

Bases teóricas para la propuesta de un ensayo clínico aleatorizado, controlado y abierto, para evaluar la eficacia de la adición de bemiparina a la solución de icodextrina en pacientes en diálisis peritoneal con trastornos del transporte peritoneal [FRIAT-BEM-2005-01]

R. Selgas, G. del Peso, R. Sánchez-Villanueva, L. S. Aroeira, A. Fernández Perpén, A. Ortiz, M. Ruiz Ortega, J. A. Sánchez-Tomero, J. Martínez, B. Marron y M. A. Bajo

Hospital Universitario La Paz. Hospital Universitario de La Princesa. Fundación Jiménez Díaz. Laboratorios ROVI, S. A. Baxter España, S. A. Instituto Carlos III de Investigación (REDinREN, RETICS 06/16). Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas.

RESUMEN

Considerando todas las investigaciones realizadas hasta la fecha sobre las causas que contribuyen al deterioro de la membrana peritoneal y su fisiopatología, se puede concluir que es de gran interés investigar si la administración de heparina intraperitoneal puede aportar un beneficio sobre el mantenimiento de la función peritoneal en los enfermos tratados con diálisis peritoneal (DP). Las acciones descritas a favor de esta idea son:

- 1) La inflamación crónica del peritoneo es una causa de alteración de la función peritoneal y la heparina tiene acción antiinflamatoria.
- 2) La fibrosis peritoneal debida a diálisis peritoneal o a traumatismo puede ser evitada o mejorada con heparina ip.
- 3) La heparina (HNF y HBPM, incluida bemiparina) induce la síntesis de tPA por las células mesoteliales, lo que supone una acción fibrinolítica.
- 4) La heparina, más la HBPM que la HNF, inhibe la angiogénesis.
- 5) La heparina intraperitoneal favorece la eliminación de los AGE en la DP.
- 6) Modelos animales y estudios clínicos de corta extensión han demostrado una mejora de la función peritoneal con heparina.
- 7) Por el momento, no se han encontrado problemas de seguridad en su administración intraperitoneal.

Es por tanto una hipótesis verosímil que el uso de heparina intraperitoneal puede modificar favorablemente la función peritoneal de pacientes en diálisis peritoneal.

Palabras clave: Diálisis peritoneal. Ensayo clínico aleatorizado. Trastornos del transporte peritoneal. Bemiparina. Icodextrina.

Correspondencia: Rafael Selgas
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario La Paz
Castellana, 261
28046 Madrid
rselgas.hulp@salud.madrid.org

SUMMARY

Multiple investigations performed on peritoneal pathophysiology during peritoneal dialysis (PD) suggest that intraperitoneal heparin might modify most of the causes of membrane deterioration. The actions described favouring this idea are:

- 1) Peritoneal Chronic inflammation alters peritoneal function and heparin has anti-inflammatory properties.
- 2) Peritoneal fibrosis related to peritoneal dialysis or traumatic injury may be avoided or limited with heparin.
- 3) Heparine induces tPA synthesis by mesothelial cells, which represents a potentiation of fibrinolytic action.
- 4) Heparine, specifically low-molecular weight heparin, inhibits angiogenesis.
- 5) Intraperitoneal heparin favors the removal of advanced glycosylation end products in PD.
- 6) Animal models and clinical studies with small series of patients have demonstrated an improvement of peritoneal function with intraperitoneal heparine use.
- 7) Until now, no adverse effects of the intraperitoneal heparin use have been found.

In consequence, it is a plausible hypothesis to consider that intraperitoneal heparin may favourably modify peritoneal function in patients under peritoneal dialysis.

Key words: Peritoneal dialysis. Randomized clinical trial. Peritoneal transport disorders. Bemiparin. Icodextrin.

ANTECEDENTES

La diálisis peritoneal (DP) consiste en el intercambio de solutos y agua entre la sangre del capilar peritoneal y la cavidad abdominal bañada por un líquido dializante hiperosmótico que se renueva periódicamente.

La DP tiene como objetivo sustituir la función renal (eliminación de moléculas pequeñas) sin la eliminación de algunas de ellas (como el calcio), extrayendo agua por la hiperosmo-

sis inducida por glucosa¹⁴. La solución de diálisis es bioincompatible debido al pH ácido, la alta concentración de glucosa y la hiperosmolaridad asociada, la alta concentración de lactato, y la presencia de productos de degradación de glucosa (GDPs: *glucose degradation products*)⁵⁻¹³.

La membrana peritoneal está formada por una monocapa de células mesoteliales que actúa como barrera¹⁴⁻¹⁶. Estas células secretan sustancias relacionadas con la permeabilidad y la defensa del peritoneo. La exposición durante cierto tiempo a soluciones de DP hiperosmóticas, hiperglicémicas y ácidas causa con frecuencia una inflamación crónica y un cierto grado de fibrosis². Estos cambios se consideran la causa principal del fallo de ultrafiltración, lo que afecta a más del 20% de los pacientes en diálisis peritoneal ambulatoria¹⁷⁻²¹.

En un estudio sobre biopsias peritoneales de 220 individuos, entre los que había 120 pacientes en DP y 9 individuos normales (además de 25 urémicos y 48 en hemodiálisis)²² se observó aumento del grosor de la zona submesotelial con el tiempo de DP. El grosor medio de esta capa en sujetos normales fue de 50 μm , y de 270 μm en pacientes en DP, observándose un incremento significativo del grosor con la duración del tratamiento. Este incremento fue más evidente en los casos de uremia y en los pacientes en DP durante más de 8 años. Otros autores²³ han encontrado relación entre el aumento de la capa submesotelial y el incremento del transporte de solutos.

MECANISMOS MOLECULARES DE LA FIBROSIS PERITONEAL

En pacientes en DP, se ha observado asociación entre algunos mediadores de inflamación y la función peritoneal²⁴. El TGF β 1 (*transforming growth factor beta 1*) tiene un papel fibrogénico en el peritoneo²⁵. La concentración peritoneal de TGF β 1 aumenta en los episodios de peritonitis y existe una asociación entre el TGF β y la función de transporte de la membrana peritoneal²⁶⁻²⁷. Además, TGF β 1 aumenta la producción de PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor 1*), lo que tiene relación con la fibrinólisis y el metabolismo del colágeno. PAI-1 está implicado en la fase precoz de la fibrosis peritoneal, ya que inhibe la actividad fibrinolítica en la superficie del tejido peritoneal, lo que supone una acumulación de fibrina en el tejido, que es el primer paso para la fibrosis peritoneal²⁸. El tratamiento con decorina, un proteoglicano inhibidor de TGF β , en un modelo animal de inflamación peritoneal, redujo el colágeno mesentérico, aunque no modificó la ultrafiltración neta³¹. La exposición prolongada a altas concentraciones de glucosa en la DP es una de las causas del daño de la membrana peritoneal. Estas concentraciones de glucosa aumentan en células mesoteliales la producción de TGF β ²⁹ y de sus receptores tipos I y II³⁰.

Otros factores contribuyen a la fibrosis persistente³¹ la IL-1 es la más potente inductora de estos cambios²⁵. Concretamente, la IL-1 β estimula la producción de matriz extracelular³² y la IL-1 β aumenta la expresión de PAI-1 en cultivos *in vitro* de células mesoteliales³³. Los productos de degradación de glucosa tales como metilglioxal, glioxal y 3-deoxiglucosona que se producen durante el proceso de esterilización pueden dañar

las células mesoteliales³⁴, e inducen más formación de productos finales de glicación avanzada (AGE: *advanced glycation end products*) que la glucosa sola³⁵. Existen depósitos de AGE en el tejido peritoneal de pacientes en DP que se correlacionan con la fibrosis y la alteración del transporte de solutos y de la ultrafiltración³⁶⁻³⁷. El HGF (*Hepatocyte growth factor*) aumenta en el peritoneo de los pacientes con peritonitis, e induce la transformación de las células mesoteliales y la síntesis de colágeno en cultivo³⁸.

Nakamura y cols.³⁹ realizaron un estudio en peritoneo de autopsias de sujetos en DPCA y confirmaron muchos de los datos comentados anteriormente: aumento del grosor y del número de vasos sanguíneos, presencia de miofibroblastos, aumento de TGF β , VEGF, HGF y M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*), siendo de mayor magnitud en los casos con pérdida de capacidad de ultrafiltración que en los que aún la mantenían.

La inflamación es sin duda un importante elemento para la fibrosis progresiva, pero puede haber otros factores relacionados. Por ejemplo, se ha sugerido que el mantenimiento de la fibrosis es debido en parte a la existencia de un ambiente profibrótico causado por un desequilibrio de enzimas colagenolíticas como las metaloproteinasas de matriz extracelular (MMP: *matrix metalloproteinase*) y sus inhibidores (TIMP: *tissue inhibitor of metalloproteinase*)⁴⁰. Apoya esta idea el hallazgo de niveles de proteínas MMP-1:TIM-1 significativamente menores en peritoneo con adherencias comparado con peritoneo intacto⁴¹.

El *turnover* de fibrina intraperitoneal en pacientes en DPCA es alto. El balance generación/degradación de fibrina es adecuado en los pacientes que no han tenido peritonitis en los últimos 6 meses pero está alterado en presencia de peritonitis reciente⁴².

Las células mesoteliales sufren un proceso de transición hacia un tipo celular mesenquimal, que podría explicar el origen de la presencia de miofibroblastos en el tejido peritoneal. Este proceso de transdiferenciación (de célula epitelial a fibroblasto) puede ser inducido *in vitro* por TGF β 1, habiéndose observado un efecto adicional al añadir IL-1 β ⁴³⁻⁴⁴. Por otra parte, en modelos animales se ha observado prevención de la fibrosis peritoneal bloqueando TGF β ³¹.

EL PAPEL DE LA ANGIOGÉNESIS

Una alteración asociada al fallo de la función peritoneal en la DP es la proliferación microvascular y el aumento de la expresión de VEGF (*vascular endothelial growth factor*)⁴⁵. Altas concentraciones de VEGF inducen vasodilatación capilar, un dato que no es estudiable en biopsias y que puede, antes de la angiogénesis, ser responsable de un alto transporte de solutos y bajo de agua.

Se han descrito numerosos factores que regulan positiva o negativamente la angiogénesis, algunos de los cuales se relacionan directamente con la vía hemostática. Entre ellos se encuentran productos derivados de las plaquetas como el VEGF, el factor plaquetario 4 plaquetario y la trombospodina; la fibrina y productos de su degradación, la angiostatina, el receptor de uroquinasa y el factor tisular (TF)⁴⁶. La transferencia genética de angiostatina (un conocido inhibidor de la angio-

génesis) mediante adenovirus, mejora significativamente la ultrafiltración neta, con una reducción importante de la densidad vascular³¹.

Algunos autores sostienen que los productos de degradación de glucosa y la formación acelerada de AGE asociada, es la principal causa de daño peritoneal inducido por las soluciones de DP. El peritoneo expuesto a soluciones de DP estándar (*Dianeal*[®], de Baxter) se caracteriza por aumento de la expresión de VEGF, proliferación microvascular y fibrosis mesotelial, lo que no sucede en los casos tratados con otros soluciones de DP obres en PDGs como bicarbonato/lactato (*Physioneal*[®], de Baxter) o lactato/aminoácidos (*Nutrineal*[®], de Baxter)⁴⁵.

RAZONES PARA UN ESTUDIO DE INTERVENCIÓN CON HEPARINA

Las heparinas son glicosaminoglicanos compuestos por cadenas de residuos de D-glucosamina y un ácido urónico. Catalizan la inactivación de trombina y el factor Xa actuando sobre antitrombina III. El peso molecular de la heparina varía entre 3.000 y 30.000 Da⁴⁷.

Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) son anticoagulantes de uso habitual en la actualidad. Tienen numerosas ventajas sobre la heparina no fraccionada (HNF), en especial, una vida media más larga, una dosis-respuesta más predecible, lo que permite que las HBPM puedan ser administradas en dosis fijas sin monitorización de laboratorio, y una menor probabilidad de hemorragia con efecto antitrombótico equivalente, así como menor riesgo de provocar trombocitopenia inmune inducida por heparina y osteoporosis en tratamiento a largo plazo⁴⁸.

Existen multitud de publicaciones en las que se han explorado posibles aplicaciones terapéuticas de la heparina distintas a su acción anticoagulante. La heparina tiene actividad antiinflamatoria y por ello se han realizado estudios en asma, nefropatía diabética, colitis ulcerosa y diálisis peritoneal.

La heparina y otros glicosaminoglicanos relacionados pueden modular la actividad de diversas células inflamatorias. La heparina neutraliza los radicales superóxido producidos por leucocitos activados, atenúa el daño sobre el endotelio y el parénquima ocasionado por los neutrófilos, inhibe la activación de los mastocitos y previene su degranulación. Además, la heparina inhibe la citotoxicidad derivada de la proteína básica del eosinófilo y la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular y el consiguiente tráfico de los mismos a los tejidos⁴⁹⁻⁵⁰.

En modelos animales (para adherencias peritoneales postquirúrgicas) la administración de heparina i.p. antes de la curación de la lesión traumática del peritoneo puede prevenir el desarrollo de adherencias peritoneales⁵¹⁻⁵².

Experimentos *in vitro* en cultivos de células mesoteliales humanas de omento explican en parte el desequilibrio entre coagulación y fibrinólisis intraperitoneal en la peritonitis de pacientes en CAPD^{42,53-54}. La activación de las células mesoteliales con TNF β (*tumor necrosis factor alfa*) da lugar a una disminución del tPA (*tissue-plasminogen activator*) y a un aumento del PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor 1*), lo que significa una reducción de la actividad fibrinolítica. Además,

el mismo estímulo induce la producción de factor tisular, un potente activador de la vía extrínseca de la coagulación. La heparina induce la síntesis de tPA en cultivos de células mesoteliales humanas sin afectar la producción de PAI-1. Esto significa que la heparina aumenta la capacidad fibrinolítica de las células mesoteliales mediante un incremento selectivo de la producción de tPA. Estos resultados, con diferentes grados de actividad, se han descrito con varias heparinas, incluida una HBPM⁵⁵. El mismo efecto (aumento de tPA, sin variación de PAI-1) se ha observado en un estudio preliminar con bemparina⁵⁶.

La heparina inhibe el crecimiento de las células mesoteliales de omento de manera dosis dependiente. Esto mismo también sucede con altas concentraciones de glucosa, y la unión de ambas reduce aún más la proliferación. Teniendo en cuenta que la renovación del peritoneo, por ejemplo en situación de peritonitis, depende del crecimiento de las células mesoteliales, habría que considerar las dosis y las situaciones en que se debe administrar heparina ip.⁵⁷

Existen bastantes datos clínicos y preclínicos que señalan acciones beneficiosas de la heparina ip en el ámbito de la diálisis peritoneal.

La heparina es añadida generalmente a las soluciones de diálisis peritoneal con la intención de prevenir la formación de adherencias y los depósitos proteínicos en el catéter, sin que esto afecte la coagulación sistémica⁶¹.

Algunos estudios han demostrado que la HNF y las HBPM interfieren en el proceso de angiogénesis al unirse a factores de crecimiento angiogénicos como el bFGF (*basic fibroblast growth factor*) y el VEGF, y la modulación de TF (*tissue factor*)⁵⁸. En modelos animales de diálisis peritoneal se ha observado una mayor inhibición de la angiogénesis por HBPM que por fracciones de heparina de alto peso molecular⁵⁹.

La heparina ip disminuye de forma significativa la concentración de AGE en plasma y aumenta de forma significativa la concentración de AGE en el dializado: es decir, aumenta su aclaramiento por DP⁶⁰ y previene la formación de adherencias⁶¹.

Por otra parte, en modelos animales la heparina mejora el transporte de la membrana peritoneal, y se interpreta que además de sus otras acciones, la reposición de glicosaminoglicanos en un tejido depleccionado de ellos por su transformación completa en colágeno, podría tener influencia directa sobre la porosidad de la membrana⁶².

La heparina ha sido empleada para el tratamiento de pacientes en DP con pérdida progresiva de ultrafiltración. En 7 pacientes en DPCA se estudiaron una serie de parámetros antes y después del tratamiento con 100 ml de solución dextrosa ip con 3.500 UI de heparina durante 4 semanas. Se detectó una recuperación de la capacidad de UF que fue completa en 4/7 pacientes (6 a 17 meses después del tratamiento). La mejoría de la capacidad de difusión peritoneal para moléculas pequeñas fue muy pequeña⁶³. En dos estudios diferentes la heparina ip mejoró la transferencia de urea y creatinina, sin variar la pérdida de proteínas, indicando una acción predominante en el transporte de moléculas pequeñas. Además, confirman la seguridad del uso de heparina ip⁶⁰⁻⁶¹.

En otro estudio en enfermos en DPCA se observó reducción de fibrinopéptido A (FPA) en el líquido dializado y en el

plasma a las 6 horas de infusión de solución de diálisis con 1.000 ó 2.000 UI/L de heparina. El FPA es un indicador del paso de fibrinógeno a fibrina. Encontraron que la heparina ip previene la formación de fibrina en pacientes de DPCA, sin detectar ningún efecto adverso⁶⁴.

También se han publicado efectos beneficiosos de otros glucosaminoglicanos, como el heparinoide llamado sulodexide (80% HBPM y 20% dermatán-sulfato). En 16 pacientes en DPCA se administraron 50 mg de sulodexide ip, en la solución para la diálisis de la noche (8-10 h), durante 30 días. Observaron una mejora en los ratios D/P (dializado/plasma) de urea y creatinina, una reducción de la pérdida de proteínas (con un aumento de albúmina en suero paralelo), y en la ultrafiltración neta no se detectaron cambios significativos⁶⁵.

En otro estudio en enfermos en DPCA se observó reducción de fibrinopéptido A (FPA) en el líquido dializado y en el plasma a las 6 horas de infusión de solución de diálisis con 1.000 ó 2.000 UI/L de heparina, indicando que la heparina ip previene la formación de fibrina, sin detectar ningún efecto adverso⁶⁴. La administración de heparina ip (2,5 U/ml ó 5 U/ml) es efectiva en la prevención de la precipitación de fibrina, que suele producirse al principio de la DPCA o la peritonitis⁶⁶. Sin embargo, Nadig y cols., cuestiona la necesidad de aplicar heparina en todos los casos de peritonitis en CAPD, ya que en su estudio encuentran que no es frecuente el desequilibrio entre coagulación y fibrinólisis. Consideran que sólo se debería administrar heparina en los casos con concentraciones bajas de dímero-D (indicador de fibrinólisis) en el dializado de enfermos en CAPD con peritonitis⁶⁷.

Por último, dentro de los estudios clínicos publicados hasta el momento, el planteamiento de Sjøland y cols.⁶⁸ va más allá en su hipótesis de partida: investigan si la aplicación diaria de heparina ip en los pacientes en DP a largo plazo, aunque no presenten peritonitis, puede prevenir las alteraciones de la membrana peritoneal. Realizaron un estudio doble ciego con la HBPM tinzaparina, añadiendo 4.500 UI en la bolsa de diálisis de la mañana (una vez al día) durante 3 meses. Tras un periodo de lavado de 1 mes, se cruzó el tratamiento con placebo o tinzaparina. La tinzaparina redujo la permeabilidad de los solutos pequeños y aumentó la ultrafiltración, ambas de manera significativa. Sin embargo, se detectó una incidencia alta de peritonitis (7/21). En 11 pacientes se analizaron diferentes parámetros relacionados con la actividad antiinflamatoria de la HBPM. Encontraron una reducción significativa de la concentración de proteína-C reactiva en el plasma de los enfermos tratados con HBPM, así como una disminución de la concentración de fibrinógeno en el plasma y una reducción de IL-6 en el líquido dializado⁶⁹.

PROTEOGLICANOS Y PERMEABILIDAD

El desarrollo por algunos pacientes en DP de trastornos funcionales peritoneales consistentes en el aumento del transporte bidireccional de pequeños solutos (glucosa, creatinina) y en consecuencia de la disminución del transporte de agua por pérdida del gradiente osmótico, supone un reto para la DP a

medio-largo plazo. El fenómeno se asocia de forma llamativa con un cambio estructural que consiste inicialmente en un engrosamiento submesotelial, insudación de células mesoteliales, transformación de las mismas en miofibroblastos y alto contenido tisular intersticial de VEGF. Este incremento del transporte de solutos en el seno de un engrosamiento submesotelial con cambio de composición del tejido, representado por la aparición de grandes cantidades de colágeno I y fibronectina, permite suponer una reestructuración de la membrana con pérdida de su composición original en la que los glicosaminoglicanos representan un elemento fundamental^{13,70-72}. A pesar de su nueva apariencia, la membrana peritoneal transformada será realmente más permeable o dicho de otra manera, menos selectiva en su permeabilidad. La presencia de glicosaminoglicanos en el intersticio de la membrana peritoneal original representa la ordenación de una porosidad que mantiene los transportes de solutos, y agua en consecuencia, en situación apropiada⁷³⁻⁷⁴.

Dos recientes artículos añaden importantes datos al campo de los proteoglicanos y su participación en barreras activas. Una revisión completa les sitúa en medio de múltiples procesos esenciales en la biología de los tejidos⁷⁵. Flessner ha propuesto una nueva localización de proteoglicanos dentro de la barrera de filtración peritoneal: el glicocalix endotelial⁷⁶. Esta propuesta incluso introduce un reto a la teoría estática de los tres poros para el transporte peritoneal, especialmente en condiciones adversas. En ellas el glicocalix se deteriora y condiciona diferencias. En consonancia con este mecanismo básico, ha sido muy recientemente añadido el papel del sindecan en la conservación de las propiedades de transporte de la barrera epitelial intestinal⁷⁷. Además, la administración de heparina ha revertido la enteropatía pierde proteínas de un modelo animal «knock-out» para sindecan.

En síntesis, considerando todas las investigaciones realizadas hasta el momento sobre las causas que contribuyen al deterioro de la membrana peritoneal y su fisiopatología, se puede concluir que es de interés investigar si la administración de heparina ip puede aportar un beneficio sobre el mantenimiento de la función peritoneal en los enfermos tratados con DP. Las acciones a favor descritas en este sentido son:

- 8) La inflamación crónica del peritoneo es una causa de alteración de la función peritoneal y la heparina tiene acción antiinflamatoria.
- 9) La fibrosis peritoneal debida a diálisis peritoneal o a traumatismo puede ser evitada o mejorada con heparina ip.
- 10) La heparina (HNF y HBPM, incluida bemiparina) induce la síntesis de tPA por las células mesoteliales, lo que supone una acción fibrinolítica.
- 11) La heparina inhibe la angiogénesis, más la HBPM que la HNF.
- 12) La heparina ip favorece la eliminación de los AGE en la DP.
- 13) Modelos animales y estudios clínicos han demostrado una mejora de la función peritoneal con heparina.
- 14) Por el momento, no se han encontrado problemas de seguridad en la administración ip.

Bemiparina es una HBPM con un peso molecular medio de 3.600 Da, con eficacia demostrada en la prevención de la enfermedad tromboembólica postoperatoria. En los estudios realizados hasta el momento, la bemiparina sc, ha mostrado una seguridad parecida a otras heparinas⁴⁸.

TIPO DE ENSAYO CLÍNICO Y DISEÑO DEL MISMO

Objetivos

Objetivo principal

Evaluar si la adición de bemiparina (3.500 UI/día), una vez/día en la solución de icodextrina para diálisis peritoneal durante 16 semanas, aumenta la capacidad peritoneal de ultrafiltración y/o disminuye el transporte de creatinina en pacientes que presentan trastornos funcionales de tipo déficit de ultrafiltración y/o alto transporte.

Objetivos secundarios

Evaluar si la adición de bemiparina (3.500 UI/día) una vez/día en la solución de icodextrina para diálisis peritoneal durante 16 semanas, modifica algunos biomarcadores del efluente peritoneal relacionados con los procesos de regeneración tisular.

DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO

Dosis, vía y forma de administración y duración del tratamiento del ensayo

Fármaco experimental: Bemiparina sódica:

Dosis: 3.500 UI/día, en 0,2 ml de solución inyectable. Inyección completa en la bolsa de Extraneal® de 2 litros para administración intraperitoneal.

Duración: se administrará una bolsa con bemiparina diaria durante 16 semanas.

La medicación del estudio se proporcionará de manera gratuita en jeringas precargadas individuales convenientemente etiquetadas y empaquetadas en cajas también provistas de etiquetas para su correcta identificación como medicación del estudio. Junto con la medicación se entregará una hoja de instrucciones para el paciente.

En las visitas, además de proveer al paciente de la medicación suficiente cuando sea necesario hasta la próxima cita, se recogerán los *blisters* vacíos de las jeringas usadas y cajas vacías, así como la medicación no utilizada por el paciente durante el periodo anterior.

Técnica de la inyección en la bolsa de Extraneal®

La Bemiparina se presenta en jeringas precargadas listas para su empleo y no deben ser purgadas antes de la inyección.

Se realizará el cambio de bolsa de Extraneal® según protocolo habitual.

Los pasos a seguir para la inyección de Bemiparina en la bolsa de Extraneal® son:

1. Preparar el material que se va a utilizar sobre la mesa:
 - Jeringa precargada de Bemiparina.
 - Spray desinfectante (Cutasept®).
 - Desinfectante de manos (Sterilium®).
2. Aplicar spray desinfectante en el punto de inyección de la bolsa sin tocarlo con los dedos.
3. Desinfectar las manos con desinfectante de manos.
4. Realizar el drenaje y el purgado o lavado de línea.
5. Proceder a la inyección de la Bemiparina en la bolsa, pinchando en el centro del punto de inyección con cuidado. Las jeringas no deben ser purgadas antes de la inyección. Evitar rozar con los dedos las partes implicadas. La aguja debe introducirse de forma completa, perpendicularmente y no tangencialmente en el espesor de la goma sujetando el soporte con los dedos pulgar e índice de la otra mano, alejados del punto de inyección. La punta de la aguja así introducida queda en la luz del soporte. La inyección se efectuará entonces de forma rápida y completa, extrayendo la aguja al finalizar. La aguja no debe perforar el soporte, es decir, mostrar su punta fuera de éste. En tal caso se desechará todo el material, incluyendo jeringa y bolsa, y se procederá con uno nuevo.
6. Aplicar de nuevo spray desinfectante en el punto de inyección.
7. Continuar con el cambio de bolsa según protocolo habitual.

Se deberá instruir al paciente adecuadamente sobre la técnica de la inyección y se le proporcionará unas instrucciones escritas con las normas para la correcta administración de la medicación del estudio de forma aséptica.

DESARROLLO DEL ENSAYO Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA

Variable principal de evaluación y variables secundarias

La *variable principal de eficacia* será la función peritoneal definida mediante la capacidad de ultrafiltración estandarizada (glucosa 3,86%, 4 horas de permanencia ip) y/o el transporte peritoneal de creatinina estimado por D/P y coeficiente de transferencia de masas o MTC durante el periodo de tratamiento aleatorizado (desde el día 1 al día 112).

Las *variables secundarias de eficacia* serán parámetros bioquímicos o celulares del efluente peritoneal y del plasma relacionados con la inflamación, y la remodelación tisular. Se guardará orina del paciente para posibilitar la determinación de algún parámetro que pudiera ser relevante.

Se realizarán en algunos pacientes *análisis exploratorios de eficacia* de marcadores biológicos de transición epitelio-mesenquimal de la célula mesotelial en cultivos *ex vivo* que incluyen fenotipo, E-cadherina, α -SMA, VEGF, colágeno I, TGF-beta, y los que en el momento del análisis se consideren de interés atendiendo a la literatura científica. Para estos estudios se realizarán cultivos de células del líquido efluente que serán completamente destruidas tras su uso. También se determina-

Suplemento

rán Factores de crecimiento presentes en efluente relacionados con la remodelación tisular (VEGF, CTGF, TGF- β).

La *variable principal de seguridad* será la incidencia de peritonitis durante el periodo de tratamiento aleatorizado (desde el día 1 al día 112).

Definición de peritonitis: Recuento celular de efluente peritoneal con más de 100 leucocitos por mm³ con 50% o más de Polimorfonucleares.

Como *variables secundarias de seguridad* se valorará la incidencia de peritonitis desde el inicio hasta el final del estudio.

Asimismo se valorará durante desde el inicio hasta el final del estudio la incidencia de:

- Hemorragias mayores, definidas como aquellas que cumplen alguno de los siguientes criterios:
 - Determinación en plasma de actividad anti-Factor Xa.
 - La incidencia de hemorragias menores, definidas por la aparición de una hemorragia manifiesta que no llegue a cumplir los criterios de hemorragia mayor señalados anteriormente.
 - La incidencia de trombocitopenia, así como la incidencia de acontecimientos adversos graves y los abandonos debidos a acontecimientos adversos durante el estudio.

Conflicto de intereses

Rafael Selgas declara haber recibido becas para desarrollo de investigación de Baxter, Fresenius, Amgen, Abbott y Gambro.

BIBLIOGRAFÍA

1. The Textbook of Peritoneal Dialysis. 2nd Edition. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. 2000. Ed. Gokal, Khanna, Krediet, Nolph.
2. Selgas R, Fernández-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jiménez C, Del Peso G, De Álvaro F. Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium-long-term study. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 64-73.
3. Selgas R, Bajo MA, Del Peso G, Jiménez C. Preserving the peritoneal dialysis membrane in long-term peritoneal dialysis patients. *Semin Dialysis* 1995; 8: 326-332.
4. Bajo MA, Del Peso G, Hevia C, Castro MA, Díaz C, Castro MJ, Gil F, Sánchez-Tomero J, Selgas R. Effect of bicarbonate/Lactate peritoneal solutions on human mesothelial cell proliferation *ex vivo*. *Adv Perit Dial* 2001; 17: 38-41.
5. Fernández de Castro M, Selgas R, Jiménez C, Bajo MA, Martínez V, Romero JR, De Álvaro F, Vara F. Cell populations present in the nocturnal peritoneal effluent of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis and their relationship with peritoneal function and incidence of peritonitis. *Perit Dial Int* 1994; 14: 265-270.
6. Sánchez-Cabezudo MJ, Díaz C, Fernández de Castro M, Medina S, Bajo MA, Sánchez C, Vara F, Selgas R. Mesothelial cell human primary culture directly obtained from peritoneal effluent. *Perit Dial Int* 1997; 17 (Supl. 1): S9.
7. Díaz C, Selgas R, Castro MA, Bajo MA, Fernández de Castro M, Molina S, Jiménez C, Ortiz A, Vara F. *Ex vivo* proliferation of mesothelial cells directly obtained from peritoneal effluent. Its relationship with peritoneal antecedents and functional parameters. *Adv Perit Dial* 1998; 14: 19-24.
8. Castro MA, Díaz C, Bajo MA, Sánchez-Cabezudo MJ, Fernández de Castro M, Del Peso G, Martínez ME, Selgas R. Metodología para evaluar la capacidad de crecimiento *ex vivo* de las células mesoteliales obtenidas directamente del efluente peritoneal. *Nefrología* 2000; 20: 277-283.
9. Selgas R, Del Peso G, Bajo MA, Castro MA, Molina S, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA, Castro MJ, Álvarez V, Corbi A, Vara F. Spontaneous VEGF production by cultured peritoneal mesothelial cells from patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2000; 20: 798-801.
10. Selgas R, Del Peso G, Bajo MA, Molina S, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA, Castro MJ, Castro MA, Vara F. Vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in peritoneal dialysis effluent. *J Nephrol* 2001; 14: 270-274.
11. Castro MA, Bajo MA, Del Peso G, Larrocha C, Castro MJ, Sánchez-Tomero JA, Cirugeda A, Aguilera A, Álvarez V, Costero O, Vara F. Influencia de factores exógenos en la capacidad de proliferación *ex vivo* de las células mesoteliales obtenidas de efluente de pacientes tratados con diálisis peritoneal crónica. *Nefrología* 2003; 23: 243-251.
12. Selgas R, Bajo MA, Aguilera A, Sánchez-Tomero JA, Cirugeda A, Del Peso G, Álvarez V, Jiménez-Heffernan JA, Díaz C, López-Cabrera M. Transición epitelio-mesenquimal en procesos fibrosantes. Células mesoteliales obtenidas *ex vivo* de pacientes tratados con diálisis peritoneal como modelo de transdiferenciación. *Nefrología* 2004; 24: 34-39.
13. Jiménez-Heffernan JA, Aguilera A, Aroeira A, Lara-Pezzi E, Bajo MA, Del peso G, Ramírez M, Gamallo C, Sánchez-Tomero JA, Álvarez V, López-Cabrera M, Selgas R. Immunohistochemical characterization of fibroblast subpopulations in normal peritoneal tissues and in peritoneal dialysis-induced fibrosis. *Virchows Arch* 2004; 444: 247-256.
14. Krediet R. The peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 341-356.
15. Brulez HF, Verbrugh HA. First-line defense mechanisms in the peritoneal cavity during peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1995; 15 Supl.: S24-S33.
16. Mortier S, Lameire NH, De Vriese AS. The effects of peritoneal dialysis solutions on peritoneal host defense. *Perit Dial Int* 2004; 24: 123-138.
17. Chaimovitz D. Peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1994; 45: 1226-40.
18. De Álvaro F, Castro MJ, Dapena F, Bajo MA, Fernández-Reyes MJ, Romero JR, Jiménez C, Miranda B, Selgas R. Peritoneal resting is beneficial in peritoneal hyperpermeability and ultrafiltration failure. *Adv Perit Dial* 1993; 9: 56-61.
19. Selgas R, Bajo MA, Castro MJ, Sánchez-Tomero JA, Cirugeda A. Managing ultrafiltration failure by peritoneal resting. *Perit Dial Int* 2000; 20: 595-597.
20. Selgas R, Bajo MA, Castro MJ, Del Peso G, Aguilera A, Fernández-Perpen A, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA. Risk factors responsible for ultrafiltration failure in early stages of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2000; 20: 631-636.
21. Bajo MA, Selgas R, Castro MA, Del Peso G, Díaz C, Sánchez-Tomero JA, Fernández de Castro M, Álvarez V, Corbi A. Icodextrin effluent leads to a greater proliferation than glucose effluent of human mesothelial cells studied *ex vivo*. *Perit Dial Int* 2000; 20: 742-747.
22. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, MacKenzie RK, Williams GT. Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 470-479.
23. Plum J, Hermann S, Fusssholler A, Schoenicke G, Donner A, Rohrborn A, Grabensee B. Peritoneal sclerosis in peritoneal dialysis patients related to dialysis settings and peritoneal transport properties. *Kidney Int Suppl* 2001; 78: S42-7.
24. Stenvinkel P, Chung SH, Heimbürger O, Lindholm B. Malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2001; 21 Supl. 3: S157-62.
25. Margetts PJ, Kolb M, Galt T, Hoff CM, Shockley TR, Gaudie J. Gene transfer of transforming growth factor- β 1 to the rat peritoneum: effects on membrane function. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2029-39.
26. Lin CY, Chen WP, Yang LY, Chen A, Huang TP. Persistent transforming growth factor-beta 1 expression may predict peritoneal fibrosis in CAPD patients with frequent peritonitis occurrence. *Am J Nephrol* 1998; 18: 513-9.
27. Lai KN, Lai KB, Szeto CC, Lam CW, Leung JC. Growth factors in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent. Their relation with peritoneal transport of small solutes. *Am J Nephrol* 1999; 19: 416-22.
28. Rougier JP, Guia S, Hagege J, Nguyen G, Ronco PM. PAI-1 secretion and matrix deposition in human peritoneal mesothelial cell cultures: transcriptional regulation by TGF-beta 1. *Kidney Int* 1998; 54: 87-98.
29. Kang DH, Hong YS, Lim HJ, Choi JH, Han DS, Yoon KI. High glucose solution and spent dialysate stimulate the synthesis of transforming