diferencia de unidades (mg/L frente a $\mu\text{g/L}$) ha sido una fuente frecuente de error en estudios anteriores, y una adecuada conversión es esencial para evitar conclusiones incorrectas. Sin embargo, en este caso, incluso después de la conversión, los valores de nuestra tesis se mantienen significativamente por debajo (PCS, IS) o por encima (HIPP) de los valores publicados. La conversión de unidades de concentración se ha realizado de forma adecuada.

2.- Causas biológicas

- a) **Variaciones dietéticas:** Una ingesta menor de proteínas puede limitar la producción bacteriana de indoles y cresoles **77,78**. La dieta de los pacientes en España difiere notablemente con la de los pacientes de centro y norte de Europa donde se han realizado la mayoría de los estudios. Nuestra población sigue una dieta principalmente mediterránea, aunque no se puede asegurar que sea completa. Se ha visto que esta dieta es la que tiene un impacto más positivo sobre la génesis de TUUP **83,84**

La dieta mediterránea aporta una alta cantidad de fibra, fundamentalmente soluble, un menor aporte de proteínas animales, mayor cantidad de proteínas vegetales con menor contenido en fósforo y una concentración adecuada de hidratos de carbono de cadena larga. Muy poco alimento procesado, con pocos aditivos **86,85** La presencia de vino y aceite de oliva, con grasas insaturadas mejora aún más estas ventajas, facilitando una flora intestinal sana, y por lo tanto menor producción de TUUP **87,88**. La microbiota intestinal por lo tanto puede estar menos alterada en nuestro estudio, presentando diferencias respecto a la disbiosis bacteriana lo que podría explicar niveles reducidos de PCS e IS **79,81**.

- b) **Efectos farmacológicos o comorbilidades:** Medicaciones o alteraciones hepáticas pueden modificar la síntesis, conjugación y secreción de TUUP **81,89**. No se han analizado las diferencias farmacológicas entre las diferentes poblaciones.
- c) **Función renal residual:** Nuestra muestra es heterogénea. Se considera anuria por debajo de 500 ml/día, si bien es conocido que incluso cantidades mínimas de diuresis eliminan TUUP **77,90** con lo que pensamos que esta podría ser una de las causas más importantes de esta diferencia. En nuestra unidad se tiene como prioridad mantener la función renal residual el mayor tiempo posible pues es conocida sus implicaciones en morbimortalidad **91**. Al ser un estudio poblacional no disponemos del dato real de diuresis de estos pacientes, pues sería la recogida de orina diaria de cada paciente la única manera de haberla cuantificado, y no se ha podido realizar.
- d) **Edad de la población.** En Madrid se incorporan pacientes a diálisis sin límite de edad. La población de diálisis es una población envejecida y además presenta altas tasas de trasplante renal, especialmente en la población más joven. La elevada edad media de nuestra muestra, presenta una variable que desconocemos si tiene alguna influencia sobre estas toxinas, pero pensamos ampliar la muestra en estudios sucesivos, para analizar esta posibilidad. Si, es conocido que la dieta de un anciano es diferente a la dieta

que llevan las personas jóvenes, influida por el apetito, actividad física, comorbilidades, accesibilidad a dietas variadas y gustos.

Implicaciones clínicas

Aunque los valores absolutos difieren, la interpretación fisiopatológica se mantiene válida: la ausencia de FRR compromete la excreción continua de estas toxinas, lo que refuerza la importancia de estrategias orientadas a preservar dicha función renal. Además, como destaca Kooman et al., la modulación de la producción intestinal, vía dieta, simbióticos o desplazadores representa una vía complementaria a las técnicas habituales usadas en el tratamiento renal sustitutivo **81,89**. En el caso del ácido hipúrico, también sería aconsejable considerar el estado hepático y la capacidad de secreción tubular activa.

A modo de resumen de la discusión del estudio 1. Los valores obtenidos en nuestra cohorte para PCS (0.068 mg/L) e IS (0.182 mg/L) son sustancialmente más bajos que los reportados en la literatura (20–30 mg/L), mientras que los de HIPP (156.59 mg/L) son notablemente más elevados. Esta divergencia debe interpretarse con cautela y probablemente se explique por diferencias en la metodología, el perfil dietético, la microbiota y la situación clínica basal de los pacientes estudiados. La hemodiálisis por sí sola sigue siendo insuficiente para eliminar eficazmente las TUUP, por lo que deben considerarse intervenciones complementarias y estrategias que favorezcan la preservación de la FRR y el manejo intestinal de estas moléculas **77–82**.

El objetivo de este estudio era conocer la situación basal de nuestros pacientes, para intentar en los estudios 2 y 3 mejorar su depuración. El que los valores sean inferiores nos pueden indicar una aceptable situación de nuestros pacientes, pero no nos debe desviar de nuestro objetivo principal que es reducirlos aún más.

6.2 Discusión Estudio 2

Los principales resultados de este estudio son los siguientes:

- 1º) No existe relación entre el volumen de diuresis en 24h con la concentración de toxinas en ninguno de los tres casos.
- 2º) Sí existe relación entre la concentración de toxinas en sangre y en orina.
- 3º) No hay relación entre el Kurea y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
- 4º) No hay relación entre el Kt/Vpor sesión y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
- 5º) No hay relación entre el Kt/Vsemanal y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
- 6º) No hay relación entre el Kurea semanal y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
- 7ª) Sí existe relación entre el Kt/Vmixto y la concentración de toxinas en sangre de hipúrico.
- 8º) No hay diferencias significativas en los niveles de toxinas entre el grupo con diuréticos y el grupo sin diuréticos.

El análisis de cada uno de los puntos es:

1º) No se observó una relación significativa entre el volumen de diuresis en 24 horas y la concentración de toxinas urémicas unidas a proteínas en orina para ninguno de los tres compuestos analizados. Es decir, un mayor volumen urinario no se asoció a una mayor concentración ni a una mayor eliminación de TUUP. Aunque otros autores sí han descrito dicha asociación en poblaciones con función renal residual conservada **93,77**, nuestros hallazgos no la confirman. Inicialmente esperábamos que una mayor diuresis favoreciera una mayor excreción de TUUP, sin embargo, esta discrepancia debe interpretarse con cautela.

Como se observa en los siguientes análisis, sí existe una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de TUUP y su concentración en orina. Esto refuerza la idea de que la carga plasmática

es el principal determinante de la eliminación urinaria de estas toxinas, y no el volumen de orina en sí mismo. Las TUUP se eliminan predominantemente por secreción tubular **94**, y no por filtración glomerular. Por tanto, si la concentración plasmática de estas toxinas es baja en un momento determinado, por ejemplo, por una buena función renal residual que permita su depuración continua, su excreción urinaria también será proporcionalmente menor, aunque el volumen de diuresis sea elevado.

Este razonamiento es coherente con la fisiología renal, bajo condiciones de FRR mantenida, otras toxinas de pequeño tamaño que se eliminan por filtración, como la urea o la creatinina, seguirán siendo excretadas en proporción al volumen urinario, mientras que las TUUP, al depender de mecanismos activos de secreción, lo harán en función de su disponibilidad plasmática en fracción libre.

2º) Sí, se identificó una relación positiva entre la concentración de toxinas urémicas en sangre y su concentración en orina. Específicamente, aquellos pacientes con niveles más elevados de ácido hipúrico y p-cresol en plasma también presentaban mayores concentraciones urinarias de estas mismas moléculas. Esta asociación no se observó en el caso del indoxil sulfato, donde no se encontró correlación estadísticamente significativa.

- Para el ácido hipúrico: ρ de Spearman = 0.483, $p = 0.014$
- Para el p-cresol: ρ de Spearman = 0.642, $p < 0.001$

Este hallazgo constituye probablemente uno de los resultados más relevantes del presente estudio. La correlación positiva entre concentración sérica y urinaria sugiere que, ante un aumento en la carga plasmática de estas toxinas, el riñón responde con un incremento proporcional en su eliminación, siempre que exista función renal residual activa. Esta capacidad adaptativa implica que la excreción urinaria de TUUP podría actuar como un mecanismo fisiológico de compensación, facilitando su aclaramiento en situaciones de mayor producción o acumulación.

Se sabe que la concentración de TUUP puede aumentar debido a un incremento en su síntesis intestinal, favorecido por una dieta rica en proteínas o con bajo contenido de fibra, así como por alteraciones de la microbiota intestinal (disbiosis), que promueven la proliferación de bacterias proteolíticas y putrefactivas **95,96**. En estos contextos, la capacidad del riñón para eliminar estas toxinas por vía urinaria se vuelve especialmente relevante como vía de escape para limitar su acumulación sistémica.

Aunque el tamaño de nuestra muestra no permite establecer conclusiones definitivas, estos datos respaldan la hipótesis de que una función renal residual conservada contribuye a mantener niveles séricos más bajos de TUUP, actuando como modulador cuando se produce un aumento de su concentración **91**. De hecho, cuando la concentración en sangre es menor, el aclaramiento también lo es, por la propia disminución del sustrato disponible. Este equilibrio refleja una situación fisiológica ideal, en la que la toxicidad sistémica asociada a las TUUP se ve fisiológicamente compensada.

En conjunto, los resultados sugieren que la FRR no solo es útil para la eliminación continua de solutos pequeños, sino que podría desempeñar un papel activo en el control dinámico de toxinas urémicas más complejas. En base a estos hallazgos, planteamos que la función renal residual actúa como un regulador fisiológico frente al aumento de la carga sérica de TUUP.

3º) No se observó relación entre el aclaramiento de urea (K_{urea}) y las concentraciones de toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP), ni en sangre ni en orina. Este hallazgo refuerza una idea clave, la eliminación de TUUP no depende de la función glomerular, sino de la secreción tubular activa. Como ya se analizó en la introducción, las TUUP no se filtran de forma significativa en el glomérulo debido a su elevada unión a proteínas plasmáticas, sino que se eliminan principalmente mediante transporte activo en los túbulos renales **94**.

El K_{urea} es un marcador de la función glomerular, ya que evalúa la capacidad del riñón para filtrar moléculas pequeñas como la urea. Sin embargo, hablar únicamente de “función renal” en

términos de filtrado glomerular es una simplificación que ignora un componente esencial, la función tubular. Esta distorsión conduce a una valoración incompleta de la verdadera capacidad excretora del riñón. Aunque la función glomerular es importante, no lo es menos la tubular, cuya relevancia queda claramente demostrada en este estudio.

En el contexto de la hemodiálisis incremental, se preserva mejor la función renal residual (FRR) **97,98**. La dosis total de diálisis se calcula sumando el Kt/V semanal y el aclaramiento residual, pero este último se basa únicamente en la filtración de urea y, a veces, de creatinina. La secreción tubular, por su complejidad técnica, no se incluye en estos cálculos, lo que genera una subestimación del verdadero impacto de la FRR. A pesar de no disponer de una herramienta sencilla para medirla, los resultados de este estudio apuntan a que la función tubular desempeña un papel determinante en la eliminación de TUUP.

Numerosos grupos han cuestionado la validez del modelo cinético de la urea como único marcador de adecuación dialítica, precisamente porque se centra exclusivamente en moléculas pequeñas como la urea, sin considerar otras funciones del riñón ni la eliminación de compuestos más complejos como las TUUP **82**. Aunque el Kt/V tiene utilidad práctica en el seguimiento individual, su valor como indicador global de la eficacia de aclaramiento del riñón es limitado.

En definitiva, una mayor función glomerular no garantiza una mejor depuración de moléculas cuya eliminación depende de la secreción tubular. La hemodiálisis incremental, al favorecer la preservación de ambas funciones, la glomerular y tubular, permite una excreción más sostenida y fisiológica de este tipo de toxinas.

4º) No hay relación entre el Kt/V por sesión y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.

Esta conclusión ha sido ampliamente respaldada por diversos autores. Se ha descrito con claridad que la elevada afinidad de las toxinas urémicas unidas a proteínas por la albúmina limita de forma significativa su paso a través de los poros de las membranas dialíticas, dificultando su eliminación eficaz mediante hemodiálisis convencional **82,99**. Y esto se constata con cualquier

membrana incluidas de médium cut off **100**, o cualquier técnica como las de alto transporte convectivo, como la hemodiafiltración en línea, cuya eficacia frente a solutos medianos es superior, pero que sigue mostrando una capacidad limitada en la eliminación de toxinas unidas a proteínas **93**. Estos resultados son coherentes con los descritos por otros autores y refuerzan la evidencia de que no existe una relación directa entre el Kt/Vde una sesión de hemodiálisis y la depuración de toxinas urémicas unidas a proteínas. La cinética de estas moléculas no sigue el mismo comportamiento que la urea, y su eliminación no puede predecirse mediante los parámetros clásicos de adecuación dialítica.

5º) No se observó relación entre el Kt/Vsemanal y las concentraciones de toxinas urémicas unidas a proteínas, ni en sangre ni en orina. Dado que los pacientes en hemodiálisis incremental reciben menos sesiones por semana, decidimos analizar el Kt/Vsemanal como posible marcador de eficacia global. Sin embargo, tampoco en este análisis se identificaron diferencias significativas. Estos hallazgos refuerzan la idea de que la dosis de diálisis, expresada como Kt/V, no predice de forma adecuada la depuración de TUUP. Cabe destacar que el 100 % de los pacientes del estudio fueron tratados con hemodiafiltración en línea, técnica de alta eficiencia, lo que subraya aún más la diferencia entre los parámetros convencionales de adecuación dialítica y la eliminación efectiva de estas toxinas.

6º) Tampoco se encontró relación entre el Kurea semanal y las concentraciones de toxinas urémicas unidas a proteínas, ni en sangre ni en orina. Con el objetivo de valorar si la estimación de la función renal residual a partir del aclaramiento de urea en un único día era insuficiente, se analizó el Kurea calculado de forma semanal, como es habitual en programas de diálisis incremental, donde el número de sesiones semanales puede variar. Aun así, los datos obtenidos confirman que tampoco existe correlación entre el aclaramiento semanal de urea y la eliminación de TUUP, replicando lo observado previamente con el Kurea diario. Como ya se ha discutido, el hecho de que las TUUP se eliminen principalmente por secreción tubular, y no por

filtración glomerular, hace que los parámetros basados en la urea no resulten útiles para evaluar su eliminación real.

7ª) Se observó una correlación significativa entre el Kt/V_{mixto} , suma del K_{urea} semanal y el $Kt/V_{semanal}$ y la concentración plasmática de ácido hipúrico, con una relación negativa: a mayor dosis total de depuración, menor concentración plasmática de esta toxina. Esta relación fue estadísticamente significativa (ρ de Spearman = -0.521 , $p = 0.009$). En el caso de la concentración urinaria de ácido hipúrico, la correlación también fue negativa, aunque con un valor de p ligeramente por encima del umbral de significación ($p = 0.06$).

Un hallazgo no esperado fue la relación entre las concentraciones plasmáticas de TUUP y la dosis total semanal de depuración, entendida como la suma del $Kt/V_{semanal}$ y del K_{urea} semanal, calculada mediante la fórmula de Casino **101**. Esta interpretación no es sencilla, pero nuestro grupo propone la siguiente lectura: las TUUP son moléculas de pequeño tamaño molecular **82**, lo cual permitiría su eliminación por filtración renal y por membranas dialíticas, tanto por difusión como por convección. Sin embargo, su alta afinidad por la albúmina limita severamente su fracción libre **101**, y, por tanto, su depuración efectiva tanto por riñón como por diálisis es baja. A pesar de esto, al analizar el aclaramiento combinado de ambos mecanismos, renal y dialítico, durante un periodo prolongado, se observa que esa depuración mínima se vuelve clínicamente relevante. La hemodiálisis incremental, al preservar la función renal residual, permite una eliminación sostenida, modesta pero continua, de TUUP. Esta modalidad podría considerarse como una técnica semipermanente de depuración mixta, que mantiene una fracción libre circulante susceptible de ser eliminada con mayor constancia que en esquemas de hemodiálisis intermitente estándar.

8ª) No se encontraron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP) entre el grupo de pacientes que recibía tratamiento con diuréticos y el grupo que no estaba en tratamiento con estos fármacos. En este estudio no se observó

ninguna influencia clara del uso de diuréticos sobre la eliminación de TUUP. Una posible limitación metodológica es que la mayoría de los pacientes incluidos en la cohorte ya estaban en tratamiento con diuréticos, lo que dejó un número muy reducido de pacientes sin exposición a estos fármacos, reduciendo así la potencia estadística del análisis.

Los diuréticos de asa se filtran a través del glomérulo y ejercen su efecto farmacológico en el túbulo, donde inhiben la reabsorción de sodio y agua **102**. No obstante, no participan directamente en los mecanismos de secreción tubular de solutos, que son fundamentales para la eliminación de muchas TUUP **94**. A pesar de su amplio uso clínico por su eficacia en el control del balance hídrico, su impacto en la depuración de TUUP parece ser limitado.

6.2.1 Discusión, comparación niveles plasmáticos de TUUP pacientes del estudio 1 y 2.

La comparación entre los pacientes del estudio 1 (anúricos, sin función renal residual) y los del grupo tratado con hemodiálisis incremental, estudio 2 (con FRR preservada) refuerza la hipótesis de que la función renal residual desempeña un papel esencial en la eliminación de toxinas urémicas unidas a proteínas (TUUP). Las concentraciones plasmáticas de ácido hipúrico, p-cresol y sulfato de indoxilo fueron significativamente menores en los pacientes del grupo incremental, a pesar de recibir menos sesiones de hemodiálisis por semana. Este hallazgo sugiere que el aclaramiento renal continuo, aunque parcial, contribuye de forma sostenida a la eliminación de estas toxinas, especialmente en el caso del ácido hipúrico, que mostró la diferencia más marcada entre ambos grupos.

La función tubular residual, aunque difícil de cuantificar, puede ser clave para explicar este comportamiento, ya que la secreción activa es el mecanismo principal de excreción de estas moléculas. El modelo de HD incremental permite conservar dicha función al evitar la

hiperfiltración, la sobreexposición a bioincompatibilidades y la agresividad del tratamiento convencional, lo que se traduce en un perfil fisiológico más favorable. Estos resultados respaldan el enfoque individualizado de la prescripción dialítica, integrando la FRR no solo como un dato clínico, sino como una herramienta terapéutica que impacta directamente en la carga de las TUUP de estos pacientes **78**.

6.3 Discusión Estudio 3

Los principales hallazgos de este estudio muestran que el uso de diuréticos de asa durante una semana incrementa la depuración dialítica de ácido hipúrico, p-Cresil sulfato e indoxil sulfato. Este aumento fue significativo para el ácido hipúrico con torasemida, y para el p-Cresil sulfato con furosemida. Aunque en el caso del indoxil sulfato los valores pre-diálisis fueron más altos en los grupos tratados, la diferencia no alcanzó significación estadística. Un hallazgo especialmente relevante fue que la torasemida aumentó de forma más marcada la depuración en todos los casos en comparación con la furosemida.

No obstante, desconocemos si este incremento puntual en el aclaramiento se traduce en una reducción mantenida de los niveles plasmáticos. De hecho, los valores pre-diálisis de ácido hipúrico fueron más altos en el grupo tratado con torasemida, lo que podría explicarse por una movilización desde compartimentos tisulares hacia el espacio plasmático, más que por un aumento en la síntesis. La hipótesis de la movilización de depósitos está sustentada por estudios previos que han demostrado la presencia de toxinas urémicas acumuladas en distintos tejidos, que podrían liberarse al reducirse sus formas circulantes libres y unidas a proteínas **103**.

El riñón sano tiene una capacidad extraordinaria para eliminar toxinas urémicas, muchas de ellas aún no identificadas, a través de un mecanismo que combina filtración glomerular, secreción tubular y, en menor medida, endocitosis tubular **92,104**. La secreción activa permite que el

aclaramiento renal de TUUP pueda superar incluso el de solutos como la urea **78**. Esto explica por qué la pérdida de función renal residual tiene un impacto desproporcionado en los niveles plasmáticos de estas toxinas, especialmente del ácido hipúrico **104**.

En este sentido, tanto en hemodiálisis como en diálisis peritoneal, se ha observado que la pérdida de función renal residual se asocia con un aumento de las concentraciones plasmáticas de TUUP **105**. Por este motivo, la preservación de dicha función se ha convertido en una prioridad en el manejo de los pacientes en diálisis **106**.

El papel de los diuréticos de asa ha sido objeto de estudio en pacientes con enfermedad renal avanzada. Aunque su capacidad para aumentar la diuresis es modesta en pacientes en hemodiálisis, han demostrado un perfil de seguridad adecuado y podrían contribuir, de forma indirecta, a la eliminación de TUUP **107**.

Sin embargo, la eliminación dialítica de TUUP sigue siendo limitada, ya que solo la fracción libre de estas toxinas es capaz de atravesar la membrana dialítica **108**. Esta fracción libre representa un porcentaje reducido, debido a la alta afinidad de estas moléculas por la albúmina plasmática **109**. Estudios in vitro han demostrado que el uso de desplazadores competitivos como la furosemida, con una afinidad por la albúmina del 98 % puede incrementar la fracción libre del ácido hipúrico y, en menor grado, del indoxil sulfato **102**.

La torasemida, también diurético de asa, presenta características farmacocinéticas distintas: tiene una vida media más prolongada y una unión a proteínas plasmáticas cercana al 100 %, lo que podría explicar su mayor efecto en la depuración observada en nuestro estudio **110**.

Nuestros resultados también muestran que la depuración del ácido hipúrico fue significativa incluso sin tratamiento con diuréticos, pero aumentó claramente en los grupos tratados, especialmente con torasemida. Para el p-Cresil sulfato, la depuración significativa solo se observó con torasemida, aunque ambos fármacos mejoraron los valores respecto al grupo control. El

comportamiento del indoxil sulfato fue más variable y no alcanzó diferencias significativas, aunque mostró una tendencia favorable.

La hipótesis de que el aumento del ácido hipúrico pre-diálisis se deba a una mayor movilización desde tejidos se refuerza con estudios que documentan depósitos de TUUP en distintos órganos **103**. Esta movilización podría ocurrir al disminuir la fracción libre en plasma, estableciendo un nuevo equilibrio entre compartimentos.

En contraste con la evidencia disponible en diálisis peritoneal, nuestros resultados en hemodiálisis confirman que la función renal residual tiene un efecto amplificado sobre la eliminación de TUUP debido a su carácter continuo **104,105**. Sin embargo, también se ha descrito una alta variabilidad interindividual e intrapaciente en la producción y acumulación de estas toxinas, que no se explica únicamente por la función renal residual ni por la ingesta proteica **104,111**.

Esa variabilidad también ha sido observada en estudios pediátricos, donde la función renal estimada fue el principal determinante de las concentraciones plasmáticas de TUUP, mientras que factores como la antropometría o la dieta tuvieron un impacto menor **112**. En nuestro estudio, todos los pacientes eran anúricos y el seguimiento fue breve, lo que limita la posibilidad de detectar cambios sostenidos o atribuirlos a factores individuales.

En conjunto, los resultados de este estudio indican que el uso de diuréticos de asa, especialmente torasemida, incrementa la depuración dialítica de TUUP. Aunque el efecto es variable según la molécula, y limitado por la corta duración del tratamiento, estos datos apuntan a una estrategia potencialmente útil para mejorar la eliminación de toxinas de difícil depuración en pacientes anúricos. Será necesario evaluar en estudios más prolongados si este efecto se traduce en una reducción mantenida de los niveles basales de TUUP y si tiene impacto clínico sobre el estado urémico general.

7. CONCLUSIONES

7.1 Conclusiones principales

1. Los valores de TUUP obtenidos en sangre en nuestros pacientes son sensiblemente inferiores a las publicaciones analizadas en otros países.
2. La orina constituye un mecanismo muy valioso para eliminar TUUP que no podemos aclarar mediante la hemodiálisis.
3. El uso de diuréticos de asa, especialmente torasemida, incrementa la depuración dialítica de TUUP. Aunque el efecto es variable según la molécula, y limitado por la corta duración del tratamiento, estos datos apuntan a una estrategia potencialmente útil para mejorar la eliminación de toxinas de difícil depuración en pacientes anúricos.

7.2 Conclusiones secundarias

1. La distribución de las TUUP en sangre es muy heterogénea, con gran variación entre pacientes.
2. La eliminación total de TUUP eliminadas por orina no depende del volumen de diuresis.
3. Existe una correlación positiva y significativa entre la concentración de toxinas en sangre y en orina.
4. No hay relación entre la función renal medida por aclaramiento de urea, ni con la eficacia de diálisis medida por Kt/V , con la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
5. No hay relación entre la función renal semanal (KR_{Urea} semanal), ni la depuración por hemodiálisis semanal ($Kt/V_{semanal}$) y la concentración de toxinas ni en sangre ni en orina.
6. No hay diferencias significativas en los niveles de toxinas ni en sangre ni orina en los pacientes tratados o no con diuréticos.
7. La HD incremental consigue con una menor dosis de diálisis depuraciones superiores de TUUP gracias al mantenimiento de la función renal residual.

8. El uso de diuréticos de asa durante una semana incrementa la depuración dialítica de ácido hipúrico, p-Cresil sulfato e indoxil sulfato. Este aumento fue significativo para el ácido hipúrico con torasemida, y para el p-Cresil sulfato con furosemida.
9. En el indoxil sulfato los valores pre-diálisis fueron más altos en los grupos tratados, la diferencia no alcanzó significación estadística.
10. La torasemida aumentó de forma más marcada la depuración en todos los casos en comparación con la furosemida.

7.3 Conclusión final de esta tesis doctoral

El mantenimiento de la función renal residual con o sin HD incremental, y el uso de diuréticos para mejorar el aclaramiento de TUUP, constituyen dos estrategias muy prometedoras para reducir los valores de TUUP y sus consecuencias en el paciente en hemodiálisis.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Carracedo J, Ramírez R. Fisiología Renal. En: Lorenzo V, López-Gómez JM. (Eds.) Nefrología al día [Internet]. 2020. [Citado el 15 de junio del 2023]. Disponible en: <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-fisiologia-renal-335>
2. Nathan R. Hill, Samuel T. Fatoba, Jason L. Oke, Jennifer A. Hirst, Christopher A. O'Callaghan, Daniel S. Lasserson, F. D. Richard Hobbs. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2016 Jul 6;11(7):e0158765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158765>
3. Kitty J. Jager, Csaba Kovesdy, Robyn Langham, Mark Rosenberg, Vivekanand Jha, Carmine Zoccali. A single number for advocacy and communication-worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. Kidney Int. 2019 Nov;96(5):1048-1050. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.07.012>
4. John S. Thurlow, Megha Joshi, Guofen Yan, Keith C. Norris, Lawrence Y. Agodoa, Christina M. Yuan, Robert Nee. Global Epidemiology of End-Stage Kidney Disease and Disparities in Kidney Replacement Therapy. Am. J. Nephrol. 2021;52(2):98-107. <https://doi.org/10.1159/000514550>
5. Paul Cockwell, Lori-Ann Fisher. The global burden of chronic kidney disease. Lancet. 2020 Feb 29;395(10225):662-664. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32977-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32977-0)
6. Kyle J. Foreman, Neal Marquez, Andrew Dolgert, Kai Fukutaki, Nancy Fullman, Madeline McGaughey, Martin A. Pletcher, Amanda E. Smith, Kendrick Tang, Chun-Wei Yuan, Jonathan C. Brown, Joseph Friedman, Jiawei He, Kyle R. Heuton, Mollie Holmberg, Disha J. Patel, Patrick Reidy, Austin Carter, Kelly Cercey, Abigail Chapin, Dirk Douwes-Schultz, Tahvi Frank, Falko Goettsch, Patrick Y. Liu, Vishnu Nandakumar, Marissa B. Reitsma, Vince Reuter, Nafis Sadat, Reed J. D. Sorensen, Vinay Srinivasan, Rachel L. Updike, Hunter York, Alan D. Lopez, Rafael Lozano, Stephen S. Lim, Ali H. Mokdad, Stein Emil Vollset, Christopher J. L. Murray. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and

- cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016-40 for 195 countries and territories. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):2052-2090. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31694-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31694-5)
7. Alan S. Go, Glenn M. Chertow, Dongjie Fan, Charles E. McCulloch, Chi-yuan Hsu. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296-305. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa041031>
 8. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium; Kunihiro Matsushita, Marije van der Velde, Brad C. Astor, Mark Woodward, Andrew S. Levey, Paul E. de Jong, Josef Coresh, Ron T. Gansevoort. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010 Jun 12;375(9731):2073-81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60674-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60674-5)
 9. R. Vanholder, A. Argilés, U. Baurmeister, P. Brunet, W. Clark, G. Cohen, P. P. De Deyn, R. Deppisch, B. Descamps-Latscha, T. Henle, A. Jorres, Z. A. Massy, M. Rodriguez, B. Stegmayr, P. Stenvinkel, M. L. Wratten. Uremic toxicity: present state of the art. *Int. J. Artif. Organs*. 2001 Oct;24(10):695-725.
 10. Rania Chermiti, Stéphane Burtey, Laetitia Dou. Role of Uremic Toxins in Vascular Inflammation Associated with Chronic Kidney Disease. *J. Clin. Med*. 2024 Nov 26;13(23):7149. <https://doi.org/10.3390/jcm13237149>
 11. Anna Pieniasek, Joanna Bernasinska-Slomczewska, Lukasz Gwozdziński. Uremic Toxins and Their Relation with Oxidative Stress Induced in Patients with CKD. *Int. J. Mol. Sci*. 2021 Jun 8;22(12):6196. <https://doi.org/10.3390/ijms22126196>

12. Vasily A. Popkov, Denis N. Silachev, Arthur O. Zalevsky, Dmitry B. Zorov, Egor Y. Plotnikov. Mitochondria as a Source and a Target for Uremic Toxins. *Int. J. Mol. Sci.* 2019 Jun 25;20(12):3094. <https://doi.org/10.3390/ijms20123094>
13. Laetitia Koppe, Denis Fouque, Christophe O. Soulage. The Role of Gut Microbiota and Diet on Uremic Retention Solutes Production in the Context of Chronic Kidney Disease. *Toxins (Basel)*. 2018 Apr 13;10(4):155. <https://doi.org/10.3390/toxins10040155>
14. Raymond Vanholder, Anneleen Pletinck, Eva Schepers, Griet Glorieux. Biochemical and Clinical Impact of Organic Uremic Retention Solutes: A Comprehensive Update. *Toxins (Basel)*. 2018 Jan 8;10(1):33. <https://doi.org/10.3390/toxins10010033>
15. Gerren P. Hobby, Oleg Karaduta, Giuseppina F. Dusio, Manisha Singh, Boris L. Zybaylov, and John M. Arthur. Chronic kidney disease and the gut microbiome. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2019 Jun 1;316(6):F1211-F1217. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00298.2018>
16. Karen Courville. Uremic Toxins: The Role of the Gut and the Kidneys. *In Updates on Hemodialysis*, Ayman Karkar Ed., IntechOpen; 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109845>
17. Raphael Jose Ferreira Felizardo, Angela Castoldi, Vinicius Andrade-Oliveira, Niels Olsen Saraiva Câmara. The microbiota and chronic kidney diseases: a double-edged sword. *Clin Transl Immunology* . 2016 Jun 10;5(6):e86. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.36>
18. Borja Quiroga. Strategies to Protect Dialysis Patients against Bisphenol A. *Biomolecules*. 2021 Sep 17;11(9):1375. <https://doi.org/10.3390/biom11091375>
19. Zahin Haq, Xin Wang, Qiuqiong Cheng, Gabriela F Dias, Christoph Moore, Dorothea Piecha, Peter Kotanko, Chih-Hu Ho, Nadja Grobe. Bisphenol A and Bisphenol S in

- Hemodialyzers. Toxins (Basel). 2023 Jul 20;15(7):465.
<https://doi.org/10.3390/toxins15070465>
20. Liesbeth Viaene, Pieter Annaert, Henriette de Loor, Ruben Poesen, Pieter Evenepoel, Björn Meijers. Albumin is the main plasma binding protein for indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate. Biopharm Drug Dispos. 2013 Apr;34(3):165-75.
<https://doi.org/10.1002/bdd.1834>
21. Ulrich Kragh-Hansen, Victor Tuan Giam Chuang, Masaki Otagiri. Practical aspects of the ligand-binding and enzymatic properties of human serum albumin. Biol. Pharm. Bull. 2002 Jun;25(6):695-704. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.695>
22. Suguru Yamamoto, Kenichi Sasahara, Mio Domon, Keiichi Yamaguchi, Toru Ito, Shin Goto, Yuji Goto, Ichiei Narita. pH-Dependent Protein Binding Properties of Uremic Toxins In Vitro. Toxins (Basel). 2021 Feb 4;13(2):116. <https://doi.org/10.3390/toxins13020116>
23. Nida Zaidi, Ejaz Ahmad, Mohd Rehan, Gulam Rabbani, Mohammad R. Ajmal, Yusra Zaidi, Naidu Subbarao, Rizwan H. Khan. Biophysical insight into furosemide binding to human serum albumin: a study to unveil its impaired albumin binding in uremia. J. Phys. Chem. B. 2013 Mar 7;117(9):2595-604. <https://doi.org/10.1021/jp3069877>
24. Raymond Vanholder, Rita De Smet, Griet Glorieux, Angel Argilés, Ulrich Baurmeister, Philippe Brunet, William Clark, Gerald Cohen, Peter Paul De Deyn, Reinhold Deppisch, Beatrice Descamps-Latscha, Thomas Henle, Achim Jörres, Horst Dieter Lemke, Ziad A Massy, Jutta Passlick-Deetjen, Mariano Rodriguez, Bernd Stegmayr, Peter Stenvinkel, Ciro Tetta, Christoph Wanner, Walter Zidek; European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. Kidney Int. 2003 May;63(5):1934-43. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00924.x>

25. Mitchell H. Rosner, Thiago Reis, Faeq Husain-Syed, Raymond Vanholder, Colin Hutchison, Peter Stenvinkel, Peter J Blankestijn, Mario Cozzolino, Laurent Juillard, Kianoush Kashani, Manish Kaushik, Hideki Kawanishi, Ziad Massy, Tammy Lisa Sirich, Li Zuo, Claudio Ronco. Classification of Uremic Toxins and Their Role in Kidney Failure. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2021 Dec;16(12):1918-1928. <https://doi.org/10.2215/CJN.02660221>
26. N. Neiryneck, R. Vanholder, E. Schepers, S. Eloot, A. Pletinck, G. Glorieux. An update on uremic toxins. *Int Urol Nephrol*. 2013 Feb;45(1):139-50. <https://doi.org/10.1007/s11255-012-0258-1>
27. William R. Clark, Nader Laal Dehghani, Vivek Narsimhan, Claudio Ronco. Uremic Toxins and their Relation to Dialysis Efficacy. *Blood Purif*. 2019;48(4):299-314. <https://doi.org/10.1159/000502331>
28. Flore Durantou, Gerald Cohen, Rita De Smet, Mariano Rodriguez, Joachim Jankowski, Raymond Vanholder, Angel Argiles; European Uremic Toxin Work Group. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2012 Jul;23(7):1258-70. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011121175>
29. Yao-Bin Zhu, Ya-Ping Zhang, Jing Zhang, Yan-Bo Zhang. Evaluation of Vitamin C Supplementation on Kidney Function and Vascular Reactivity Following Renal Ischemic Injury in Mice. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41(4):460-70. <https://doi.org/10.1159/000443447>
30. Marc Vila Cuenca, Jan van Bezu, Rob H J Beelen, Marc G Vervloet, Peter L Hordijk. Stabilization of cell-cell junctions by active vitamin D ameliorates uraemia-induced loss of human endothelial barrier function. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2019 Feb 1;34(2):252-264. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy111>

31. Stephen L. Seliger, Shabnam Salimi, Valerie Pierre, Jamie Giffuni, Leslie Katzel, Afshin Parsa. Microvascular endothelial dysfunction is associated with albuminuria and CKD in older adults. *BMC Nephrol.* 2016 Jul 13;17(1):82. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0303-x>
32. Maria-Eleni Alexandrou, Eugenia Gkaliagkousi, Charalampos Loutradis, Chrysostomos Dimitriadis, Efstathios Mitsopoulos, Antonios Lazaridis, Barbara Nikolaidou, Panagiotis Dolgiras, Stella Douma, Aikaterini Papagianni, Pantelis A. Sarafidis. Haemodialysis and peritoneal dialysis patients have severely impaired post-occlusive skin forearm vasodilatory response assessed with laser speckle contrast imaging. *Clin. Kidney J.* 2020 Oct 21;14(5):1419-1427. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfaa136>
33. Zohra Tumor, Toshimitsu Niwa. Indoxyl sulfate inhibits nitric oxide production and cell viability by inducing oxidative stress in vascular endothelial cells. *Am. J. Nephrol.* 2009;29(6):551-7. <https://doi.org/10.1159/000191468>
34. Bertrand Gondouin, Claire Cerini, Laetitia Dou, Marion Sallée, Ariane Duval-Sabatier, Anneleen Pletinck, Raymond Calaf, Romaric Lacroix, Noémie Jourde-Chiche, Stéphane Poitevin, Laurent Arnaud, Raymond Vanholder, Philippe Brunet, Françoise Dignat-George, Stéphane Burtey. Indolic uremic solutes increase tissue factor production in endothelial cells by the aryl hydrocarbon receptor pathway. *Kidney Int.* 2013 Oct;84(4):733-44. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.133>
35. Suree Lekawanvijit. Cardiotoxicity of Uremic Toxins: A Driver of Cardiorenal Syndrome. *Toxins (Basel).* 2018 Sep 1;10(9):352. <https://doi.org/10.3390/toxins10090352>
36. Jennifer C. Schroeder, Brett C. Dinatale, Iain A. Murray, Colin A. Flaveny, Qiang Liu, Elizabeth M. Laurenzana, Jyh Ming Lin, Stephen C. Strom, Curtis J. Omiecinski, Shantu Amin, Gary H. Perdew. The uremic toxin 3-indoxyl sulfate is a potent endogenous agonist

- for the human aryl hydrocarbon receptor. *Biochemistry*. 2010 Jan 19;49(2):393-400.
<https://doi.org/10.1021/bi901786x>
37. Laetitia Dou, Stéphane Poitevin, Marion Sallée, Tawfik Addi, Bertrand Gondouin, Nathalie McKay, Michael S. Denison, Noémie Jourde-Chiche, Ariane Duval-Sabatier, Claire Cerini, Philippe Brunet, Françoise Dignat-George, Stéphane Burtey. Aryl hydrocarbon receptor is activated in patients and mice with chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2018 Apr;93(4):986-999. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.11.010>
38. Suree Lekawanvijit, Henry Krum. Cardiorenal syndrome: role of protein-bound uremic toxins. *J. Ren. Nutr*. 2015 Mar;25(2):149-54. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2014.10.009>
39. Yu-Sen Peng, Hsiu-Chi Ding, Yen-Tung Lin, Jhih-Pu Syu, Ying Chen, Seu-Mei Wang. Uremic toxin p-cresol induces disassembly of gap junctions of cardiomyocytes. *Toxicology*. 2012 Dec 8;302(1):11-7. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.07.004>
40. M. L. V. Azevedo, N. B. Bonan, G. Dias, F. Brehm, T. M. Steiner, W. M. Souza, A. E. M. Stinghen, F. C. Barreto, Selene Elifio-Esposito, R. Pecoits-Filho, A. N. Moreno-Amaral. p-Cresyl sulfate affects the oxidative burst, phagocytosis process, and antigen presentation of monocyte-derived macrophages. *Toxicol Lett*. 2016 Nov 30;263:1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.10.006>
41. Gerald Cohen, Raymond Vanholder. Special Issue: Immune Dysfunction in Uremia. *Toxins (Basel)*. 2021 Jan 19;13(1):70. <https://doi.org/10.3390/toxins13010070>
42. Toshimitsu Niwa. Uremic toxicity of indoxyl sulfate. *Nagoya J. Med. Sci*. 2010 Feb;72(1-2):1-11
43. Chiao-Yin Sun, Hsiang-Hao Hsu, Mai-Szu Wu. p-Cresol sulfate and indoxyl sulfate induce similar cellular inflammatory gene expressions in cultured proximal renal tubular cells. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2013 Jan;28(1):70-8. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs133>

44. Hiroshi Watanabe, Yohei Miyamoto, Daisuke Honda, Hisae Tanaka, Qiong Wu, Masayuki Endo, Tsuyoshi Noguchi, Daisuke Kadowaki, Yu Ishima, Shunsuke Kotani, Makoto Nakajima, Keiichiro Kataoka, Shokei Kim-Mitsuyama, Motoko Tanaka, Masafumi Fukagawa, Masaki Otagiri, Toru Maruyama. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. *Kidney Int.* 2013 Apr;83(4):582-92. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.448>
45. Detlef H. Krieter, Andrea Hackl, Annie Rodriguez, Leïla Chenine, Hélène Leray Moragues, Horst-Dieter Lemke, Christoph Wanner, Bernard Canaud. Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010 Jan;25(1):212-8. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp437>
46. Yoshiharu Itoh, Atsuko Ezawa, Kaori Kikuchi, Yoshinari Tsuruta, Toshimitsu Niwa. Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012 Jun;403(7):1841-50. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-5929-3>
47. Riccardo Maria Fagugli, Rita De Smet, Umberto Buoncristiani, Norbert Lameire, Raymond Vanholder. Behavior of non-protein-bound and protein-bound uremic solutes during daily hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2002 Aug;40(2):339-47. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2002.34518>
48. Detlef H. Krieter, Simon Kerwagen, Marieke R  th, Horst-Dieter Lemke, Christoph Wanner. Differences in Dialysis Efficacy Have Limited Effects on Protein-Bound Uremic Toxins Plasma Levels over Time. *Toxins (Basel).* 2019 Jan 16;11(1):47. <https://doi.org/10.3390/toxins11010047>
49. Mark K. Tiong, Rathika Krishnasamy, Edward R. Smith, Colin A. Hutchison, Elizabeth G. Ryan, Elaine M. Pascoe, Carmel M. Hawley, Tim D. Hewitson, Meg J. Jardine, Matthew A.

- Roberts, Yeoungjee Cho, Muh Geot Wong, Anne Heath, Craig L Nelson, Shaundee Sen, Peter F. Mount, Liza A. Vergara, Peta-Anne Paul-Brent, David W. Johnson, Nigel D. Toussaint. Effect of a medium cut-off dialyzer on protein-bound uremic toxins and mineral metabolism markers in patients on hemodialysis. *Hemodial. Int.* 2021 Mar 28. <https://doi.org/10.1111/hdi.12924>
50. Stefania Magnani, Mauro Atti. Uremic Toxins and Blood Purification: A Review of Current Evidence and Future Perspectives. *Toxins (Basel)*. 2021 Mar 30;13(4):246. <https://doi.org/10.3390/toxins13040246>
51. Maaïke K. van Gelder, Igor R. Middel, Robin W. M. Vernooij, Michiel L. Bots, Marianne C. Verhaar, Rosalinde Masereeuw, Muriel P. Grooteman, Menso J. Nubé, M. A. van den Dorpel, Peter J. Blankestijn, Maarten B. Rookmaaker, Karin G. F. Gerritsen. Protein-Bound Uremic Toxins in Hemodialysis Patients relate to Residual Kidney Function, are not influenced by Convective Transport, and do not relate to outcome. *Toxins (Basel)* . 2020 Apr 7;12(4):234. <https://doi.org/10.3390/toxins12040234>
52. Susan R. Sandeman, Yishan Zheng, Ganesh C Ingavle, Carol A Howell, Sergey V Mikhailovsky, Kolitha Basnayake, Owen Boyd, Andrew Davenport, Nigel Beaton, Nathan Davies. A haemocompatible and scalable nanoporous adsorbent monolith synthesised using a novel lignin binder route to augment the adsorption of poorly removed uraemic toxins in haemodialysis. *Biomed. Mater.* 2017 May 10;12(3):035001. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa6546>
53. Björn K. Meijers, Viktoria Weber, Bert Bammens, Wim Dehaen, Kristin Verbeke, Dieter Falkenhagen, Pieter Evenepoel. Removal of the uremic retention solute p-cresol using fractionated plasma separation and adsorption. *Artif. Organs.* 2008 Mar;32(3):214-9. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2007.00525.x>

54. Timothy W. Meyer, John W. T. Peattie, Jared D. Miller, Diana C. Dinh, Natalie S. Recht, Jason L. Walther, Thomas H. Hostetter. Increasing the clearance of protein-bound solutes by addition of a sorbent to the dialysate. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007 Mar;18(3):868-74. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080863>.
55. Falko Brettschneider, Markus Tölle, Markus von der Giet, Jutta Passlick-Deetjen, Sonja Steppan, Mirjam Peter, Vera Jankowski, Alfred Krause, Sophie Kühne, Walter Zidek, Joachim Jankowski. Removal of protein-bound, hydrophobic uremic toxins by a combined fractionated plasma separation and adsorption technique. *Artif. Organs.* 2013 Apr;37(4):409-16. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2012.01570.x>
56. D. Pavlenko, D. Giasafaki, G. Charalambopoulou, E. van Geffen, K. G. F. Gerritsen, T. Steriotis, D. Stamatialis. Carbon Adsorbents With Dual Porosity for Efficient Removal of Uremic Toxins and Cytokines from Human Plasma. *Sci. Rep.* 2017 Nov 2;7(1):14914. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15116-y>
57. Tariq Shafi, Bernard G. Jaar, Laura C. Plantinga, Nancy E. Fink, John H. Sadler, Rulan S. Parekh, Neil R. Powe, Josef Coresh. Association of residual urine output with mortality, quality of life, and inflammation in incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am. J. Kidney Dis.* 2010 Aug;56(2):348-58. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2010.03.020>
58. Jerome Lowenstein, Jared J Grantham. Residual renal function: a paradigm shift. *Kidney Int.* 2017 Mar;91(3):561-565. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.09.052>
59. Stephanie M. Toth-Manikowski, Tammy L. Sirich, Timothy W. Meyer, Thomas H. Hostetter, Seungyoung Hwang, Natalie S. Plummer, Xin Hai, Josef Coresh, Neil R. Powe, Tariq Shafi. Contribution of 'clinically negligible' residual kidney function to clearance of uremic solutes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2020 May 1;35(5):846-853. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz042>

60. Fabian Termorshuizen, Friedo W. Dekker, Jeannette G. van Manen, Johanna C. Korevaar, Elisabeth W. Boeschoten, Raymond T. Krediet; NECOSAD Study Group. Relative contribution of residual renal function and different measures of adequacy to survival in hemodialysis patients: an analysis of the Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis (NECOSAD)-2. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004 Apr;15(4):1061-70. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000117976.29592.93>
61. Xia Tao, Stephan Thijssen, Peter Kotanko, Chih-Hu Ho, Michael Henrie, Eric Stroup, Garry Handelman. Improved dialytic removal of protein-bound uraemic toxins with use of albumin binding competitors: an in vitro human whole blood study. *Sci. Rep.* 2016 Mar 22;6:23389. <https://doi.org/10.1038/srep23389>
62. Vaibhav Maheshwari, Xia Tao, Stephan Thijssen, Peter Kotanko. Removal of Protein-Bound Uremic Toxins Using Binding Competitors in Hemodialysis: A Narrative Review. *Toxins (Basel)*. 2021 Sep 4;13(9):622. <https://doi.org/10.3390/toxins13090622>
63. Flávia S. C. Rodrigues, Dialina Brilhante, Ana Macêdo, Rita F. Pires, Mónica Faria. Ibuprofen-Immobilized Thin Films: A Novel Approach to Improve the Clearance of Protein-Bound Uremic Toxins. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2024 Feb 7;16(5):6589-6604. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c15291>
64. A. Bertuzzi, G. Mingrone, A. Gandolfi, A. V. Greco, S. Ringoir, R. Vanholder. Binding of indole-3-acetic acid to human serum albumin and competition with L-tryptophan. *Clin. Chim. Acta.* 1997 Sep 30;265(2):183-92. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(97\)00117-4](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(97)00117-4)
65. Henriette de Loor, Björn K. I. Meijers, Timothy W. Meyer, Bert Bammens, Kristin Verbeke, Wim Dehaen, Pieter Evenepoel. Sodium octanoate to reverse indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate albumin binding in uremic and normal serum during sample preparation followed

- by fluorescence liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2009 May 29;1216(22):4684-8. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.015>
66. Jianping Li, Yingyi Wang, Xuejun Xu, Wenjuan Cao, Zhiqiang Shen, Nan Wang, Jing Leng, Ning Zou, Erxin Shang, Zhenhua Zhu, Jianming Guo, Jinao Duan. Improved dialysis removal of protein-bound uremic toxins by salvianolic acids. *Phytomedicine.* 2019 Apr;57:166-173. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.12.018>
67. V. Saar-Kovrov, W. Zidek, S. Orth-Alampour, D. Fliser, V. Jankowski, E. A. L. Biessen, J. Jankowski. Reduction of protein-bound uraemic toxins in plasma of chronic renal failure patients: A systematic review. *J. Intern. Med.* 2021 Sep;290(3):499-526. <https://doi.org/10.1111/joim.13248>
68. Xin Liu, Chunsun Dai. Advances in Understanding and Management of Residual Renal Function in Patients with Chronic Kidney Disease. *Kidney Dis (Basel).* 2017 Jan;2(4):187-196. <https://doi.org/10.1159/000449029>
69. Richard Haynes, Natalie Staplin, Jonathan Emberson, William G. Herrington, Charles Tomson, Lawrence Agodoa, Vladimir Tesar, Adeera Levin, David Lewis, Christina Reith, Colin Baigent, Martin J. Landray; SHARP Collaborative Group. Evaluating the contribution of the cause of kidney disease to prognosis in CKD: results from the Study of Heart and Renal Protection (SHARP). *Am. J. Kidney Dis.* 2014 Jul;64(1):40-8. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2013.12.013>
70. Jennifer L. Bragg-Gresham, Rachel B. Fissell, Nancy A. Mason, George R. Bailie, Brenda W. Gillespie, Volker Wizemann, Jose Miguel Cruz, Takashi Akiba, Kiyoshi Kurokawa, Sylvia Ramirez, Eric W Young. Diuretic use, residual renal function, and mortality among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study (DOPPS). *Am. J. Kidney Dis.* 2007 Mar;49(3):426-31. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.12.012>

71. Enric Vilar, David Wellsted, Shahid M. Chandna, Roger N. Greenwood, Ken Farrington. Residual renal function improves outcome in incremental haemodialysis despite reduced dialysis dose. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 Aug;24(8):2502-10. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp071>
72. Yoshitsugu Obi, Connie M. Rhee, Anna T. Mathew, Gaurang Shah, Elani Streja, Steven M. Brunelli, Csaba P. Kovesdy, Rajnish Mehrotra, Kamyar Kalantar-Zadeh. Residual Kidney Function Decline and Mortality in Incident Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* . 2016 Dec;27(12):3758-3768. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015101142>
73. Jonathan Wong, Enric Vilar, Andrew Davenport, Ken Farrington. Incremental haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2015 Oct;30(10):1639-48. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfv231>
74. Stephanie M Toth-Manikowski, Tammy L. Sirich, Timothy W. Meyer, Thomas H. Hostetter, Seungyoung Hwang, Natalie S. Plummer, Xin Hai, Josef Coresh, Neil R. Powe, Tariq Shafi. Contribution of 'clinically negligible' residual kidney function to clearance of uremic solutes. *Nephrol Dial Transplant*. 2020 May 1;35(5):846-853. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz042>
75. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 update. *Am J Kidney Dis*. 2015 Nov;66(5):884-930. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.07.015>
76. Garabed Eknoyan, Gerald J. Beck, Alfred K. Cheung, John T. Daugirdas, Tom Greene, John W. Kusek, Michael Allon, James Bailey, James A. Delmez, Thomas A. Depner, Johanna T. Dwyer, Andrew S. Levey, Nathan W. Levin, Edgar Milford, Daniel B. Ornt, Michael V. Rocco, Gerald Schulman, Steve J. Schwab, Brendan P. Teehan, Robert Toto; Hemodialysis (HEMO) Study Group. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance

- hemodialysis. N. Engl. J. Med. 2002 Dec 19;347(25):2010-9.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa021583>
77. Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Removal of middle molecules and protein-bound solutes by peritoneal dialysis and relation with residual renal function. Kidney Int. 2003;64(6):2238-2243. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00310.x>
78. Marquez IO, Tamba S, Luo FY, Li Y, Plummer NS, Hostetter TH, Meyer TW. Contribution of residual function to removal of protein-bound solutes in hemodialysis. Clin J Am Soc Nephrol. 2011;6(2):290-296. <https://doi.org/10.2215/CJN.06100710> [Europe PMC](#)
79. Florens N, Calaf R, Fiquet O, Chong AS, Poitevin S, Juillard L, et al. Indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate decrease glomerular endothelial cell viability and angiogenesis in vitro. Toxins. 2020;12(5):279. <https://doi.org/10.3390/toxins12050279> [Erasmus University Rotterdam](#)
80. Liabeuf S, Druke TB, Massy ZA. Protein-bound uremic toxins: new insight from clinical studies. Toxins. 2011;3(9):911-919. <https://doi.org/10.3390/toxins3070911> [PubMed](#)
81. Kooman JP, Kotanko P, Schols AM, Shiels PG, Stenvinkel P. Chronic kidney disease and ageing: the inevitable consequence? Nephrol Dial Transplant. 2022;37(4):561-567. <https://doi.org/10.1093/ageing/afac157> [Dipòsit Digital de Documents de la UAB](#)
82. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. Kidney Int. 2003;63(5):1934-1943. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00924.x> [X-MOL](#)
83. Mafra D, Borges NA, Lindholm B, Shiels PG, Evenepoel P, Stenvinkel P. Food as medicine: targeting the uraemic phenotype in chronic kidney disease. Nat Rev

- Nephrol. 2021;17(3):153-171. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-00345-8> [Europe PMC](#)
84. Vaziri ND, Zhao YY, Pahl MV. Altered intestinal microbial flora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(5):737-746. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfv095> [Europe PMC](#)
85. Bach KE, Kelly JT, Palmer SC, Khalesi S, Strippoli GFM, Campbell KL. Healthy dietary patterns and risk of mortality and ESRD in CKD: a meta-analysis of cohort studies. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14(10):1441-1449. <https://doi.org/10.2215/CJN.00530119> [Revista SAD](#)
86. Rossi M, Johnson DW, Morrison M, Pascoe EM, Coombes JS, Forbes JM, et al. Synbiotics Easing Renal Failure by Improving Gut Microbiology (SYNERGY): a randomized trial. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;11(2):223-231. <https://doi.org/10.2215/CJN.05240515> [Bond University Research Portal](#)
87. Tomašić J, Šitum M, Barišić K, Tomić M, Lukić J, Milin Čurčić D. Polyphenols from red wine and their impact on gut microbiota composition and activity: a systematic review. *Antioxidants.* 2023;12(1):81. <https://doi.org/10.3390/antiox12010081>
88. Camargo A, Ruano J, Fernández JM, Parnell LD, Jiménez A, Santos-González M, et al. Gene expression changes in mononuclear cells in patients with metabolic syndrome after acute intake of phenol-rich virgin olive oil. *BMC Genomics.* 2010;11:253. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-253>
89. Kooman JP, Kotanko P. Innovative strategies to reduce protein-bound toxins in kidney failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2021;36(2):220-227. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfaa237>

90. Madsen K, Taveau F, de Seigneux S. The role of residual renal function in hemodialysis patients: impact on outcomes and novel insights. *Kidney Int.* 2021;100(6):1227-1238. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.07.018>
91. Wang AY, Lai KN. The importance of residual renal function in dialysis patients. *Kidney Int.* 2006;69(10):1726-1732. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000382> [PubMed](#)
92. Sirich TL, Aronov PA, Plummer NS, Hostetter TH, Meyer TW. Numerous protein-bound solutes are cleared by the kidney with high efficiency. *Kidney Int.* 2013;84(3):585–590.
93. Eloit S, Van Biesen W, Dhondt A, et al. Impact of hemodialysis duration on the removal of uremic retention solutes. *Kidney Int.* 2008;73(6):765–770.
94. Wu W, Bush KT, Nigam SK. Key role for the organic anion transporters, OAT1 and OAT3, in the in vivo handling of uremic toxins and solutes. *Sci Rep.* 2017;7(1):4939.
95. Gryp T, De Paepe K, Vanholder R, et al. Gut microbiota generation of protein-bound uremic toxins and related metabolites is not altered at different stages of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2020;97(6):1230–1242.
96. Evenepoel P, Meijers BK, Bammens B, Verbeke K. Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney Int Suppl.* 2009;(114):S12–S19.
97. Paniagua R, Amato D, Vonesh E, et al. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(5):1307–1320.
98. Liu Y, Zou W, Wu J, Liu L, He Q. Incremental hemodialysis and preservation of residual kidney function: a systematic review. *Blood Purif.* 2019;48(3):203–209.

99. Meijers BKI, Bammens B, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Evenepoel P. A review of albumin binding in CKD: new insights in the removal of protein-bound toxins. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(11):385–391.
100. Belmouaz M, Bauwens M, Hauet T, et al. Comparison of three dialysis modalities: conventional hemodialysis, online hemodiafiltration and expanded hemodialysis with medium cut-off dialyzer. *Nephrol Dial Transplant*. 2020;35(1):159–166.
101. Casino FG, Lopez T. The equivalent renal urea clearance: a new parameter to assess dialysis dose. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11(8):1574–1581.
102. Fliser D, Schroeder R, Kielstein JT, et al. Steady-state pharmacokinetics of torasemide and furosemide in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14(4):999–1003.
103. Velenosi TJ, et al. Untargeted plasma and tissue metabolomics in rats with chronic kidney disease given AST-120. *Sci Rep*. 2016;6:22526.
104. Bammens B, et al. Time profiles of peritoneal and renal clearances of different uremic solutes in incident peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2005;46:512–519.
105. Obi Y, et al. Residual Kidney Function in Hemodialysis: Its Importance and Contribution to Improved Patient Outcomes. *Toxins (Basel)*. 2024;16(7):298.
106. Flythe JE, et al. Efficacy, Safety, and Tolerability of Oral Furosemide Among Patients Receiving Hemodialysis: A Pilot Study. *Kidney Int Rep*. 2022;7(10):2186–2195.
107. Evenepoel P, et al. Superior dialytic clearance of beta(2)-microglobulin and p-cresol by high-flux hemodialysis as compared to peritoneal dialysis. *Kidney Int*. 2006;70(5):794–799.
108. Meijers BKI, et al. The role of free and protein-bound toxins in the pathogenesis of uremia. *Nat Rev Nephrol*. 2021;17(5):259–270.

109. Tao X, et al. Improved Dialytic Removal of Protein-Bound Uraemic Toxins with Use of Albumin Binding Competitors: An in Vitro Human Whole Blood Study. *Sci Rep.* 2016;6:23389.
110. Eloit S, et al. Spontaneous variability of pre-dialysis concentrations of uremic toxins over time in stable hemodialysis patients. *PLoS One.* 2017;12(10):e0186010.
111. Snauwaert E, et al. Assessment of Within- and Inter-Patient Variability of Uremic Toxin Concentrations in Children with CKD. *Toxins (Basel).* 2024;16(8):349.
112. Snauwaert E, De Buyser S, Desloovere A, Van Biesen W, Raes A, Glorieux G, Collard L, Van Hoeck K, Van Dyck M, Godefroid N, Vande Walle J, Eloit S. Assessment of Within- and Inter-Patient Variability of Uremic Toxin Concentrations in Children with CKD. *Toxins (Basel).* 2024;16(8):349. doi:10.3390/toxins16080349.

9. ANEXOS

I. Dictamen comité de ética.



Informe del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos

Don Jorge Labrador Gómez Secretario Técnico del Comité de Ética de Investigación con Medicamentos del Área de Salud Burgos y Soria,

CERTIFICA:

Que este Comité ha informado de la propuesta para que se realice el Estudio, titulado: **"Estudio piloto para evaluar la eliminación por diálisis de toxinas urémicas unidas a proteínas en pacientes en tratamiento con diuréticos de asa"** (Ref. CEIm 2944) para que sea realizado por la Dra. M^a Jesús Izquierdo Ortiz del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Burgos como investigadora principal.

Este comité constata que a dicho Estudio, no le es de aplicación el Real Decreto 1090/2015 de Ensayos Clínicos con Medicamentos y ha sido aprobado por el CEIm de la Fundación Jiménez Díaz. Este CEIm del Área de Salud de Burgos y Soria se da por enterado.

Lo que firmo en Burgos, 25 de abril de 2023



II. Dictamen comité de ética

INFORME DEL COMITE DE ÉTICA DE LA INVESTIGACION

Dra. Lucía Llanos Jiménez, Secretaria Técnica del COMITE DE ÉTICA DE LA INVESTIGACION DE LA FUNDACION JIMENEZ DIAZ

CERTIFICA:

Que en la reunión del CEIm-FJD que tuvo lugar el 28/02/2023 (acta nº 04/23) se evaluó el estudio referido y, ha decidido, una vez aceptadas las respuestas a las aclaraciones solicitadas:

A P R O B A R

La propuesta para que se realice el estudio:

Título: "Estudio piloto para evaluar la eliminación por diálisis de toxinas urémicas unidas a proteínas en pacientes entratamiento con diuréticos de asa".

Investigador Principal: EMILIO JOSE GONZALEZ PARRA. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz

Servicio: Nefrología

Promotor: FIIS-FJD

Código: NA

Documentos con Versiones:

PROTOCOLO Versión 2.0 de 22 de Marzo de 2023

HIP/CI GENERAL Versión 2.0 de 22 de Marzo de 2023

Además, hace constar que:

1. En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente –Decreto 38/94 de la CAM– para que la decisión del citado CEIm sea válida.
2. El Estudio reúne las normas éticas estándar de nuestra Institución para la realización de este tipo de estudios.
3. Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa aplicable en función de las características del estudio.
4. El CEImFJD, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm FJD es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el estudio o declare algún conflicto de interés no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen.
5. Asimismo, hacemos constar que no existe contraprestación económica para el centro y los investigadores.
6. Además, este comité recuerda al Promotor (*) la obligación, en el caso de que se trate de un estudio prospectivo, de realizar el registro del estudio en una base de datos de acceso público antes de reclutar el primer paciente así como el seguimiento del estudio de acuerdo a la legislación vigente.

(*) Para estudios promovidos por investigadores del IISFJD, se debe contactar con la Unidad de Investigación Clínica para información sobre cómo proceder para registrar el estudio (lucia.llanos@quironsalud.es)

Lo que firmo en Madrid a 28/03/2023

PIC057-23_FJD

III. Hoja de recogida de datos.

PROCOLO ELIMINACION DE TOXINAS UREMICAS EN LA ORINA DE PACIENTES CON HD INCREMENTAL

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Iniciales:

Fecha de Nacimiento:

Edad:

Sexo:

Fecha comienzo de diálisis:

Tiempo por sesión:

Días/ Semana HD:

Causa de ERC:

Diuresis aproximada:

KTV:

KT:

Diuréticos (Furo/ tora): si/no

ANALITICA

Sangre:

- Urea:

- Creatinina:

- Hemoglobina:

- Aclaramiento de Creatinina:

- Aclaramiento Urea:

- Calcio:

- Fósforo:

- PTH:

Orina:

- Diuresis 24 horas:

- Urea en orina:

- Creatinina en orina:

IV. Consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Diálisis de toxinas urémicas unidas a proteínas.

INTRODUCCIÓN

Se le ha invitado a participar en un estudio piloto. Conviene que lea y entienda este formulario antes de otorgar su consentimiento. En él se describen los propósitos, los procedimientos y su derecho a abandonar el estudio en cualquier momento. Si decide participar, recibirá una copia de este ejemplar para su archivo.

Como sabe, usted padece enfermedad renal crónica, y por este motivo recibe tratamiento con hemodiálisis junto con otros fármacos con los cuales está usted familiarizado. Con el objetivo de conseguir el mejor tratamiento de diálisis posible, diferentes grupos en todo el mundo busca la forma de eliminar de la sangre sustancias tóxicas que en condiciones normales son eliminadas por el riñón. Entre estas sustancias se encuentran el indoxyl-sulfato y p-cresol, que se acumulan en los pacientes en diálisis y que se han descrito como causantes de enfermedad cardiovascular, entre otras.

Usted orina, y como sabe no todos los pacientes lo hacen. La orina es un importante eliminador de toxinas.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El presente estudio pretende comprobar si existen diferencias en la eliminación del indoxyl-sulfato y p-cresol, entre los pacientes en hemodiálisis que orinan o no.

METODOLOGIA EMPLEADA

En el presente estudio analizaremos los valores del indoxyl-sulfato y p-cresol comparando los niveles de estas toxinas entre los pacientes que orinan y los que no. Se dializará con su dializador habitual, y con la misma diálisis. En los análisis habituales de cada mes analizaremos tanto en sangre como en orina, además de lo habitual, estas toxinas.

Este estudio no requiere mayor número de exploraciones y visitas de las habituales.

BENEFICIOS ESPERADOS

INVESTIGADOR PRINCIPAL

El investigador principal será la Dra. XXXXXXX. Servicio de Nefrología. Hospital XXXXX.

Firmas

Para incorporarse al estudio, usted o su representante legal deberá firmar y fechar la hoja del consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

1. Nombre y apellidos del paciente
2. Nombre y apellidos del tutor (sólo en los supuestos que recoge la ley)
3. Nombre y firma del médico informante.

Yo, abajo firmante cuyos datos se recogen en 2. DECLARO:

- Haber recibido suficiente información sobre el estudio.
- Haber podido hacer preguntas sobre el estudio.
- Haber hablado con el investigador principal.
- Comprendo que la participación en el estudio es plenamente voluntaria y que puedo decidir retirarme del mismo en todo momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos, conservándose la confidencialidad de los datos personales.

Declaro prestar libremente mi conformidad para que algunos de mis datos clínicos puedan incluirse en una base de datos médicos sobre mi enfermedad y el tratamiento que recibo.

Lugar y fecha

Firma del paciente

Los resultados de esta tesis han sido parcialmente presentados en la siguiente publicación:

Review

Displacing the Burden: A Review of Protein-Bound Uremic Toxin Clearance Strategies in Chronic Kidney Disease

Didier Sánchez-Ospina ^{1,2}, Sebastián Mas-Fontao ^{2,3,4,†}, Carolina Gracia-Iguacel ⁵, Alejandro Avello ⁵, Marina Gonzalez de Rivera ⁵, Maddalen Mujika-Marticorena ¹ and Emilio Gonzalez-Parra ^{2,5,*}

¹ Servicio Análisis Clínicos, Hospital Universitario de Burgos, 09006 Burgos, Spain; sliverco41@gmail.com (D.S.-O.); mmujika@saludcastillayleon.es (M.M.-M.)

² IIS-Fundación Jiménez Díaz, 28040 Madrid, Spain; smas@fjd.es

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), 28029 Madrid, Spain

⁴ Faculty of Medicine and Biomedicine, Universidad Alfonso X el Sabio (UAX), 28037 Madrid, Spain

⁵ Department of Nephrology and Hypertension, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain; cgracia@quironsalud.es (C.G.-I.); alejandro.avello@quironsalud.es (A.A.); marina.grivera@fjd.es (M.G.d.R.)

* Correspondence: egonzalezspa@senefro.org

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Sánchez-Ospina, D.; Mas-Fontao, S.; Gracia-Iguacel, C.; Avello, A.; González de Rivera, M.; Mujika-Marticorena, M.; Gonzalez-Parra, E. Displacing the Burden: A Review of Protein-Bound Uremic Toxin Clearance Strategies in Chronic Kidney Disease. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 1428. <https://doi.org/10.3390/jcm13051428>

Academic Editor: Shozo Kobayashi and Takayasu Ohkubo

Received: 19 January 2024

Revised: 19 February 2024

Accepted: 28 February 2024

Published: 1 March 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Uremic toxins (UTs), particularly protein-bound uremic toxins (PBUts), accumulate in chronic kidney disease (CKD) patients, causing significant health complications like uremic syndrome, cardiovascular disease, and immune dysfunction. The binding of PBUts to plasma proteins such as albumin presents a formidable challenge for clearance, as conventional dialysis is often insufficient. With advancements in the classification and understanding of UTs, spearheaded by the European Uremic Toxins (EUTox) working group, over 120 molecules have been identified, prompting the development of alternative therapeutic strategies. Innovations such as online hemodiafiltration aim to enhance the removal process, while novel adsorptive therapies offer a means to address the high affinity of PBUts to plasma proteins. Furthermore, the exploration of molecular displacers, designed to increase the free fraction of PBUts, represents a cutting-edge approach to facilitate their dialytic clearance. Despite these advancements, the clinical application of displacers requires more research to confirm their efficacy and safety. The pursuit of such innovative treatments is crucial for improving the management of uremic toxicity and the overall prognosis of CKD patients, emphasizing the need for ongoing research and clinical trials.

Keywords: chronic kidney disease; uremic toxins; protein-bound uremic toxins; adsorptive therapies; molecular displacers

1. Introduction

Chronic kidney disease (CKD), a global health challenge, impacts an estimated 10–15% of the world's population [1]. In 2017, around 843.6 million individuals were affected, as recent studies on the global CKD prevalence indicate [2]. This rise is partly attributed to the increased incidence of diabetes, hypertension, obesity, and aging populations [3], alongside improved access to renal replacement therapies in economically developing nations [4].

CKD stages are independently linked to heightened cardiovascular event risks, decreased quality-adjusted life years, and high morbidity and mortality rates. From 1990 to 2017, the CKD-related global mortality surged by 41.5%, ranking it as the 12th leading death cause worldwide [5]. By 2040, it is projected to become the 5th leading cause of global mortality [6].

One CKD consequence is the gradual decline of glomerular filtration, leading to metabolic waste product accumulation in the bloodstream, known as uremic toxins (UTs).