

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA



**EFFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRÓN DE  
EXCRECIÓN URINARIA DE PROTEÍNAS EN PACIENTES  
CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y  
MICROPROTEINURIA**

Por

**Martha Rodríguez Morán.**

Como requisito parcial para optar al grado de

**DOCTOR EN MEDICINA**

2004

TD  
RC907  
.R6  
2004  
e.1



1080126697

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA



**EFFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRÓN DE  
EXCRECIÓN URINARIA DE PROTEÍNAS EN PACIENTES  
CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y  
MICROPROTEINURIA.**

Por

**Martha Rodríguez Morán.**

Como requisito parcial para optar al grado de

**DOCTOR EN MEDICINA**

2004



## **DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Med. José Gerardo González González

## **MIEMBROS DE LA COMISIÓN DE TESIS DOCTORAL.**

Dr. Med. María Victoria Bermúdez Barba.

Dr. Med. Carlos Eduardo Medina de la Garza.

Dr. Med. Héctor Eloy Tamez Pérez.

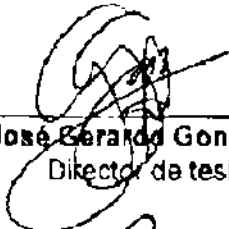
Dr. Med. Francisco Javier Martínez Martínez.

## **SUSTENTANTE**

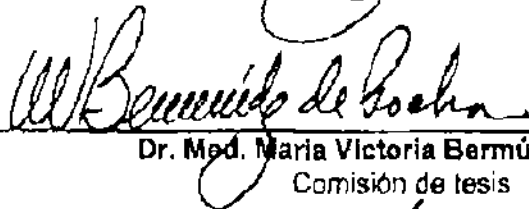
M. en C. Martha Rodríguez Morán

**EFFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRÓN DE EXCRECIÓN  
URINARIA DE PROTEÍNAS EN PACIENTES CON DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 Y MICROPROTEINURIA.**

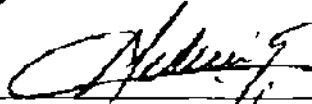
Aprobación de tesis:



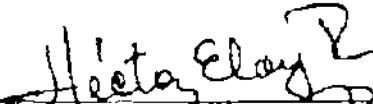
**Dr. Med. José Berardo González González**  
Director de tesis



**Dr. Med. María Victoria Bermúdez Barba**  
Comisión de tesis



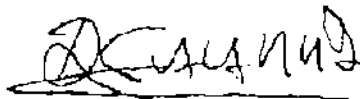
**Dr. Med. Carlos Eduardo Medina de la Garza**  
Comisión de tesis



**Dr. Med. Héctor Eloy Tamez Pérez**  
Comisión de tesis



**Dr. Med. Francisco Javier Martínez Martínez**  
Comisión de tesis



**Dr. Dionicio Angel Galarza Delgado**  
Subdirector de investigación y Estudios de Posgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero hacer patente mi más amplio y sincero agradecimiento al Dr. Gerardo González González, por su valiosa ayuda y entera disposición en la asesoría de esta tesis. Así como a los integrantes del comité de tesis: Dra. María Victoria Bermúdez Barba, Dr. Carlos Eduardo Medina de la Garza, Dr. Héctor Eloy Tamez Pérez y Dr. Francisco Javier Martínez Martínez por sus valiosas sugerencias e interés en la revisión del presente trabajo.



## TABLA DE CONTENIDO

Capitulo		Pagina
	Resumen.....	1
1.-	Introducción.....	5
	1.2 Justificación.....	13
2.-	Objetivos.....	14
	2.1 Objetivo general.....	14
	2.2 Objetivos específicos.....	15
3.-	3.1 Problema.....	16
	3.2 Hipótesis de trabajo.....	16
	3.3 Hipótesis nula.....	16
	3.4 Hipótesis alterna.....	16
4.-	Sujetos material y métodos.....	17
	4.1.1 Diseño.....	17
	4.1.2 Grupos en estudio.....	17
	4.1.3 Universo de estudio.....	17
	4.1.4 <i>Universo muestral</i> .....	17
	4.1.5.Tamaño de la muestra.....	18
	4.1.6 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación...	19
	4.2 Variables.....	20
	4.3 Procedimientos.....	26
	4.4 Análisis estadístico.....	28
	4.5Consideraciones éticas.....	29
	4.6-Recursos humanos.....	29
	4.7 <i>Recursos materiales</i> .....	29
	4.8 Recursos financieros.....	30
5.-	Resultados.....	31
6.-	Discusión.....	35
7.-	Conclusiones.....	41
8.-	Bibliografía.....	41

Anexos.....	54
Anexo 1 (Hoja de consentimiento informado).....	55
Anexo 2 (Hoja de historia clinica).....	57
Anexo 3 (Hoja de registro mensual).....	59
Resumen autobiográfico.....	76

### LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla		Pagina
1.-	Características antropométricas en condiciones básales.....	61
2.-	Resultados de laboratorio en condiciones básales.....	62
3.-	Resultados de laboratorio después de 4 meses de tratamiento.....	63
4.-	Variación mensual de valores de proteinuria.....	64
5.-	Resultados de laboratorio de pruebas de función renal.....	65
Figuras		
1.-	Diagrama de flujo.....	66
2.-	Variación de los valores de proteinuria.....	67
3.-	Análisis electroforético de muestras de orina en condiciones básales de pacientes con placebo. Gel teñido con plata.....	68
4.-	Análisis electroforético de muestras de orina en condiciones básales de pacientes con Pentoxifilina. Gel teñido con plata...	69
5.-	Análisis electroforético de muestras de orina en un paciente con Pentoxifilina, en condiciones básales, primero, segundo, tercero y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con azul brillante de Coomassie.....	70
6.-	Análisis electroforético de muestras de orina de un paciente con Pentoxifilina, en condiciones básales, al primer, segundo tercer y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con plata.....	71
7.-	Análisis electroforético de muestras de orina de un paciente con Pentoxifilina, en condiciones básales, al primer, segundo tercer y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con plata.....	72
8.-	Análisis electroforético de muestras de orina de un paciente con Pentoxifilina, en condiciones básales, al primer, segundo tercer y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con plata.....	73
9.-	Análisis electroforético de muestras de orina de un paciente con Placebo, en condiciones básales, al primer, segundo tercer y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con plata.....	74

10.-	Análisis electroforético de muestras de orina de un paciente con Placebo, en condiciones basales, al primer, segundo tercer y cuarto mes de tratamiento. Gel teñido con plata.....	75
------	--	----

## NOMENCLATURA

IRC	Insuficiencia Renal Crónica
HAS	Hipertensión Arterial Sistémica
AMPc	Adenosin mono Fosfato Cíclico
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
SDS	Dodecilsulfato de Sodio
PAGE	Electroforesis en Gel de Poliacrilamida
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
IMC	Índice de Masa Corporal
kDal	Kilodaltones
mA	Miliamperios
n	Numero
p	Valor de p
Vs.	Versus
DE	Desviación Estándar
min.	Minuto

## LISTA DE SIMBOLOS

$\mu\text{g} / \text{min.}$	Microgramos por minuto
$\mu\text{l}$	microlitros
$\mu\text{g}$	Microgramos
$\text{mg}$	miligramos
$\text{ng}$	nanogramos
$\text{Kg}$	kilogramos
$\text{m}$	Metros
$\text{h}$	Horas
$H_0$	Hipótesis nula
$H_a$	Hipótesis alterna
$\leq$	Menor o igual que
$\geq$	Mayor o igual que
$=$	Igual
$<$	Menor que
$>$	Mayor que
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$+$	mas
$/$	entre
$-$	menos
$\div$	Dividir
$\times$	Por
$\pm$	Mas menos
$\%$	Porcentaje

## **RESUMEN**

**Martha Rodríguez Morán**

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Medicina**

**Título del Estudio: EFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRÓN DE EXCRECIÓN URINARIA DE PROTEÍNAS EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y MICROPROTEINURIA.**

**Numero de páginas: 87**

**Candidato para el grado de Doctor  
en Medicina**

**Área de Estudio: Ciencias de la Salud, Endocrinología.**

**Introducción:** La epidemiología e historia natural de la nefropatía diabética ha sido objeto de estudio en los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2, se ha podido establecer que al momento del diagnóstico, por lo menos 5% de ellos tienen albuminuria persistente y que de 7-15 años de evolución de la diabetes 25-83% desarrollarán albuminuria, 75% de los cuales, después de 10 años, tendrán Insuficiencia Renal Crónica, la albuminuria es un fuerte predictor del desarrollo de nefropatía e indica de manera temprana el riesgo de nefropatía lo cual nos permite la posibilidad de un diagnóstico temprano y la elaboración de

programas de prevención primaria y secundaria que retarden la aparición de IRC.

Estudios previos muestran que la pentoxifilina administrada por vía oral es un factor que disminuye la albuminuria en el paciente con diabetes tipo 2.

**Objetivos:** Determinar cual es el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria. Determinar si la pentoxifilina ejerce cambios en el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

**Diseño:** Ensayo clínico aleatorio doble ciego.

**Participantes:** Cuarenta enfermos con diabetes tipo 2 y microproteinuria quienes de manera aleatoria fueron asignados a uno de dos grupos que a continuación se describen:

**Intervención: Grupo A:** Pacientes que recibieron una dosis oral de 400 mg de pentoxifilina cada 8 horas durante 4 meses.

**Grupo B:** Pacientes que recibieron placebo inerte en forma oral cada 8 horas durante 4 meses.

**Determinación:** Patrón de excreción urinaria de proteínas, microproteinuria y examen general de orina; niveles séricos de urea, creatinina, glucemia, hemoglobina glucosilada, colesterol, triglicéridos, TGO, TGP, fosfatasa alcalina y DHL, electrocardiograma, edad, tiempo de evolución de la diabetes, hipertensión arterial, obesidad, tabaquismo y hábito de ejercicio.

**Resultados:** Se realizó el escrutinio en 749 sujetos con diabetes tipo 2, entre estos, 60 reunieron los criterios de inclusión y fueron invitados a participar en la fase de tratamiento intensivo basado en ejercicio, dieta y modificación de su



esquema farmacológico, después de 6 meses se lograron cifras de glucemia  $\leq 180$  mg/dL en 45 pacientes (75 %) finalmente aceptaron participar en el estudio 40 (88.8%). En este grupo se realizó un sorteo aleatorio para su inclusión en alguno de los dos grupos.

Se registró una pérdida (5%) en el grupo con placebo (B) ya que el paciente cambió su lugar de residencia.

No se registraron efectos adversos serios en ninguno de los grupos. En el grupo con pentoxifilina se registró cefalea leve que no requirió manejo específico y cedió espontáneamente en 4 pacientes (20 %). En el grupo placebo no hubo manifestaciones clínicas secundarias.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en las condiciones basales de ambos grupos en las variables antropométricas y en las determinaciones de laboratorio.

Al final de las 16 semanas de seguimiento los niveles de proteínas en orina, en las personas que recibieron pentoxifilina, disminuyeron de  $69.8 \pm 40.6$   $\mu\text{g} / \text{minuto}$  a  $20 \pm 23.5$   $\mu\text{g} / \text{minuto}$  mientras que en el grupo placebo no se registraron cambios significativos respecto a las condiciones basales, variando los valores de  $67.7 \pm 41.0$   $\mu\text{g} / \text{minuto}$  a  $65.2 \pm 38.1$   $\mu\text{g} / \text{minuto}$ .

Se observó una disminución en los valores creatinina de grupo con pentoxifilina variando de  $1.0 \pm 0.2$  a  $0.82 \pm 0.2$  mg/dL ( $p$  0.03) en tanto que el grupo con placebo los valores variaron de  $0.82 \pm 0.2$  a  $0.9 \pm 0.2$  mg/dL ( $p$  0.29), lo que podría reflejar que en las personas bajo tratamiento con pentoxifilina hubo una mejoría en la función renal.

*Análisis electroforético de proteínas urinarias.* El perfil electroforético exhibido por las proteínas de los pacientes con diabetes y microproteinuria fue mixto (glomerular – tubular), apreciándose bandas de proteínas correspondientes a los siguientes pesos moleculares: 150, 132, 77, 66, 54, 41, 36, 27, 20, 14.3 y 12 KDal.

**Conclusiones:**

La pentoxifilina redujo la proteinuria y los valores séricos de creatinina en los pacientes con diabetes tipo 2 y microproteinuria, esta disminución fue independiente de los niveles séricos de glucosa y de las cifras de presión arterial.

El perfil electroforético de la microproteinuria en pacientes con DM tipo 2 fue mixto (glomerular y tubular). La pentoxifilina modificó el patrón de excreción urinaria de proteínas, disminuyendo de forma muy notoria las proteínas de bajo peso molecular (perfil tubular).

**FIRMA DEL ASESOR:** \_\_\_\_\_

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a central vertical stroke, positioned above a horizontal line.

## CAPITULO 1

### INTRODUCCION

La proporción de casos nuevos de enfermedad renal terminal atribuidos a nefropatía diabética se han incrementado del 10% en 1973 al 35% en 1990 (1-3) lo que ha elevado significativamente la cobertura de los programas y costos relacionados a su atención (2,4). En nuestro país no existen estadísticas fehacientes sobre los costos de atención de los pacientes con enfermedad renal pero es un hecho el incremento significativo de pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (IRC) en los programas de diálisis. (5)

Por las implicaciones clínicas y de Salud Pública, la epidemiología e historia natural de la nefropatía diabética ha sido objeto de estudio tanto en los pacientes con diabetes mellitus (DM) tipo 1 (1,2,6) como en los pacientes con DM tipo 2 (1-4,7-11). Así, se ha podido establecer que en los pacientes con DM tipo 1 la presencia de albuminuria constituye un factor predictivo para el desarrollo de nefropatía y falla renal terminal (1,3,4,6-12). Se estima que al momento del diagnóstico, por lo menos 5% de los pacientes tiene albuminuria persistente (1,8) y después de 7-15 años de evolución de la DM 25-83% de los pacientes desarrollarán albuminuria, 75% de los cuales, después de 10 años, tendrán IRC (1). Una elevación discreta en la albuminuria (8) es un fuerte predictor del desarrollo de nefropatía, acuñándose los términos de *microalbuminuria* y *nefropatía incipiente* (8,10), que al indicar de manera

temprana el riesgo de nefropatía abren la posibilidad de un diagnóstico temprano y la elaboración de programas de prevención primaria y secundaria (1) que retarden la aparición de IRC.

Por otro lado, en los pacientes con DM tipo 2, se ha podido establecer que la microalbuminuria y la proteinuria son también factores predictivos de nefropatía y falla renal terminal (2,3,13-15), siendo la tasa cruda de IRC 28% más elevada que en pacientes con DM tipo 1 (2).

En los pacientes con DM tipo 2 la albuminuria, además de ser un factor predictivo para nefropatía, es también un factor de riesgo de muerte de origen cardiovascular (2,12,15-18). Por otro lado, la presencia de albuminuria en pacientes diabéticos acelera la presentación de hipertensión arterial sistémica (HAS), que lleva a su vez a un deterioro más rápido de la función renal (1,3-6, 8, 9,11-13,18-20).

El control de la proteinuria con medidas tales como la restricción en la ingesta de proteínas, el control estricto de la glucemia y de la HAS permiten retardar la evolución de la lesión renal (1,3,4,7,11,18-20). Sin embargo, en la práctica clínica es difícil lograrlo por lo que se hace necesaria la implementación de otras medidas en la corrección de la proteinuria (1-3,11,12) con el consecuente beneficio sobre la función renal y la supervivencia.

A pesar de los esfuerzos realizados aún no se conoce con claridad la fisiopatología de la microalbuminuria-proteinuria (2,3,6,16,21,22). Al respecto, existen varios reportes sobre factores de riesgo para el desarrollo de albuminuria en pacientes diabéticos (1,3,6,11,12,18) y se han formulado varias hipótesis para explicar su fisiopatología (1,3,6,8,16,18,21,22). Tres hipótesis

son las más discutidas (16,18,23); a) la de Steno (16), b) hemodinámica (1,3,6,8,18) y c) la hemorreológica (3,23,24). En las dos primeras se asume un papel central del trastorno del flujo sanguíneo en la microcirculación en la génesis de la microalbuminuria.

La hipótesis de Steno formula que el aumento de la tasa de escape transcápilar de albúmina podría reflejar un aumento en la coagulación extravascular (16) que conlleva a un aumento en la liberación del factor de Von-Willebrand, lo mismo que del activador del plasminógeno, ambos elevados en pacientes con albuminuria (16). Estos constituyen sendos marcadores de disfunción endotelial, indicadores de dificultad en el flujo sanguíneo al afectar uno de los componentes reológicos (23,25-31). Por otro lado esta hipótesis formula la existencia de cambios en las cargas eléctricas de la matriz extracelular y de las membranas plasmáticas (3,16,22) que reflejan cambios en la composición de las membranas y que alteran el flujo sanguíneo (23,24,28,29,32); se señala también que hay pérdida del heparán-sulfato (3,16,22) el cual tiene importante actividad antitrombogénica (3,16) favoreciendo por tanto el desarrollo de microtrombos; Además, se ha demostrado un incremento en la adhesividad plaquetaria en los pacientes con diabetes (16,24), factores que en conjunto traducen dificultad en el flujo sanguíneo de la microcirculación (24,26-28,33-35) lo que acelera el desarrollo de microangiopatía (16,24,29).

La hipótesis hemodinámica (1,3,6,8,18), por otro lado, formula como factor desencadenante de la albuminuria un aumento en la presión de filtración glomerular (1,3,6) secundario a la dificultad del flujo en el plexo peritubular, ocasionado por el incremento en la hiperviscosidad hemática en esta zona

(8,23), situación que se ve magnificada por la hiperviscosidad propia de los pacientes diabéticos con mal control de la glucemia (23,24).

La hipótesis hemorreológica (3,23-24) establece que el flujo sanguíneo anormal que se observa como parte del síndrome de hiperviscosidad al que pertenece la diabetes y la HAS (23-24,29-34) se traduce en un empeoramiento del flujo sanguíneo en la microcirculación e influye adversamente en la filtración glomerular al reducir el flujo del plexo peritubular (23) que aumenta la presión de filtración glomerular y reduce la absorción a nivel tubular.

La filtración glomerular produce una mayor hemoconcentración peritubular y cuando preexiste un estado de hiperviscosidad la anormalidad en el flujo se incrementará con las consecuencias de hiperfiltración y daño glomerular (23). Este mecanismo se ve favorecido por la presencia de un pobre control de la glucemia y durante los periodos de cetoacidosis y deshidratación (24). Por otro lado, en el paciente diabético existe una disminución en la deformabilidad del eritrocito (24,28,34), un aumento en la adhesividad plaquetaria, un incremento en la liberación del factor de Von-Willebrand y del factor activador del plasminógeno (16,26,27,32) cambios que contribuyen al deterioro del flujo sanguíneo en la microcirculación y al daño glomerular.

Como apoyo de la hipótesis anterior, se ha encontrado una asociación consistente entre hiperviscosidad sanguínea y la presencia de retinopatía y nefropatía (24). De acuerdo a lo expuesto, el uso de agentes hemorreológicos en los pacientes diabéticos es un campo promisorio en la prevención y tratamiento de la microangiopatía diabética, formulándose (desde hace más de 35 años) recomendaciones en este sentido, al reportarse una mejoría en el

flujo sanguíneo de los pacientes diabéticos al reducir la viscosidad sanguínea (23,24-36) y aumentar las propiedades de deformación de los eritrocitos patológicamente alterados. Hay reportes de que la pentoxifilina puede disminuir los requerimientos de insulina y de los hipoglucemiantes orales al mostrar un efecto benéfico a nivel de receptor y *post-receptor* (37) y del efecto metabólico resultante en la concentración de Adenosin Mono Fosfato Cíclico (AMPc) observado con el uso de este fármaco (25, 28,38).

La significancia clínica de estas conclusiones es que la viscosidad sanguínea de los pacientes diabéticos es potencialmente corregible (23), de lo que destaca la importancia de mantener los niveles de glucosa en sangre dentro de parámetros de control (39).

La Pentoxifilina (3,7-dimethyl-<sup>1</sup>)-[5-oxohexil]-xantina) es un derivado de la methylxantina utilizado desde 1984 para el tratamiento de problemas vasculares-oclusivos. Hay varios mecanismos por los cuales la pentoxifilina mejora el flujo sanguíneo: a) Incrementa la flexibilidad del eritrocito; b) disminuye la viscosidad sanguínea y aumenta la fluidez de la membrana eritrocítica; c) inhibe la producción de tromboxano y e) inhibe la activación de los neutrofilos.

Además, la pentoxifilina actúa en las células endoteliales normales activando la producción de prostaciclina; la cual tiene varios efectos vasculares. Es un vasodilatador muy potente, inhibe de la agregación plaquetaria, estimula la trombolisis, disminuye los niveles de fibrinogeno e incrementa la actividad fibrinolítica.

Finalmente, al disminuir la producción de tromboxano se presenta una mejoría en el flujo sanguíneo ya que actúa como un vasoconstrictor muy potente y como estimulador de la agregación plaquetaria, (40).

El uso de la pentoxifilina en pacientes con diabetes y nefropatía no ha sido tan amplio a pesar de su baja toxicidad, dentro de los efectos indeseables destaca la alteración a nivel hepático, aunque muy rara vez ocasiona ictericia y elevación de las enzimas hepáticas, además, se ha observado, aunque con poca frecuencia, la presencia de hemorragia retiniana y/o de tubo digestivo; se mencionan también efectos cardiovasculares y del sistema nervioso central como potenciales daños de toxicidad con pentoxifilina, sin embargo a las dosis terapéuticas estos efectos colaterales son muy raros (25,28-30,34,35,41,42). Los resultados de los primeros estudios clínicos con pentoxifilina señalan su eficacia sin embargo estos reportes no tienen solidez metodológica ya que no incluyeron grupo control o procesos aleatorizados en la selección de los sujetos en estudio (42-44).

Cabe esperar que siendo la proteinuria un marcador de lesión renal su disminución represente un proceso de mejoría y recuperación de la lesión del proceso fisiopatogénico que desencadenó la proteinuria. En esa medida se ejercerá un efecto protector sobre la función renal y se retardará la aparición de IRC.

La mayoría de los reportes sobre el papel de la pentoxifilina son de poblaciones Europeas (42-44); en Durango, desarrollamos un ensayo clínico cuyo objetivo fue establecer la eficacia de la pentoxifilina oral en la disminución de la microalbuminuria y/o de la proteinuria en pacientes diabéticos (45). En este



ensayo clínico, que fue el primero de su tipo desarrollado en México, incluyó 41 pacientes con DM tipo 1 y 45 con DM tipo 2, que fueron estratificados en dos subgrupos, de acuerdo a la presencia de micro- o macro-proteinuria, y posteriormente aleatorizados para recibir 400 mg de pentoxifilina tres veces al día, o placebo oral inerte. En este ensayo clínico se demostró que la administración oral de pentoxifilina revierte la microproteinuria y disminuye significativamente la macroproteinuria tanto en los pacientes con DM tipo 1 como en los que padecen DM tipo 2. El mecanismo de acción a través del cual un agente hemorreológico, como la pentoxifilina, disminuye la pérdida proteica renal no se determinó en el trabajo que se menciona (45). Es probable que la disminución en la viscosidad sanguínea produzca una disminución del "roce" del flujo sanguíneo con el endotelio, lo cual se traduciría en un decremento en la producción local de óxido nítrico en la arteriola eferente del glomérulo y por ende de la reversión de este fenómeno. Esto explicaría la protección y recuperación del mesangio y por tanto la disminución de la pérdida proteica.

Por otro lado, a pesar de que se ha mostrado consistencia en la reducción de la microalbuminuria y la proteinuria como resultado del tratamiento oral con pentoxifilina (46-49), se desconoce la naturaleza de la excreción urinaria de proteínas que se presenta en rangos de 20 a 200  $\mu\text{g}/\text{min.}$ , así como la modificación que la pentoxifilina ejerce en dicho patrón.

*Determinar si el patrón de excreción urinaria de proteínas en el paciente con diabetes es de origen glomerular o tubular, es uno de los primeros pasos dirigidos a la identificación del mecanismo fisiopatogénico de la*

microalbuminuria y la proteinuria, así como para establecer mecanismos protectores para disminuir el avance del daño renal en los pacientes con diabetes.

El mecanismo fisiopatológico por medio del cual la pentoxifilina reduce la excreción de proteínas no se conoce. Nosotros hemos hipotetizado (45) que al modificarse la viscosidad sanguínea, por efecto de la acción de la pentoxifilina, se altera la secreción de óxido nítrico y la presión de filtrado glomerular, lo que pudiera tener un papel relevante en la reducción de la tasa de excreción urinaria de proteínas. En la actualidad los esfuerzos de investigación se han dirigido sobre todo a la determinación del factor de necrosis tumoral alfa y otras citocinas cuya disminución inducida por la pentoxifilina pudiera explicar la reducción de la excreción de proteínas (50-52). Sin embargo, este tópico en la actualidad es aún polémico (52,53).

## 1.2 JUSTIFICACION

La presencia de proteinuria en el paciente con diabetes tipo 2 es un marcador de progresión de la enfermedad renal y de riesgo para enfermedad y muerte cardiovascular, por lo que las medidas terapéuticas orientadas a su prevención, diagnóstico temprano y manejo oportuno son prioritarias para mejorar la calidad de vida de los pacientes con diabetes tipo 2. En un ensayo clínico previo se determinó que la pentoxifilina administrada vía oral es un factor que disminuye la proteinuria en el paciente con diabetes tipo 2, con este trabajo se pretende determinar cuales son los cambios en el patrón de excreción urinaria de las proteínas relacionados al uso de pentoxifilina administrada en forma oral a la dosis de 400 mg tres veces al día en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que cursen con microproteinuria.

Por otro lado, en la actualidad se desconoce el mecanismo fisiopatológico a través del cual la pentoxifilina disminuye la excreción urinaria de proteínas. Algunos grupos han dirigido sus hipótesis de trabajo a la determinación del factor de necrosis tumoral alfa y otras citocinas cuya disminución inducida por la pentoxifilina suponen que pudiera explicar la reducción de la excreción de proteínas.

## **CAPÍTULO 2**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

2.1.1 Determinar cual es el cambio que ejerce la pentoxifilina en el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

## **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

2.2.1 Determinar cual es el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

2.2.2 Determinar el tipo de cambio que ejerce la pentoxifilina en el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

## CAPITULO 3

### 3.1 PROBLEMA

¿Cuál es el cambio que se produce en el patrón de excreción urinaria de proteínas con la administración oral de 400 mg de pentoxifilina cada 8 horas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria?

### 3.2 HIPOTESIS DE TRABAJO.

La pentoxifilina modifica el patrón de la excreción urinaria de proteínas en el paciente con Diabetes Mellitus tipo 2 y microproteinuria.

#### 3.2.1 Hipótesis Nula.

$H_0$  = No existe cambios en el patrón de excreción urinaria de proteínas con la administración de 400 mg de pentoxifilina cada 8 horas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

#### 3.2.2 Hipótesis Alternativa.

$H_a$  = Existen cambios en el patrón de excreción urinaria de proteínas con la administración de 400 mg de pentoxifilina cada 8 horas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y microproteinuria.

## **CAPITULO 4**

### **SUJETOS MATERIAL Y METODOS**

#### **4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Ensayo clínico aleatorio doble ciego.

##### **4.1.1 GRUPOS EN ESTUDIO**

Pacientes con diabetes tipo 2 y microproteinuria quienes de manera aleatoria fueron asignados a uno de dos grupos:

Grupo A.- Pacientes que recibieron una dosis oral de 400 mg de pentoxifilina cada 8 horas durante 4 meses.

Grupo B.- Pacientes que recibieron placebo oral inerte en forma oral cada 8 horas durante 4 meses.

##### **4.1.2 UNIVERSO DE ESTUDIO**

Pacientes con diabetes tipo 2, hombres y mujeres no embarazadas, mayores de 30 y menores de 75 años y con microproteinuria.

##### **4.1.3 UNIVERSO MUESTRAL**

*Pacientes con diabetes tipo 2 y microproteinuria, que asisten a los Clubes de diabéticos de las unidades de atención médica de IMSS de la ciudad de Durango.*

La asistencia de los pacientes al club es voluntaria, no existe un criterio específico de referencia y cursan con diferentes grados de hiperglucemia y complicaciones micro-macro vasculares, por lo que pueden considerarse como representativos de los pacientes con diabetes tipo 2.

#### 4.1.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Considerando una prevalencia de diabetes tipo 2 con microalbuminuria del 19.0%.

$$\alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.20$$

$$d = 0.70$$

El tamaño de la muestra es de 15 pacientes en cada grupo

Se consideró un 10% de posibles pérdidas y se incluyeron 20 pacientes a cada grupo.

Se Calculo de acuerdo a la formula propuesta por Mejía-Aranguré y colaboradores (54)

$$n = (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \bar{p} (1 - \bar{p}) (r+1) / d^2 r$$

d=Valor no nulo de las diferencias en proporciones (i.e., la magnitud de las diferencias que uno pretende probar)

r=La razón entre el número de individuos del mejor tratamiento contra el peor tratamiento.

$p^2$  La proporción de individuos en el peor tratamiento que no se recuperan.



$p^1$  = La proporción de individuos en el mejor tratamiento que no se recuperan.

$p = (p^2 - rp^1) / (1 + r)$  – Promedio ponderado de  $p^2$  y  $p^1$

#### 4.1.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN-EXCLUSIÓN-ELIMINACIÓN

##### Criterios de Inclusión

- Pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y con microproteinuria
- Hombres y mujeres
- de >30 y ≤75 años de edad
- Mujeres no embarazadas
- Sin contraindicaciones clínicas para el uso de pentoxifilina (Insuficiencia hepática, hemorragia retiniana)
- Que aceptaron participar y firmaron carta de consentimiento informado

##### Criterios de Exclusión

- Pacientes con hipertensión arterial definida de acuerdo a los criterios establecidos en el VI Joint National Committee
- Pacientes que reciban inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina.
- Pacientes bajo tratamiento con bloqueadores de los canales de calcio
- Pacientes en tratamiento con pentoxifilina al momento de la aleatorización
- Pacientes que hayan recibido pentoxifilina en los últimos seis meses
- Pacientes con proteinuria ≥200 µg/min.

- Pacientes con insuficiencia renal crónica detectados por elevación en los niveles séricos de creatinina mayores de 1.5 mg/dl y/o de niveles séricos de urea mayores de 40 mg/dL.
- Mujeres con planes de embarazo durante el estudio.
- Pacientes con el hábito de tabaquismo.

#### **Criterios de eliminación**

- Pacientes que no acudieron a la totalidad de las citas de laboratorio programadas
- Pacientes que presentaron reacciones adversas al medicamento.
- Abandono de tratamiento

#### **4.2 VARIABLES**

El patrón de excreción urinaria de proteínas fue la variable dependiente. Al efecto se consideraron dos patrones de excreción urinaria: a) Glomerular basado en la pérdida de proteínas de peso molecular mayor o igual de 40 KDal, y b) Tubular cuando la pérdida proteica fue a expensas de proteínas de menos de 40 KDal, que fueron determinados en condiciones basales y en forma mensual durante los 4 meses que duro el período de intervención con pentoxifilina o placebo.

La determinación de proteína urinaria se realizó en orina de 24 horas en condiciones de suspensión de cualquier tipo de ejercicio físico 72 horas previas al estudio y con una ingesta de no más de 30 g de proteína al día.

El patrón de excreción urinaria se determinó por electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio (SDS) poliacrilamida (PAGE). Las proteínas se identificaron de acuerdo a sus pesos moleculares.

#### **Elemento constante de la variable dependiente**

*Se consideraron como elementos constantes de la variable dependiente*

- a) Microproteinuria, definida por las concentraciones urinarias de proteína  $>20$   $\mu\text{g}/\text{min}$  y  $<200$   $\mu\text{g}/\text{min}$  en orina de 24 horas en dos mediciones consecutivas. Se realizaron determinaciones al inicio del estudio y con una periodicidad mensual, en todos los casos se determinó la presencia de proteína con el método de ácido sulfosalicílico. La microproteinuria fue un criterio de inclusión, sin embargo, dado que los pacientes con microproteinuria excretan también otro tipo de proteínas de bajo peso molecular por la orina, se considero importante determinar cuales son las proteínas se eliminan por la orina de estos pacientes.
- b) Diabetes tipo 2, considerando como tal a aquellos pacientes con diagnóstico establecido de diabetes a la edad de 30 años o más, que requieran o hayan requerido hipoglucemiantes orales para su control y que no muestren antecedentes ni predisposición a cetoacidosis.

La variable dependiente fue la Administración oral de pentoxifilina [1-(5-oxohexi)3,7-dimetilxantina] a la dosis de 400 mg cada 8 horas para alcanzar los niveles terapéuticos sostenidos de  $60 \pm 45$  ng/ml.

Finalmente se consideraron como Variables Confusotas a la presencia de:

a) Hipertensión Arterial Sistémica, ya que se ha documentado que la presencia de HAS en pacientes con diabetes es un factor que incrementa los niveles de albuminuria y determina un deterioro más rápido de la función renal. Para efectos de este estudio se consideraron como hipertensos a los pacientes con diagnóstico de HAS previamente establecido o en aquellos casos que en ausencia de diagnóstico de HAS se detectaran cifras en condiciones de reposo iguales o superiores a 140/90 mmHg en por lo menos tres tomas en un periodo de cinco días.

b) Tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), teniendo en cuenta que los mismos actúan también sobre la función renal disminuyendo la tasa de excreción urinaria de proteínas. Se consideró como tratamiento con inhibidores de ECA a los pacientes que recibieran captopril o enalapril o cualquier otro tipo de medicación inhibidora de la ECA.

c) Tratamiento previo con pentoxifilina, considerando a los pacientes que recibieran en forma actual o previa al inicio de este estudio tratamiento con pentoxifilina.

d) Tiempo de Evolución de la Diabetes Mellitus, ya que el tiempo de evolución de la diabetes esta relacionado al riesgo de desarrollo de nefropatía, esta variable se estratificó, para su análisis estadístico, en estratos de cinco años.

e) Edad del (la) paciente al ingreso al Estudio, en virtud de que se ha señalado la influencia de la edad como un factor de riesgo relacionado al desarrollo de nefropatía diabética, esta variable se estratificó, para su análisis estadístico, en estratos de cinco años.

f) Tabaquismo, al respecto hay evidencias que indican la posible asociación entre tabaquismo y desarrollo de nefropatía. Se estableció como tabaquismo positivo a consumo de uno ó más cigarros al día en el último año, para fines del presente estudio no se incluyeron pacientes con tabaquismo positivo.

g) Obesidad, en los últimos años se han acumulado evidencias que indican la existencia de una relación entre obesidad y desarrollo de nefropatía en los pacientes diabéticos. En este estudio se estableció el grado de obesidad de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) mismo que expresa la relación del peso en kilogramos con la estatura en metros ( $\text{Kg} / \text{m}^2$ )

Se consideraron como obesos a aquellos pacientes con  $\text{IMC} \geq 27 \text{ Kg. /m}^2$

h) Glucemia, ya que la falta de control de los niveles séricos de glucosa es el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de complicaciones crónicas en

la diabetes, en este trabajo se tomaron muestras de sangre venosa en condiciones de 8-10 h de ayuno para la determinación de los niveles séricos de glucosa, procesando las muestras en un autoanalizador automático de química clínica a través de la técnica de glucosa-oxidasa. Los valores de glucosa se estratificaron para efectos de su comparación estadística.

i) Hemoglobina Glucosilada, ya que el grado de control metabólico del paciente diabético se estima idealmente con la determinación de los niveles de hemoglobina glucosilada, en este estudio se midieron los valores de hemoglobina glucosilada en condiciones basales y al final del estudio, utilizando el método de quimioluminiscencia, que tuvo una variación interensayo menor de 5 %.

j) Niveles Séricos de triglicéridos y colesterol. dado que la presencia de dislipidemia se relaciona con la aparición de proteinuria, se determinaron los niveles séricos de triglicéridos, colesterol total y HDL colesterol en un autoanalizador de química clínica, y se calcularon, con la fórmula de Friedewald, los valores de LDL-colesterol, para estratificar sus niveles para efectos de la comparación estadística.

k) Historia Familiar de nefropatía, la asociación de historia familiar de nefropatía en pacientes diabéticos podría reflejar susceptibilidad genética para daño renal por lo que se determinó la presencia de este antecedente.

l) Infección Urinaria, las infecciones urinarias repetidas son factor de riesgo para nefropatía; sin embargo, no está bien establecido el número de infecciones o su frecuencia con relación a la aparición de nefropatía. Por otro lado, la presencia de infección urinaria produce pérdida de proteínas urinarias en forma transitoria. Por lo tanto, previo a su inclusión al estudio se realizó examen general de orina y si fue el caso urocultivo para determinar la presencia de infección urinaria. Se determinó además el antecedente de infecciones urinarias previas.

m) Ejercicio, dado que la actividad física favorece la aparición de proteinuria por lo la muestra urinaria se colectó después de al menos 72 horas de la realización de ejercicio.

n) Finalmente, se verificó la adherencia a tratamiento a través del conteo mensual de los medicamentos entregados y por entrevista con el familiar más cercano con finalidad de verificar la ingesta de los mismos (55).

#### 4.2.4 Control de las variables confusoras.

Las variables confusoras se controlaron en el diseño metodológico por restricción y en la fase de análisis estadístico por estratificación.

### 4.3 PROCEDIMIENTOS

Posterior a la aprobación por la Comisión de Tesis y por el Comité Académico de la Facultad de Medicina de la LANL y previa reunión de estandarización con los integrantes del equipo, se invito a los pacientes con DM tipo 2 que acudieron regularmente a los clubes de diabéticos de la unidades de atención médica del IMSS en la ciudad de Durango, Dgo., México, en el periodo comprendido de septiembre del 2000 a septiembre del 2002, a participar en el estudio explicándoles los objetivos del mismos así como los potenciales beneficios y efectos colaterales que pueden presentarse con la administración de las tres dosis de 400 mg de pentoxifilina al día, solicitándoles su aprobación para participar a través de una carta de aceptación informada. Se realizó valoración cardiovascular la cual incluyo el registro electrocardiográfico convencional, además se determinaron enzimas hepáticas para evaluar la posibilidad de contraindicación formal para la prescripción de pentoxifilina.

En condiciones basales y previo a su inclusión al estudio se elaboró historia clínica completa, determinación de índice de masa corporal, medición de presión arterial y examen general de orina para establecer la presencia de los criterios de inclusión, a aquellos que reunieron los criterios de inclusión se les invito a participar en la fase de tratamiento intensivo basado en ejercicio, dieta y modificación de su esquema farmacológico. En virtud que el 100% de los pacientes tuvieron glucemias mayores de 200 mg/dl, esta fase de estabilización duro seis meses, al final de la cual se obtuvieron glucemias igual o menores de 160 mg/dl en 45 (75 %).



Posteriormente se realizó el proceso de aleatorización para la asignación al grupo correspondiente, se indicó a los pacientes que suspendieran todo tipo de ejercicio físico programado durante 72 horas y se les citó a laboratorio para toma de muestra de sangre venosa en condiciones de 10-12 horas de ayuno y se les dieron indicaciones precisas para la colecta de su orina durante 24 horas. Las muestras biológicas fueron procesadas en un autoanalizador de química clínica (Express 550 CIBA Corning, Overling Ohio) Posterior a esta medición basal se inició tratamiento (pentoxifilina 400 mg cada 8 horas) Vs (placebo inerte cada 8 horas).

El seguimiento y las mediciones se realizaron con una periodicidad mensual, durante 4 meses. Durante este periodo se programaron citas para monitoreo de la presencia de efectos adversos de la pentoxifilina. Tanto el médico tratante como el paciente desconocían su asignación al grupo de tratamiento o placebo. Las proteínas urinarias se cuantificaron por el método de ácido sulfosalicílico y por nefelometría

El análisis cualitativo para determinar el patrón de excreción urinaria de proteínas se realizó por electroforesis en gel de Dodecilsulfato de sodio (SDS) - poliacrilamida (PAGE) en condiciones no reductoras, en geles verticales en placa con gradiente continuo de 7 a 15 % de acrilamida en el gel separador y 0.1 % de SDS en el gel concentrador, utilizando el sistema amortiguador Tris-Glicina de acuerdo a Laemmli (56). Se colocaron 5 µg de proteínas en cada carril y se aplicó corriente constante de 17 mA. Al finalizar la corrida, los geles fueron teñidos con azul de Coomassie R-250 al 0.1% disuelto en ácido

tricloroacético al 50 % y se aclararon en ácido acético al 7 %. Las muestras de orina con escaso contenido de proteínas pueden pasar indetectables en la tinción de Coomassie por lo que posteriormente los geles se tiñeron con nitrato de plata (57).

La adhesión al tratamiento se determinó por conteo mensual de los medicamentos entregados y entrevista con el familiar más cercano.

La información fue capturada para su procesamiento e interpretación en formato de dbase y posteriormente exportada al paquete estadístico SPSS.

Se registro una pérdida por cambio de lugar de residencia en el grupo de placebo, al final del periodo de 4 meses se analizo la información se los 39 pacientes participantes, Figura 1.

#### **4.4 ANALISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS 10.0. Las diferencias entre los grupos se estableció con *t* de Student para muestras independientes (U de Mann-Whitney) para las variables numéricas y con  $\chi^2$  (Prueba exacta de Fisher) para las variables colectadas en forma nominal. El nivel de significancia estadística se estableció con valores de  $p < 0.05$

Los resultados se expresaron como medidas de tendencia central y dispersión (de acuerdo a la distribución de la muestra).

#### **4.5 CONSIDERACIONES ETICAS**

Se contó con la aprobación de la Comisión Nacional de Investigación Científica y ética (registro 99-161-0030) del Instituto Mexicano del Seguro Social y se recabó firma de consentimiento informado y voluntario de todos los participantes (Anexo 1)

La información recabada fue manejada basándose en criterios de estricta confidencialidad.

#### **4.6 RECURSOS HUMANOS**

En el desarrollo del proyecto participaron los investigadores de la Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica del IMSS en la ciudad de Durango así como el personal de laboratorio adscrito a la misma y el personal encargado de los clubes de diabéticos de las unidades de atención médica del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de la ciudad de Durango.

La descripción de los sujetos en estudio se presenta en el capítulo de *Sujetos* *Material y Métodos*

#### **4.7 RECURSOS MATERIALES**

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica de IMSS en Durango, con apoyo de la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades del IMSS Siglo XXI, en las cuales se cuenta con los recursos tecnológicos necesarios para realizar las mediciones requeridas.

#### **4.8 NECESIDADES FINANCIERAS**

Las necesidades financieras se resolvieron a través del programa de apoyo financiero para el desarrollo de Tesis de Doctorado y Maestría del fondo de fomento a la investigación del IMSS.

## CAPITULO 5

### RESULTADOS

Se realizó escrutinio en 749 pacientes con DM tipo 2, de los cuales a 60 (8%) que reunieron los criterios de inclusión se les invitó a participar en la fase de tratamiento intensivo basado en ejercicio, dieta y modificación de su esquema farmacológico previo al inicio de la fase de intervención con pentoxifilina. En virtud que la totalidad de los pacientes tenían glucemias de ayuno mayores de 200 mg/dl, esta fase de estabilización tuvo una duración de seis meses, al final de la cual 45 (75 %) de los pacientes lograron alcanzar una glucemia de ayuno igual o menor de 180 mg/dl. De estos pacientes, 40 (88.8%) aceptaron participar en el estudio por lo que fueron aleatorizados para su asignación a los grupos que recibieron pentoxifilina o placebo, Figura 1

*Se registró una pérdida (5%) en el grupo de placebo ya que el paciente cambio su lugar de residencia. No se registraron efectos adversos serios en ninguno de los dos grupos. En el grupo con pentoxifilina se registró cefalea leve que no requirió manejo específico y cedió espontáneamente en 4 pacientes (20 %), mientras que en el grupo placebo no hubo manifestaciones secundarias ni eventos adversos de ningún tipo.*

La tabla 1 muestra las características antropométricas de los grupos en estudio; en condiciones basales, no se registraron diferencias significativas entre los grupos para ninguna de las variables estudiadas.

La tabla 2 muestra los resultados de laboratorio en condiciones basales en ambos grupos. De igual manera, que en las variables antropométricas, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Al final de las 16 semanas de seguimiento los niveles de proteínas en orina, en las personas que recibieron pentoxifilina, disminuyeron de  $69.8 \pm 40.6 \mu\text{g}/\text{min}$  a  $20 \pm 23.5 \mu\text{g}/\text{min}$  mientras que en el grupo placebo no se registraron cambios significativos, variando sus valores de proteinuria de  $67.7 \pm 41.4 \mu\text{g}/\text{min}$  a  $65.2 \pm 38.1 \mu\text{g}/\text{min}$  entre el inicio y final del estudio, tabla 3.

La figura 2 y la tabla 4 muestran las variaciones de los valores de proteínas urinarias antes y después de las 16 semanas de tratamiento para ambos grupos. Los pacientes que recibieron pentoxifilina presentaron una disminución significativa en la tasa de excreción urinaria de proteínas a partir del segundo mes de tratamiento, mientras que los pacientes del grupo placebo no mostraron cambios.

Respecto a los valores séricos de creatinina, a pesar de que se encontraron dentro de los límites de normalidad, en los pacientes que recibieron pentoxifilina se observó una disminución significativa de  $1.0 \pm 0.2$  a  $0.82 \pm 0.2 \text{ mg}/\text{dL}$  ( $p = 0.03$ ) entre el inicio y final del estudio, mientras que en los pacientes del grupo de placebo no hubo cambios significativos variando sus valores de creatinina sérica de  $0.82 \pm 0.2$  a  $0.9 \pm 0.2 \text{ mg}/\text{dL}$  ( $p = 0.29$ ), tabla 5.

**Análisis electroforético de proteínas urinarias.** El perfil electroforético exhibido por las proteínas urinarias de los pacientes con diabetes en ambos grupos fue mixto (glomerular-tubular), apreciándose sendas bandas de

proteínas correspondientes a los siguientes pesos moleculares: 150, 132, 77, 66, 54, 41, 36, 27, 20, 14.3 y 12 KDal, compatibles Inmunoglobulina G, ceruloplasmina, transferrina, albúmina,  $\alpha$ 1 antitripsina,  $\alpha$ 1 glucoproteína ácida, inhibidor de colagenasa,  $\alpha$ 1 microglobulina, inhibidor de tripsina, lizosima y  $\beta$ 2 microglobulina, perfiles representativos se muestran en la Figura 3 (carriles A-I), y Figura 4 (carriles A-J).

La Figura 5 representa el gel teñido con azul brillante de Coomassie de un paciente bajo tratamiento con pentoxifilina, en el que se aprecia una banda de proteína en el rango de los 66 KDal que corresponde a albúmina, destacando su reducción significativa tanto en su intensidad como en su grosor en el tercero y cuarto mes de tratamiento.

Las figuras 6, 7 y 8 representan geles teñidos con nitrato de plata y corresponden a tres pacientes bajo tratamiento con pentoxifilina, en ellos podemos apreciar disminución de la intensidad en algunas bandas (correspondientes a los pesos moleculares de 150, 132, 77 y 66 KDal) y la desaparición de otras (correspondientes a los pesos moleculares de 54, 41, 36, 27, 21, 14.3 y 12 KDal) a partir del segundo mes de tratamiento, reducción que es más notoria en el cuarto mes de tratamiento. Por peso molecular estas bandas corresponden a Inmunoglobulina G, Ceruloplasmina, Transferrina, Albúmina,  $\alpha$ 1 Antitripsina,  $\alpha$ 1 Glucoproteína ácida, Inhibidor de colagenasa,  $\alpha$ 1 Microglobulina, Inhibidor de tripsina, Lizosima y  $\beta$ 2 Microglobulina.

Las figuras 9 y 10 corresponden a dos pacientes en el grupo con placebo, en las que se aprecia la ausencia de cambios tanto en la intensidad como el grosor de las bandas de proteínas.



## CAPITULO 6

### DISCUSIÓN

Los hallazgos de este trabajo pueden ubicarse en dos vertientes; por un lado, son confirmatorios de reportes previos en los que se indica que la pentoxifilina reduce la tasa de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (45, 58), y por otro lado, el análisis del patrón de excreción urinaria de proteínas revela la existencia de un patrón mixto, con pérdida de proteínas tanto de elevado como de bajo peso molecular, sobre el que actúa la pentoxifilina disminuyendo la excreción urinaria de ambos tipos de proteína, sobre todo de proteínas de bajo peso molecular.

Con respecto al primer hallazgo, desde los finales de la década de los 80's se ha destacado la importancia del desarrollo de nefropatía en los pacientes con diabetes tipo 2, señalando que el intervalo promedio entre el inicio de la diabetes y el desarrollo de proteinuria es de 9.5 años (59). No obstante, en el 9.2% de los pacientes con diabetes la proteinuria aparece en el transcurso del primer año del diagnóstico y en el 12.8% de los casos dentro de los primeros 5 años de la enfermedad metabólica (59). Si consideramos que la presencia de proteínas en la orina es un marcador de progresión de enfermedad renal y cardiovascular (2, 15), y que éstas complicaciones son las principales causas de incapacidad y muerte en el paciente con diabetes, es indudable que deben reforzarse las intervenciones dirigidas a la prevención y/o tratamiento temprano de la proteinuria. En este sentido, en los últimos años, las evidencias

acumuladas tanto en estudios "in vitro", como en animales y ensayos clínicos controlados, muestran la eficacia de la pentoxifilina en la reducción de la tasa de excreción renal de proteínas en diferentes nefropatías (45, 58, 60-67). En este trabajo, los pacientes que recibieron pentoxifilina durante cuatro meses redujeron su tasa de excreción urinaria de proteínas en 30%, mientras que en aquellos en el grupo placebo no se modificó. Además la pentoxifilina fue bien tolerada, sin efectos secundarios o adversos que motivaran la suspensión del fármaco. Considerando lo anterior, así como la existencia de una asociación entre las complicaciones microvasculares renales y las alteraciones hemoreológicas de la diabetes, se puede establecer la recomendación de utilizar pentoxifilina como un fármaco de primera línea en el tratamiento de la microproteinuria diabética (58).

Es necesario señalar que el efecto de pentoxifilina sobre la microproteinuria del paciente con diabetes es independiente de los niveles séricos de glucosa y de los valores de la presión arterial (67,68). Aún cuando no fue objetivo de este trabajo, dicho hallazgo también se documentó, ya que tanto en condiciones basales como al final de la intervención, los niveles de glucosa y las cifras de presión arterial entre ambos grupos no mostraron diferencias significativas.

El mecanismo a través del cual la pentoxifilina disminuye la tasa de excreción urinaria de proteínas no se conoce con precisión. Al respecto, los primeros mecanismos postulados sugerían que el efecto renoprotector de la pentoxifilina se debía a la reducción en la liberación de óxido nítrico por los macrófagos activados lo que disminuye la congestión vascular y la presión del filtrado glomerular (45, 66), y/o a un efecto directo vinculado a sus propiedades

reológicas (65). Sin embargo, en los últimos años, estudios tanto in vitro como en modelos animales han mostrado que la pentoxifilina es un fármaco con propiedades anti-TNF- $\alpha$  por lo que su acción protectora está vinculada a sus efectos antiinflamatorios (69, 70).

Recientemente se demostró que en las enfermedades renales crónicas existe un aumento de la permeabilidad glomerular a las proteínas que se acompaña de inflamación tubulointersticial y progresión a la insuficiencia renal crónica (71). Se ha postulado que como consecuencia del incremento de la permeabilidad glomerular, las proteínas se filtran a través del complejo capilar glomerular en cantidades excesivas ejerciendo un efecto tóxico, relacionado al menos en parte a su acumulación en el citoplasma de las células del túbulo contorneado proximal durante el proceso de reabsorción a lo largo de la nefrona (71-77). Las principales proteínas urinarias vinculadas a este efecto tóxico sobre las células tubulointersticiales son la IgG, la albúmina y la transferrina (74,78).

En este trabajo, el análisis cualitativo del patrón de excreción de proteínas urinarias muestra que entre las proteínas de elevado peso molecular (patrón glomerular) presentes en la orina de los pacientes con diabetes se encuentran proteínas (69, 70) de 150 KDal, 77 KDal y 66 KDal compatibles con IgG, transferrina y albúmina, que como se comentó renglones atrás, son las principales proteínas que al pasar la barrera glomerular inducen lesiones y cambios tubulointersticiales.

El mecanismo a través del cual la presencia de estas proteínas produce el daño celular no se ha dilucidado del todo (79), una hipótesis establece que las células tubulares expuestas a la proteinuria liberan proteínas de matriz, citocinas y

quimioreactantes (71, 75). Estas sustancias vasoactivas e inflamatorias formadas en cantidades excesivas son liberadas principalmente en el compartimiento basolateral, y favorecen el reclutamiento y activación de células inflamatorias en el intersticio renal (71). Entre los principales mediadores inflamatorios producidos por las células tubulointersticiales se encuentran el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la interleucina 1 (IL-1), la proteína-1 quimioreactante de los monocitos, la IL-8, el factor plaquetario de crecimiento, la endotelina-1 y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG) (69, 74-80). En este contexto, dado que la pentoxifilina disminuye la producción de citocinas proinflamatorias, atenúa el proceso inflamatorio intersticial y la infiltración celular (69, 70, 81-83), y suprime la proliferación de células mesangiales glomerulares y de fibroblastos intersticiales (83), su efecto renoprotector pudiera estar vinculado a su efecto antiinflamatorio y a la disminución de la proliferación celular mesangial en el glomerulo (83).

Los hallazgos relacionados a la modificación del patrón de excreción de proteínas urinarias secundarios al tratamiento con 400 mg tres veces al día de pentoxifilina vía oral que se documentan en este estudio, constituyen una evidencia indirecta del efecto benéfico de la pentoxifilina a nivel túbulointersticial. Es así, que después de 4 meses de tratamiento, los pacientes que recibieron pentoxifilina disminuyeron en forma significativa la excreción urinaria de proteínas de bajo peso molecular, que constituyen precisamente el patrón de excreción tubular. Teniendo en cuenta que en estos pacientes se documentó también una disminución importante en la excreción de proteínas de

elevado peso molecular (patrón glomerular), se pudieran plantear las siguientes hipótesis sobre el mecanismo a través del cual la pentoxifilina disminuye la tasa de excreción urinaria de proteínas: 1) la pentoxifilina modifica la presión del filtrado glomerular (a través de sus efectos reológicos, que adicionalmente disminuyen la liberación del óxido nítrico (65,66)) y disminuye la proliferación celular mesangial en el glomérulo (a través de la regulación de la expresión del gen que codifica la señal para la síntesis de factores de crecimiento tisular (83)), eventos que reducen el paso de proteínas de elevado peso molecular a través de la barrera glomerular, disminuyendo a su vez la concentración y tipo de proteínas de elevado peso molecular presentes a nivel tubulointersticial, lo que se traduce en la reducción del proceso inflamatorio túbulointersticial desencadenado por el proceso tóxico de la proteinuria a ese nivel; 2) la pentoxifilina disminuye el proceso inflamatorio túbulointersticial (a través de la reducción de factores proinflamatorios, principalmente TNF- $\alpha$ , a nivel de las células tubulares de la nefrona (83)) atenuando la infiltración de células inflamatorias y disminuyendo la filtración de proteínas en el glomérulo. 3) El efecto renoprotector de la pentoxifilina se ejerce a través de la presencia de ambos mecanismos. Al respecto, los hallazgos de nuestro estudio orientan hacia esta última posibilidad, abriendo nuevas líneas de investigación en este campo.

Además de IgG, Albúmina y transferrina, se identificó en la orina de los pacientes con diabetes la presencia de proteína de peso molecular compatible con otras proteínas tales como la ceruloplasmina,  $\alpha$ -1 antitripsina,  $\alpha$ -1

glucoproteína ácida, inhibidor de la colagenasa,  $\alpha$ -1 microglobulina, inhibidor de tripsina, lisosima, y  $\beta$ -2 microglobulina, mismas que disminuyeron o desaparecieron al final del periodo de intervención con pentoxifilina. Se ha descrito que las proteínas de peso molecular entre 30 y 100 Kdal presentes en la luz de los túmulos de la nefrona, pudieran ser los responsables del efecto citotóxico y proinflamatorio que se ha documentado a ese nivel de la nefrona (77). Sin embargo, no hay estudios previos que reporten cuales proteínas (además de la IgG, albúmina y transferrina) están involucradas en el proceso inflamatorio túbulointersticial que se describe. De igual manera, no hay reportes previos acerca de cuales proteínas son las que se pierden por la orina del paciente con diabetes. La mayoría de los estudios se enfocan hacia el papel de la albúmina, de manera que este es el primer reporte sobre el patrón de excreción urinaria de proteínas en la nefropatía diabética, destacando la importancia del número de proteínas excretadas, la mayoría de las cuales son proteínas de fase aguda. Será necesario conducir estudios específicos orientados a la identificación precisa del tipo de proteínas y a su probable repercusión clínica en el paciente con diabetes.

## CAPITULO 7

### CONCLUSIÓN

Este estudio aporta evidencias sobre el efecto benéfico de la pentoxifilina, 400 mg tres veces al día por vía oral, en la disminución de la tasa de excreción urinaria de proteínas en pacientes con nefropatía diabética.

De igual manera, los resultados de este ensayo clínico aportan evidencia del patrón mixto (glomerular y tubular) que tienen las proteínas excretadas por orina en los pacientes con diabetes, acerca del cual no existen reportes previos. Al respecto, destaca la presencia de proteínas de elevado peso molecular (IgG, albúmina y transferrina) que ejercen un efecto tóxico a nivel tubular, y de bajo peso molecular (tales como  $\alpha$ -1 antitripsina,  $\alpha$ -1 glucoproteína ácida, inhibidor de la colagenasa,  $\alpha$ -1 microglobulina, inhibidor de tripsina, lisosima, y  $\beta$ -2 microglobulina) entre las que se cuentan proteínas de fase aguda vinculadas al proceso inflamatorio descrito en la fisiopatogenia de la nefropatía diabética.

Finalmente, este estudio aporta evidencia acerca de que la pentoxifilina, 400 mg tres veces al día por vía oral, reduce la excreción de proteínas de elevado peso molecular (patrón glomerular) y fundamentalmente de las proteínas de bajo peso molecular (patrón tubular), de lo cual tampoco existen reportes previos en la literatura.

Este último hallazgo aporta sustento indirecto a la hipótesis de que la reducción de la proteinuria relacionada al tratamiento con pentoxifilina se ejerce a través de un mecanismo múltiple en el que participan los efectos antiinflamatorios, en

la reducción de la síntesis de células mesangiales y fibrosis, así como los efectos reológicos y en la disminución de la liberación de óxido nítrico, lo que abre nuevas líneas de investigación en el área.



## CAPITULO 8

### BIBLIOGRAFIA

1. **Selby JV, Stacey CF, Newman JM, Katz PP, Sepe S, Showstack J.** *The natural History and epidemiology of diabetic Nephropaty.* JAMA 1990; 263:1954-60.
2. **Humphrey LL, Ballard DJ, Frohnert PP, Chu PC, O'Fallon M, Palumbo PJ.** Chronic renal failure in Non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Int Med* 1989; 111:788-96.
3. **Alluru SR, Camerini-Davalos RA.** Diabetic nephropaty. An Update *Arch Int Med* 1990; 150:31-43.
4. **Klein R, Klein BEK, Moss SE.** The incidence of gross proteinuria in people with insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Int Med* 1991; 151:1344-48.
5. **Aguilar Salinas CA, Vázquez Chávez C, Rull JA, Zúñiga Guajardo S, Rosas Guzmán J, García E, Salinas O S, Palacios B A, Herrera MA, Ariza R, González C, Altamirano E, Frati A, Ricalde A, Inda P, Caraveo V, Milke P.** Consenso para la prevención de las complicaciones crónicas de la diabetes tipo 2. *Rev Invest Clin* 2000; 52 (3): 325-363.
6. **Mogensen CE.** *Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes.* *N Engl J Med* 1984; 310:356-60.
7. **Paisey RB; Arredondo LN, Villalobos LN, Lozano O, Guevara L, Kelly BA.** Association of differing dietary, metabolic and clinical risk factors with

macrovascular complications of diabetes: A prevalence study of 503 mexican type II diabetic subjects. *J Diabetes Care* 1991; 14:355-58.

8. **Mogensen CE, Christensen GK.** Predicting diabetic nephropaty in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311:89-93.
9. **Mogensen CE.** Prediction of clinical diabetic nephropaty in IDDM patients. *Diabetes* 1990; 39:761-67.
10. **Microalbuminuria Collaborative Study Group.** Microalbuminuria in type I diabetic patients. *Diabetes Care* 1992; 15:495-500.
11. **Malacara JM, Dávalos LE, Cervantes F, Castillo J, Velazco E.** Los factores de riesgo de las complicaciones de la diabetes mellitus. *Rev Invest Clin* 1991; 43:3-9.
12. **Viberti GC, Hill RD, Jarret RJ, Argyropoulus A, Mahumud Y, Keen H.** Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropaty in insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982; 1:1430-32
13. **Friedman R, Gross JL.** Evolution of glomerular filtration rate in proteinuric NIDDM patients. *Diabetes Care* 1991; 14:355-58.
14. **Rettig B, Tentsch SM.** The incidence of end-stage renal disease in type I and type II diabetes mellitus. *Diabetic Nephropaty* 1984; 3:26-7
15. **Damsgaard EM, Froland A, Mogenesen CE.** Microalbuminuria is a strong predictor of 6-year mortality of elderly type 2 (Non-Insulin-Dependent) diabetic patients and Non-diabetic subjects. A prospective study. *Diabetologia* 1988; 31:483-84.

16. **Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A.** Albuminuria reflects widespread vascular damage. *The Steno-hipotesis. Diabetologia* 1989; 32:219-226.
17. **Abuelo JG.** Proteinuria: Diagnostic principles and procedures. *An Int Med* 1983; 98:186-191.
18. **Davis Conference.** Diabetic nephropaty: Hemodynamic basis and implications for disease management. *Ann Int Med* 1989; 110:795-813.
19. **Warram JH, Laffel LMB, Valsania P, Chistlieb R, Krolewski AS.** Excess mortality associated with diuretic therapy in diabetes mellitus. *Arch Int Med* 1991; 151:1350-56.
20. **Norman M Kaplan.** Two dilemmas of diabetes. *Edit. Arch Int Med* 1991; 151:1270-72.
21. **Osterby R, Parving HH, Hommel E, Jorgensen HE, Lohegaard H.** Glomerular structure and function in diabetic nephropaty. *Diabetes* 1990; 39:1057-63.
22. **Stewart GM, Munier W B, Amorosino C S.** Anionic sites and the mechanisms of pteinuria. *N Engl J Med* 1983; 309:1050-51.
23. **Simpson LO.** Abnormal blood rheology and diabetic nephropaty. *Diabetologia* 1989; 32:766-67.
24. **Barnes AJ.** Is hiperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease? *The Lancet* 1977; 15:789-91.

25. **Domingo MA, Harold RD.** Pharmacology of pentoxifilline a hemorheologic agent for the treatment of intermittent claudication. *Angiology* 1984; 407-17.
26. **Ambrus CM, Ambrus JL, Gastpar H, Sharma SD, Suh OW, Moore RH, Williams P.** The role of fibrinolysis in the therapy of peripheral vascular disease. *Angiology* 1984; 435-42
27. **Reiner H S.** Antithrombotic potential of pentoxifilline a hemorheologically active drug. *Angiology* 1985:387-98.
28. **Mueller R.** On the therapy of disturbances of blood fluidity. *Angiology* 1985, 226-34.
29. **Resck KL, Ernst E, Matrai A, Buhl M, Schlosser P, Paulsen HFI.** Can rheology variables be of prognostic relevance in arteriosclerotic disease? *Angiology* 1991:963-69.
30. **Di Perri T, Carandente O, Vittoria A, Guerrini M, Messa GL.** Studies of the clinical pharmacology and therapeutic efficacy of pentoxifylline in peripheral obstructive arterial disease. *Angiology* 1984:427-35.
31. **Kwong EC, Chen FC, Young LM.** Urinary excretion of pentoxifylline and its metabolites by standardbred mares. *Can-J-Vet-Res* 1989, 53:147-41.
32. **Fisher BM, Rumley A, Lennie SE, Small M, MacCuish AC, Lowe GD.** Effects of acute insulin-induced hypoglycaemia on haemostasis, fibrinolysis and haemorheology in insulin-dependent diabetic patients and control. *Clin Sci* 1991; 80:523-31.
33. **Ambrus JL, Anain JM, Anain SM, Anain MP, Anain JM, Stadler S, Mitchel P, Brobst JA, Cobert B, Savitsky P.** Dose response effects of

pentoxifylline on erythrocyte filterability: Clinical and animal model studies. Clin Pharmacol Ther 1990;48:50-56.

34. **Ambrus JL, Ambreu CM, Taheri SA, Gastpar H, Reddington MM, Thaeri P, Kahn EA, Schattman GL, Dean LS, Moore RH.** Red cell filterability and platelet aggregation in patients with chronic obstructive vascular disease and study of therapeutic approaches. Angiology 1984:418-26.
35. **Angelkort B, Spurk P, Habbaba A, Mahder M.** Blood flow properties and walking performance in chronic arterial occlusive disease. Angiology 1985:285-92.
36. **Simpson LO.** Blood Rheology and diabetic nephropathy. Diabetologia 1990; 33:576-77.
37. **Ambrus JL, Stadler S, Bannerman R.** Effect of pentoxifylline on carbohydrate metabolism in type II diabetics. Arch Int Med 1990; 150:921.
38. **Strano A, Davi G, Avellone G, Novo S, Pinto A.** Double-blind, crossover study of the clinical efficacy and the hemorheological effects of pentoxifylline in patients with occlusive arterial disease of the lower limbs. Angiology 1984:459-65.
39. **The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 21 (Suppl. 1): S5-S19, 1998.

40. **Hussey DH, Friedland JL.** Second report of a Pilot Study of Pentoxifylline in the Treatment of Late-radiation Necrosis. En Mandell GL & Novick WJ, editores. Pentoxifylline, Leukocytes and Cytokines. Scottsdale Arizona, USA, 1991:24-33.
41. **Persson SU, Gustavson CG, Larsson H, Persson S.** Studies on blood rheology in patients with primary pulmonary hypertension. *Angiology* 1991;83:6-42.
42. **Rames A, Poirier JM, LeCoz F, Midavaine M, Lecocq B, Grange JD, Poupon R, Cheymol G, Jaillon P.** Pharmacokinetics of intravenous and oral pentoxifylline in healthy volunteers and in cirrhotic patients. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 47:354-58.
43. **White JR, Karam JH, Koda-Kimble MA.** Effects of pentoxifylline on proteinuria in normotensive patients with diabetes melitus. *DIAP* 1990; 24:1043-5.
44. **Solerte SB, Ferrari B.** Diabetic Retinal vascular complications and erythrocyte filterability results of a 2-year follow-up study with pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 1985; 4:34-50.
45. **Guerrero-Romero F, Rodríguez-Morán M, Paniagua-Sierra JR, García-Bulnes G, Salas-Ramírez M, Amato D.** Pentoxifylline reduces proteinuria in insulin-dependent and non insulin-dependent diabetic patients. *Clinical Nephrology* 1995; 43:116-121.
46. **Frampton JE, Brogden RN.** Pentoxifylline. *Drugs & Aging.* 1995; 7:480-503.
47. **Zimmermann J, Schramm L, Wanner C.** Pentoxifylline in the treatment of diabetic nephropathy. *Clinical Nephrology* 1996; 46:230-236.

48. **Gorson DM.** Reduction of macroalbuminuria with pentoxifylline in diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1998; 21:2190-2191.
49. **Breyer JA.** Therapeutic interventions for nephropathy in type I diabetes mellitus. *Seminars in Nephrology* 1997; 17:114-123.
50. **Navarro JF, Mora, Rivero A, Gallego E, Chahin J, Macia M, Méndez ML, García J.** Urinary protein excretion and serum tumor necrosis factor in diabetic patients with advanced renal failure: effects of pentoxifylline administration. *Am J Kidney Dis* 1999; 33:458-463.
51. **Navarro JF, Mora C.** Antiproteinuric effect of pentoxifylline in patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1999; 22:1006-1007.
52. **Linde T, Sandhagen B, Backman U, et al.** Altered flow properties of blood and increased plasma fibrinogen in cyclosporin-treated renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transpl* 1999; 14:1525-1529.
53. **Mora C, García J, Navarro JF.** Nephropathy in Type 2 diabetes. *New Eng J Med* 2000; 342:251.
54. **Mejia-Aranguré JM, Fajardo-Gutiérrez A, Gómez-Delgado A, Cuevas-Urióstegui ML, Hernández-Hernández DL, Garduño-Espinosa J, Navarrete-Navarro S, Velásquez-Pérez L, Martínez-García MC.** El tamaño de muestra: un enfoque práctico en la investigación clínica pediátrica. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1995; 52 (6): 381-391.
55. **Irvine AA, Saunders JT, Blank MB, Carter WR.** Validation of scale measuring environmental barriers to diabetes –regimen adherence. *Diabetes Care* 1990; 13(7):705-711.

56. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature* 1970; 227:680-685.
57. Bouliskas WT, Wray VP, Hancock R. Silver staining of proteins in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem* 1981; 118:680-685.
58. Solerte SB, Fioravanti M, Bozzeti A, Schifino N, Patti AL, Fedele P, Viola C, Ferrari E. Pentoxifylline, albumin excretion rate and proteinuria in Type I and Type II diabetic patients with microproteinuria. Results of a short-term randomized study. *Acta Diabetol Lat* 1986; 23: 171-177
59. Chugh KS, Kumar R, Sakhuja V, Pereira BJ, Gupta A. Nephropathy in type 2 diabetes mellitus in third world countries. Chandigarh study. *Int J Artif Organs* 1989 12: 299-302.
60. Yagmurlu A, Boleken ME, Ertoy D, Ozsan M, Gokcora IH, Dindar H. Preventive effect of pentoxifylline on renal scarring in rat model pyelonephritis. *Urology* 2003; 61: 1037-1041.
61. Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, Mitin-Zlatkovic M, Avramovic V, Stefanovic V. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathol Biol* 2002; 50: 599-607.
62. Biolo G, Ciocchi B, Bosutti A, Situlin R, Toigo G, Guarnieri G. Pentoxifylline acutely reduces protein catabolism in chronically uremia patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 1162-1172.
63. Kim YK, Yoo JH, Woo JS, Jung JS, Kim BS, Kim SY. Effect of pentoxifylline on ischemic acute renal failure in rabbits. *Ren Fail* 2001; 23: 757-772.



- 64. Navarro JF, Mora C, Rivero A, Gallego E, Chahin J, Macia M, Mendez ML, García J.** Urinary protein excretion and serum tumor necrosis in diabetic patients with advanced renal failure: effects of pentoxifylline administration. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 458-463.
- 65. Albornoz LE, Sanchez SB, Bandi JC, Canteros G, de las Heras M, Mastai RC.** Pentoxifylline reduces nephrotoxicity associated with cyclosporine in the rat by its rheological properties. *Transplantation* 1997; 27: 1404-1407.
- 66. Vadie K, Tucker SD, Lopez-Berestein G, Wasan KM.** Nephroprotective mechanism (s) of pentoxifylline: reduction of erythrocyte-mediated vascular congestion and inhibition of nitric oxide release. *Pharmacol Toxicol* 1996, 78: 174-180.
- 67. Harmankaya O, Seber S, Yilmaz M.** Combination of pentoxifylline with angiotensin converting enzyme inhibitors produces an additional reduction in microalbuminuria in hypertensive type 2 diabetic patients. *Ren Fail* 2003, 25: 465-470.
- 68. Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F.** Pentoxifylline is as effective as captopril in the reduction of microalbuminuria in non-hypertensive type 2 diabetic patients. A randomized equivalent trial. *Clin Nephrol* 2004; in Press.
- 69. Mora C, Macía M, Navarro JF.** Renal failure, anaemia, cytokines and inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1524-1525.
- 70. Báranay P.** Inflammation, C-reactive protein, and erythropoietin resistance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 224-271

- 71. Zoja C, Benigni A, Remuzzi G.** Protein overload activates proximal tubular cells to release vasoactive and inflammatory mediators. *Exp Nephrol* 1999; 7: 420-428.
- 72. Tang S, Lai KN, Sacks SH.** Role of complement in tubulointerstitial injury from proteinuria. *Kidney Blood Press* 2002; 25: 120-126.
- 73. Burton CJ, Bevington A, Harris KP, Walls J.** Growth of proximal tubular cells in the presence of albumin and proteinuric urine. *Exp Nephrol* 1994; 2: 345-350.
- 74. Zoja C, Morigi M, Figliuzzi M, Bruzzi I, Oldroyd S, Benigni A, Ronco P, Remuzzi G.** Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins. *Am J Kidney Dis*.
- 75. Burton ChJ, Combe Ch, Walls J, Harris KPG.** Secretion of chemokines and cytokines by human tubular epithelial cells in response to proteins. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2628-2633.
- 76. Crisman JM, Ricardo SD, Diamond JR.** Chemokines and renal inflammation in proteinuric disorders: Searching for the inciting stimulus. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 13-14.
- 77. Tang S, Lai KN, Chan TM, Lan HY, Ho SK, Sacks SH.** Transferrin but not albumin mediates stimulation of complement C3 biosynthesis in human proximal tubular epithelial cells. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 94-103.
- 78. Tang S, Leung JC, Tsang AW, Lan HY, Chan TM, Lai KN.** Transferrin up-regulates chemokine synthesis by human proximal tubular epithelial

cells: implication on mechanism of tubuloglomerular communication in glomerulopathic proteinuria. *Kidney Int* 2002; 61: 1655-1665.

- 79. Tang S, Leung JCK, Abe K, Chan KW, Chan LYY, Chan TM, Lai KN.** Albumin stimulates interleukin-8 expression in proximal tubular epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. *J Clin Invest* 2003; 111: 515-527.
- 80. Furucichi K, Wada T, Yokoyama H, Kobayashi KI.** Role of cytokines and chemokines in renal ischemia-reperfusion injury. *Drug News Perspect* 2002; 15: 477-482.
- 81. Daha MR, van Kooten C.** Is the proximal tubular cell a proinflammatory cell?. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 41-43.
- 82. Chen L, Wang Y, Tay YC, Harris DC.** Proteinuria and tubulointerstitial injury. *Kidney Int* 1997 (Suppl); 61: S60-S62.
- 83. Lin SL, Chen YM, Chien CT, Chiang WCh, Tsai ChCH, Tsai TJ.** Pentoxifylline attenuated the renal disease progression in rats with remnant kidney. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2916-2929.

## ANEXOS

## ANEXO No. 1

*Carta de Consentimiento informado para participar en el estudio.*

### **EFFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRON DE EXCRECION URINARIA DE PROTEINAS EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y MICROPROTEINURIA.**

Durango, Dgo. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de Investigación titulado: "**Efecto de la pentoxifilina en el patrón de excreción urinaria de proteínas en pacientes con diabetes tipo 2 y microproteinuria**", registrado ante la Comisión Nacional de Investigación Científica y de Ética del Instituto Mexicano del Seguro Social con Numero de Registro 99-161-0030

El objetivo de este estudio es: Determinar el efecto de la pentoxifilina en el patrón de excreción urinaria de proteínas.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Recibir por vía oral 400 mg de pentoxifilina (o placebo) tres veces al día y de colaborar en la colección de orina de 24 horas y acudir mensualmente a la Unidad de Investigación Medica de Instituto Mexicano del Seguro Social.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:

Beneficios: Disminuir la eliminación de proteínas por la orina, y en esa medida, intentar retardar la aparición de daño renal, lo que podrá mejorar la calidad y tiempo de mi vida.

Riesgos: Ocasionalmente la Pentoxifilina da origen a dolor de cabeza, nausea o vomito. Muy ocasionalmente origina palpitaciones y comezón y muy rara vez puede originar hemorragia y trastornos de la función del hígado.

El investigador principal (Dra. Martha Rodríguez Morán) se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevaran a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque ésta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma Investigador Responsable

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

Teléfono 8 12 09 97

Teléfono Celular 044 618 110 78 60

**ANEXO No. 2**  
**HISTORIA CLINICA DIRIGIDA**

Nombre del Paciente \_\_\_\_\_

Apellido paterno      Apellido Materno      Nombre(s)

No. de Afiliación \_\_\_\_\_

Edad\_      Género\_\_\_\_\_

Antecedente familiar de enfermedades renales      \_\_\_

Tiempo de Evolución de la Diabetes      \_\_\_\_\_

Ant. Familiar de HAS o Nefropatía\_\_\_\_\_

Tratamiento actual de la diabetes\_\_\_\_\_

Otros Medicamentos habituales\_\_\_\_\_

Complicaciones de la Diabetes\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

T/A\_\_\_\_\_ Peso\_\_\_\_\_ Talla\_\_\_\_\_ IMC\_\_\_\_\_ Tabaquismo\_\_\_\_\_

Ejercicio habitual, especifique \_\_\_\_\_

Sintomas y Signos Relevantes \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Infección Urinaria\_\_\_\_\_ Urocultivo con\_\_\_\_\_

Resultados de laboratorio y Gabinete de.

Glucemia \_\_\_\_\_ Urea \_\_\_\_\_ Creatinina \_\_\_\_\_ BUN \_\_\_\_\_

Colesterol \_\_\_\_\_ Triglicéridos \_\_\_\_\_

Proteinuria \_\_\_\_\_

Hemoglobina Glucosilada \_\_\_\_\_

ECG \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Otras Observaciones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Grupo asignado: \_\_\_\_\_

Microproteinuria de 24 hrs. \_\_\_\_\_

Médico Familiar Tratante \_\_\_\_\_

Consultorio \_\_\_\_\_ Turno \_\_\_\_\_

UMF \_\_\_\_\_



**ANEXO No.3**

**HOJA DE CONTROL DE VISITA MENSUAL**

Nombre del (la) Paciente \_\_\_\_\_

Apellido Paterno      Apellido Materno      Nombre(s)

Afiliación No. \_\_\_\_\_

**Sintomas y Signos Relevantes**

1er mes \_\_\_\_\_

2do mes \_\_\_\_\_

3er mes \_\_\_\_\_

4to mes \_\_\_\_\_

**Control de Laboratorio**

Glucemia      Colesterol      Triglicéridos

1er mes \_\_\_\_\_

2do mes \_\_\_\_\_

3er mes \_\_\_\_\_

4to mes \_\_\_\_\_

**Microproteinuria ( $\mu\text{g}/\text{min}$ )**

1er mes \_\_\_\_\_

2do mes \_\_\_\_\_

3er mes \_\_\_\_\_

4to mes \_\_\_\_\_

Patrón de excreción de proteínas (KDa)

1er mes \_\_\_\_\_

2do mes \_\_\_\_\_

3r mes \_\_\_\_\_

4to mes \_\_\_\_\_

*Toma su medicamento según indicación*

1er mes \_\_\_\_\_

2do mes \_\_\_\_\_

3r mes \_\_\_\_\_

4to mes \_\_\_\_\_

Enzimas Pancreáticas.

	TGO	TGP	F. Alcalina	DHL
1er mes	_____	_____	_____	_____
4to mes	_____	_____	_____	_____

Tabla 1 Características demográficas en condiciones basales.

	Grupo A n = 20	Grupo B n = 20	p
Mujeres/Hombres (n)	10/10	14/6	0.312
T de evol DM (años)	9.4 ± 7.5	8.07 ± 4.7	0.511
Edad (años)	57.9 ± 11.9	53.42 ± 12	0.246
Sistólica (mmHg)	129.4 ± 12.6	128 ± 10.2	0.697
Diastólica (mmHg)	76.3 ± 10.9	80 ± 7.0	0.184
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27.4 ± 3.5	27.58 ± 5.3	0.913
ICC	1.0 ± 0.2	0.94 ± 0.45	0.058

Grupo A sujetos en el grupo de tratamiento con pentoxifilina 400 mg c/8 h

Grupo B sujetos en el grupo control con placebo inerte c/8 h.

Los valores expresan Media ± Desviación Estándar

**Tabla 2** Resultados de laboratorio en condiciones básales.

	Grupo A n = 20	Grupo B n = 20	p
Glucosa (mg/dl)	149.4 ± 24.3	155 ± 23.9	0.631
Hb1Ac (%)	7.3 ± 0.7	7.5 ± 0.3	0.577
Urea (mg/dl)	34.4 ± 7.6	34.58 ± 6.8	0.927
Creatinina (mg/dl)	1.0 ± 0.2	0.82 ± 0.2	0.026
Proteinuria (µg/min)	67.7 ± 41.4	69.8 ± 40.6	0.827
Colesterol-T (mg/dl)	257.6 ± 68.3	261 ± 59.9	0.868
HDL-C (mg/dl)	38.3 ± 22.5	43.16 ± 32.4	0.588
LDL-C (mg/dl)	183 ± 54	170.48 ± 47.6	0.446
Triglicéridos (mg/dl)	178.2 ± 104	237 ± 133.8	0.137
Albúmina Sérica (g/L)	5.30 ± 0.36	4.85 ± 0.4	0.03

Grupo A sujetos en el grupo de tratamiento con pentoxifilina 400 mg c/8 h

Grupo B sujetos en el grupo control con placebo inerte c/8 h

Los valores expresan Media ± Desviación Estándar

**Tabla 3 Resultados de Laboratorio después de 4 meses de tratamiento.**

	Grupo A n = 20	Grupo B n = 19	p
Glucosa (mg/dl)	145.4 ± 26.9	154 ± 26	0.281
Hb1Ac (%)	7.21 ± 0.44	7.15 ± 0.65	0.736
Urea (mg/dl)	32.4 ± 4.4	32.4 ± 7.3	0.33
Creatinina (mg/dl)	0.82 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.33
Proteinuria (µg/min)	20 ± 23.5	65.2 ± 38.1	0.04
Colesterol-T (mg/dl)	248 ± 52.2	224 ± 46	0.12
HDL-C (mg/dl)	41.1 ± 14.2	42.3 ± 17.7	0.81
LHL-C (mg/dl)	175.8 ± 48.4	149 ± 43	0.07
Triglicéridos (mg/dl)	158.7 ± 74	161 ± 101	0.92
Albumina Sérica (g/L)	4.7 ± 0.3	4.8 ± 0.3	0.14

Los valores expresan Media ± Desviación Estándar  
 Grupo A 400 mg de pentoxifilina c/8 hrs.  
 Grupo B o placebo inerte c/8 hrs.

Tabla 4 Variación mensual de valores de proteinuria.

Microproteinuria ( $\mu\text{g}/\text{min}$ )	Pentoxifilina*	Placebo	p
Basal	69.8 $\pm$ 40.6	67.7 $\pm$ 41.4	0.873
Primer mes	56.8 $\pm$ 54.2	69.7 $\pm$ 37.2	0.384
Segundo mes	29.3 $\pm$ 20.7	60.8 $\pm$ 37.4	0.002
Tercer mes	21.4 $\pm$ 17.2	68.5 $\pm$ 45.2	0.0001
Final	20.0 $\pm$ 23.5	65.2 $\pm$ 38.1	0.00008

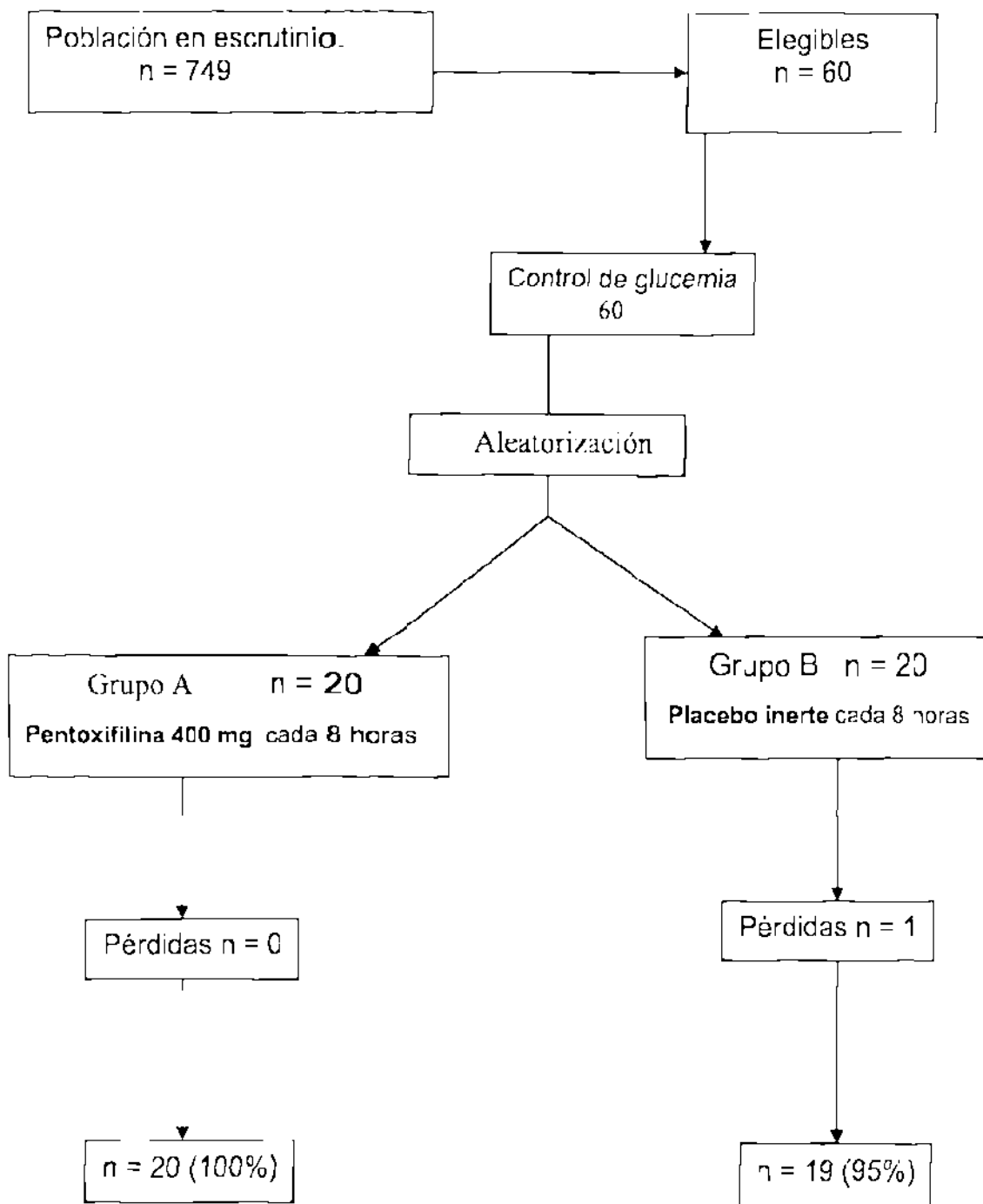
Los valores expresan Media  $\pm$  Desviación Estándar; \*400 mg c/8 hrs

Tabla 5 Resultados de laboratorio de pruebas de función renal.

<b>Grupo A</b>			
Proteinuria (µg/dl)	69.8 ± 40.6	20.0 ± 23.5	0.0001
Creatinina (mg/dl)	10.0 ± 0.2	0.82 ± 0.2	0.01
<b>Grupo B</b>			
Proteinuria µg/dl	67.7 ± 41.4	65.2 ± 38.1	0.22
Creatinina mg/dl	0.82 ± 0.2	0.90 ± 0.2	0.84

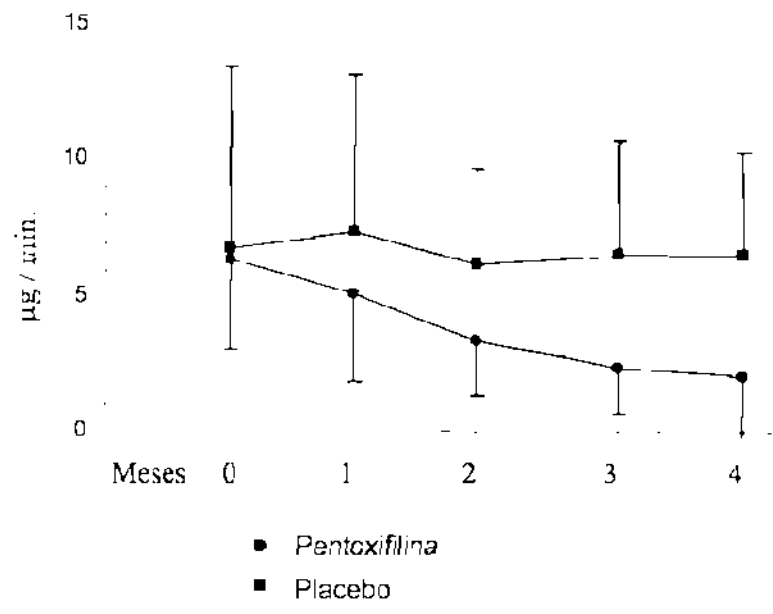
Los valores expresan Media ± Desviación Estándar  
 Grupo A 400 mg de pentoxifilina c/8 hrs.  
 Grupo B placebo inerte c/8 hrs.

**Figura 1**  
Diagrama de flujo.

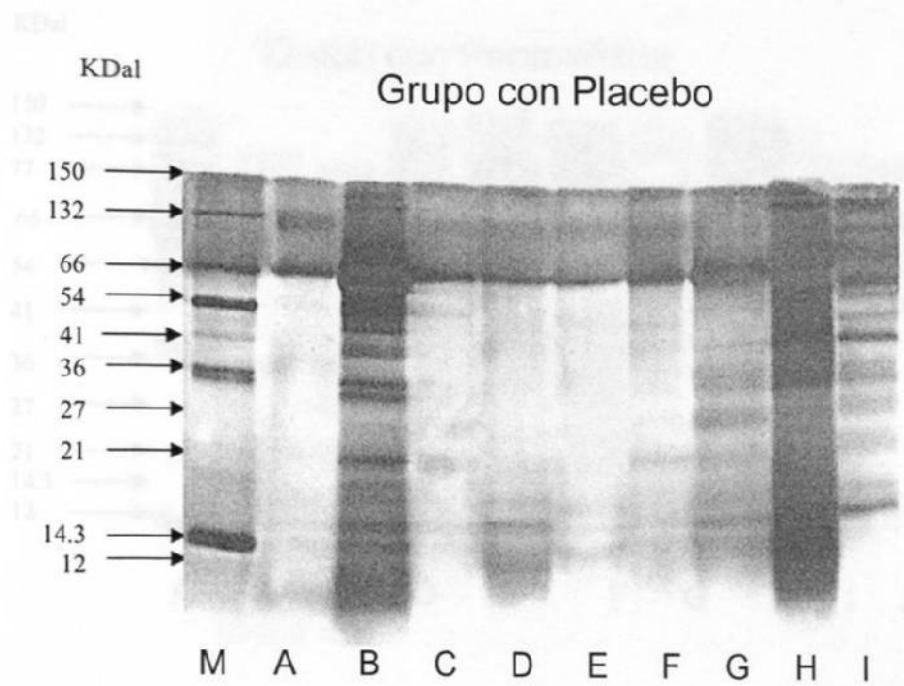




**Figura 2**  
Variación de los valores de proteinuria

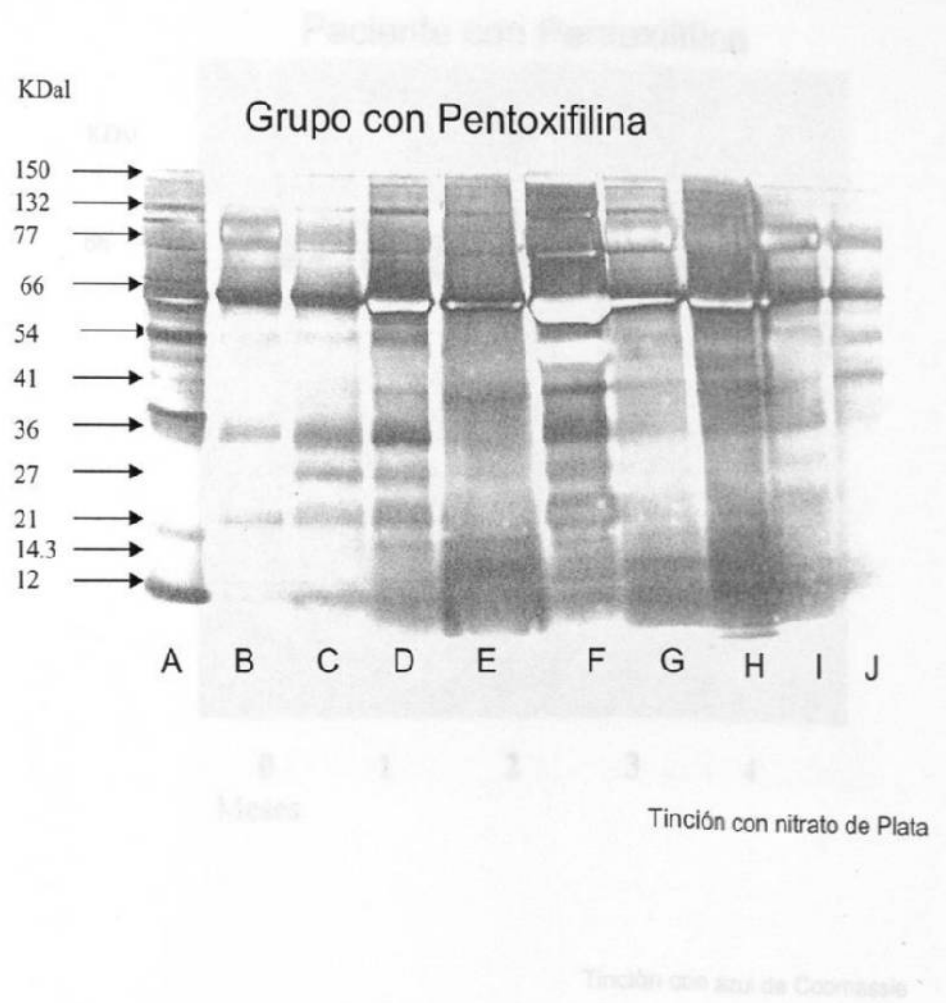


**Figura 3**  
Proteinuria en condiciones basales

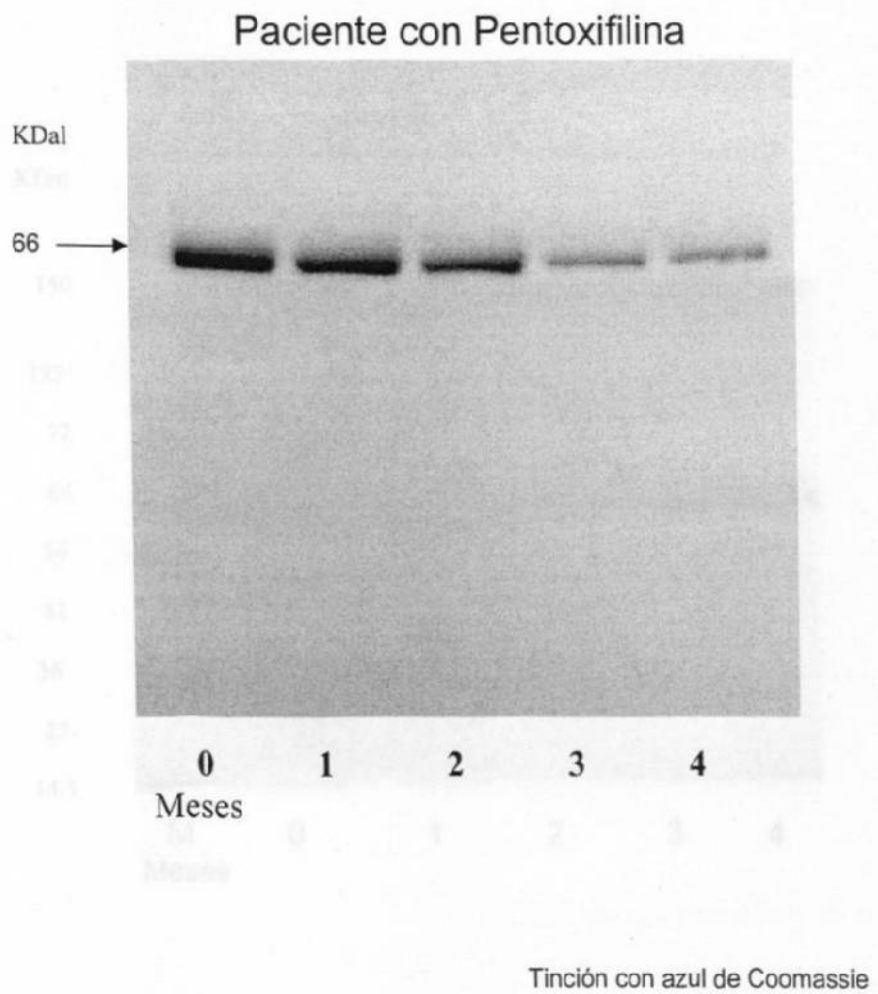


Tinción con nitrato de Plata

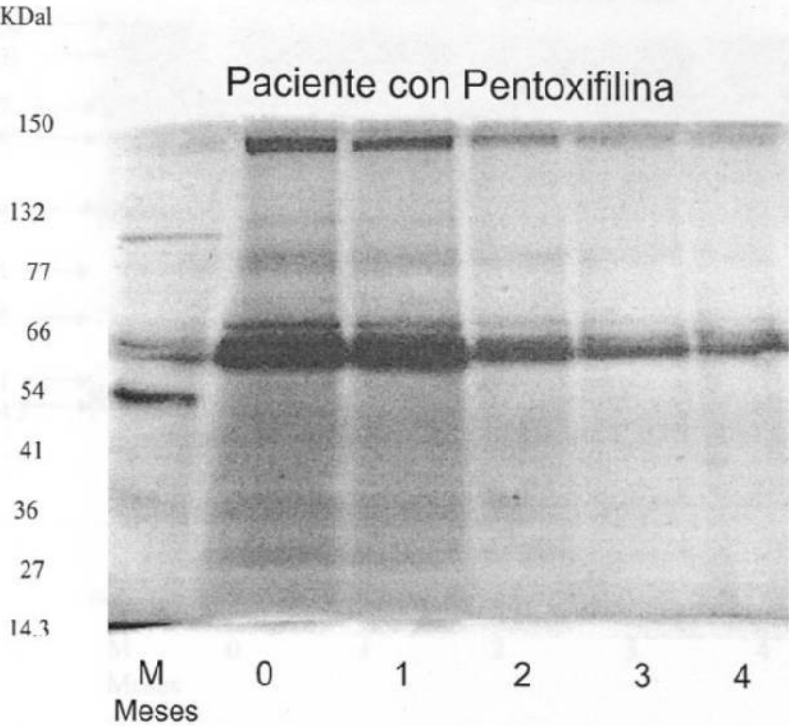
**Figura 4**  
Proteinuria en condiciones basales



**Figura 5**  
Progresión de microproteinuria

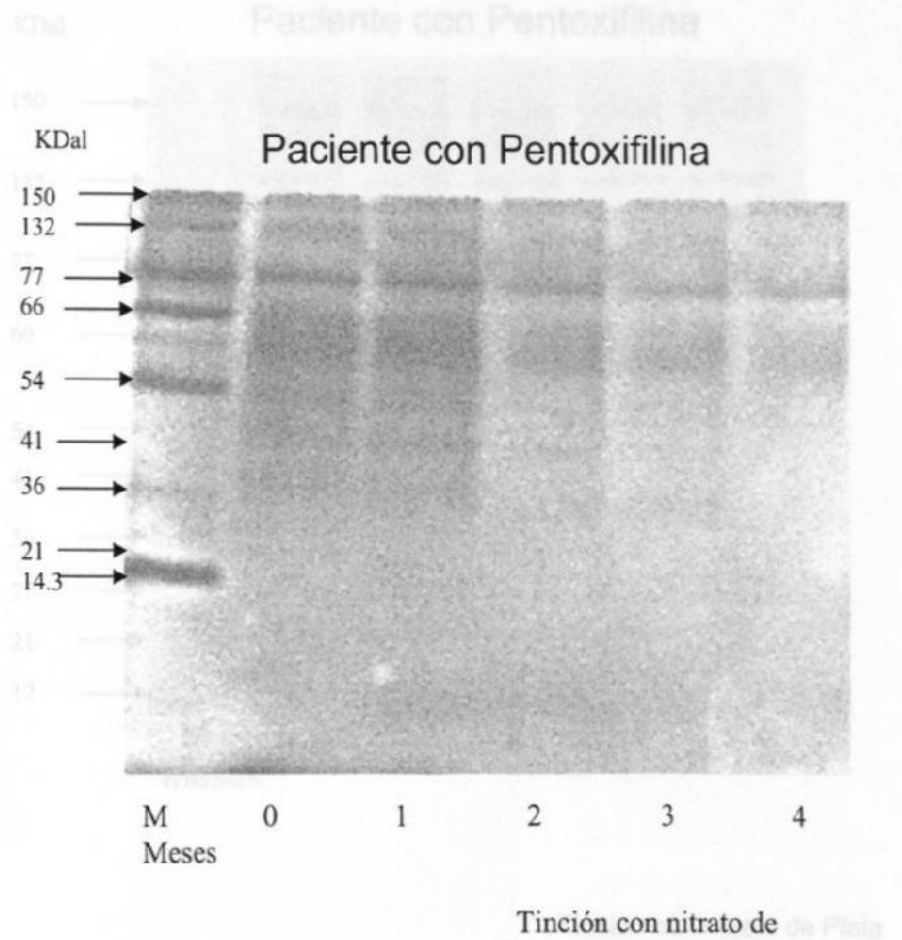


**Figura 6**  
Progresión de microproteinuria

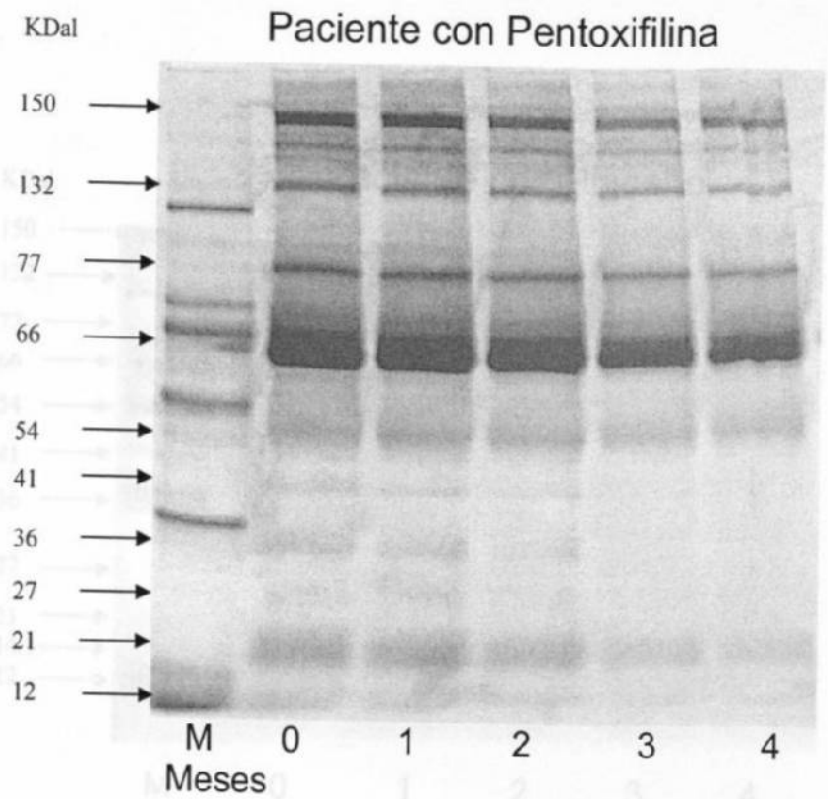


Tinción con nitrato de Plata

Figura 7  
Progresión de microproteinuria

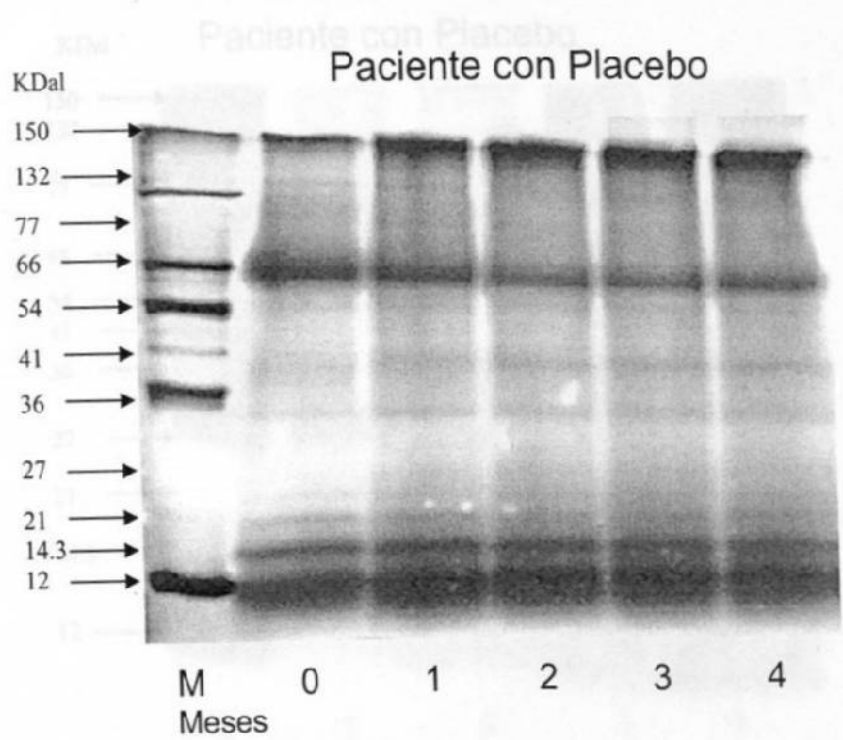


**Figura 8**  
Progresión de microproteinuria



Tinción con nitrato de Plata  
Tinción con nitrato de plata

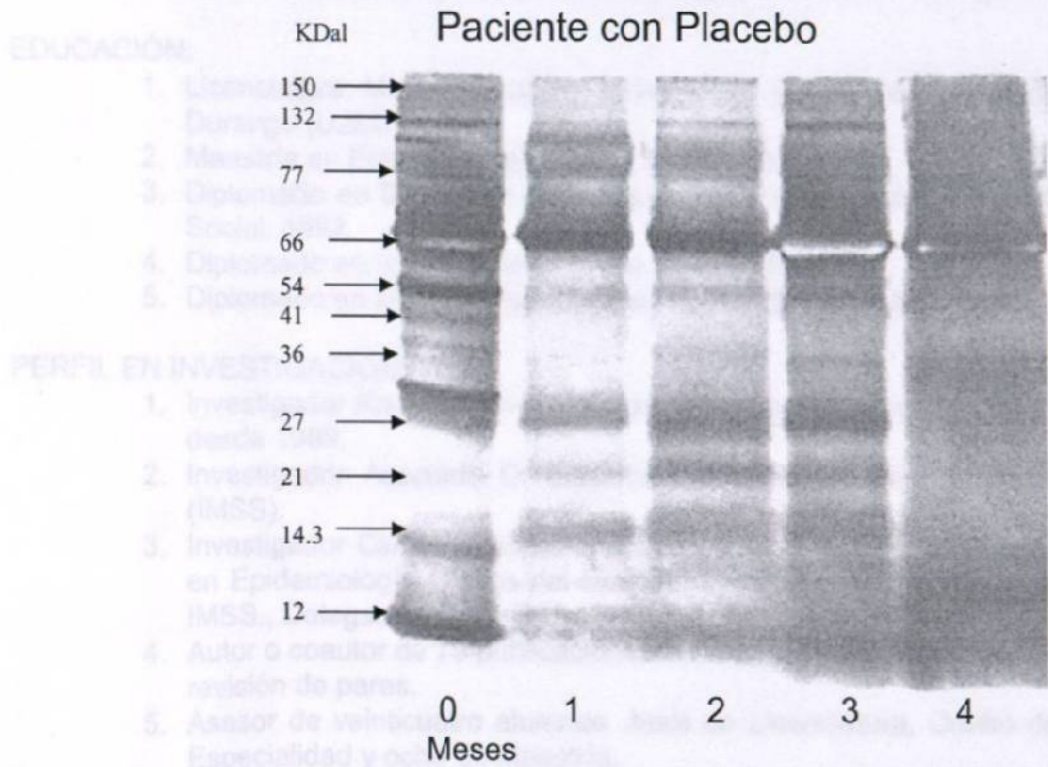
**Figura 9**  
Progresión de microproteinuria



Tinción con nitrato de plata



**Figura 10**  
**Progresión de microproteinuria**



Tinción con nitrato de plata

## **RESUMEN AUTOBIOGRAFICO.**

Martha Rodríguez Morán.

Candidato al Grado de:

Doctor en Medicina.

**Tesis: EFECTO DE LA PENTOXIFILINA EN EL PATRÓN DE EXCRECIÓN URINARIA DE PROTEÍNAS EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y MICROPROTEINURIA.**

Campo de estudio: Ciencias de la salud, Endocrinología.

### **EDUCACIÓN:**

1. Licenciatura: Médico Cirujano, Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), 1977.
2. Maestría en Epidemiología Clínica, UJED, 1998.
3. Diplomado en Desarrollo Directivo, Instituto Mexicano del Seguro Social, 1992.
4. Diplomado en Investigación Clínica, UJED, 1993.
5. Diplomado en Epidemiología y Sistemas de Salud, UJED 1994.

### **PERFIL EN INVESTIGACION:**

1. Investigador Nacional Nivel I, Sistema Nacional de Investigadores desde 1999.
2. Investigador Asociado D, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).
3. Investigador Clínico Adscrito a la Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica del Hospital General Regional No.1 del IMSS., Delegación Durango.
4. Autor o coautor de 75 publicaciones en revistas indexadas con revisión de pares.
5. Asesor de veinticuatro alumnos tesis de Licenciatura, Cuatro de Especialidad y ocho de Maestría.

### **RECONOCIMIENTOS:**

1. Revisor del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (CONACYT).
2. Miembro del Consejo Técnico Consultivo del Consejo de Ciencia Tecnología del Estado de Durango.
3. Member of the Research Board of Advisors, American Biographical Institute USA, 2000.
4. Revisor de:

Journal of Diabetes and its Complications  
Drugs & Aging  
Archives Medical Research

PREMIOS:

1. Primer lugar, Premio Nacional Gallenus Merck, Julio 1996
2. Primer lugar en investigación epidemiológica, XVI Congreso Nacional de Medicina Interna, 1993.
3. Primer lugar de investigación Médica, XIX Congreso Nacional de Medicina Interna, Noviembre 1996.
4. Primer lugar al mejor trabajo libre de investigación, XII Congreso Anual de la Federación Mexicana de Diabetes, Marzo 1999.
5. Primer lugar de investigación, XXII Congreso Nacional de Medicina Interna, Guadalajara, Jal., Noviembre 1999.
6. Primer Lugar de Investigación, II Competencia Internacional de Investigación en la Reunión Anual del American College of Physicians, Atlanta Georgia, Marzo 2001.
7. Primer lugar de investigación, II Reunión Estatal del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Noviembre 2001.
8. Primer lugar lugar de investigación Epidemiológica, III Competencia Internacional de Investigación en la Reunión Anual del American College of Physicians, *Philadelphia, Pennsylvania*, Abril 2002.
9. Primer lugar de investigación Clínica, III Competencia Internacional de Investigación en la Reunión Anual del American College of Physicians, *Philadelphia, Pennsylvania*. Abril 2002.
10. Primer lugar de investigación clínica, XXV Congreso Nacional de Medicina Interna, Noviembre 2002.
11. Premio al mejor trabajo de investigación, XV Congreso Nacional de la Federación Mexicana de Diabetes, Marzo 2003.
12. Premio en el XXVI Congreso Nacional de Medicina Interna, Noviembre 2003.

SOCIEDADES CIENTIFICAS:

1. Miembro de la Asociación Americana de Diabetes.
2. Miembro de la Asociación Europea para el estudio de Diabetes.
3. Miembro titular de la Federación Mexicana de Diabetes.
4. Miembro titular del Grupo Mexicano para el Estudio de Diabetes.
5. Miembro del grupo Multidisciplinario para el Estudio y prevención de la Diabetes del Instituto Mexicano del seguro Social.



