

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



**CCL18 Y SU IMPLICACIÓN EN ESCLEROSIS
PERITONEAL: VALIDACIÓN CLÍNICA DE UN
NUEVO MARCADOR DIAGNÓSTICO Y
PRONÓSTICO DE ALTERACIONES DE LA
FUNCIÓN PERITONEAL**

TESIS DOCTORAL

Marta Ossorio González

Madrid 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**CCL18 Y SU IMPLICACIÓN EN ESCLEROSIS PERITONEAL:
VALIDACIÓN CLÍNICA DE UN NUEVO MARCADOR
DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE ALTERACIONES DE LA
FUNCIÓN PERITONEAL**

Directores de Tesis:

Dr. Rafael Selgas Gutiérrez

Dra. María Auxiliadora Bajo Rubio

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad
Autónoma de Madrid

Marta Ossorio González

Madrid 2016

✚ Don Rafael Selgas Gutiérrez, Profesor Asociado de Ciencias de la Salud del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y Jefe del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICA

Que Doña Marta Ossorio González, licenciada en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid, ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado **“CCL18 Y SU IMPLICACIÓN EN ESCLEROSIS PERITONEAL: VALIDACIÓN CLÍNICA DE UN NUEVO MARCADOR DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN PERITONEAL”**, que presenta como Tesis Doctoral para alcanzar el grado de Doctor por la Universidad Autónoma de Madrid.

Y para que así conste, firma la presente en

Madrid a 29 de Septiembre de 2016

Rafael Selgas Gutiérrez

✚ Doña María Auxiliadora Bajo Rubio, Profesora Asociada de Ciencias de la Salud del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y Jefe de Sección de Nefrología del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICA

Que Doña Marta Ossorio González, licenciada en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid, ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado **“CCL18 Y SU IMPLICACIÓN EN ESCLEROSIS PERITONEAL: VALIDACIÓN CLÍNICA DE UN NUEVO MARCADOR DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN PERITONEAL”**, que presenta como Tesis Doctoral para alcanzar el grado de Doctor por la Universidad Autónoma de Madrid.

Y para que así conste, firma la presente en

Madrid a 29 de Septiembre de 2016

María Auxiliadora Bajo Rubio

A mis Pequeños, mi luz de cada día.

Agradecimientos

A mis directores de tesis en primer lugar, los doctores Rafael Selgas y María Auxiliadora Bajo, por hacer posible esta tesis, por su entusiasmo y búsqueda constante de lo mejor para los pacientes, por su apoyo y ayuda, por la generosidad de sus conocimientos y de su gran experiencia, por acompañarme y marcar mi desarrollo profesional, y por haberse convertido en tan buen referente hacia el que continuar.

A la doctora Gloria del Peso, por su ánimo y su compañerismo incansables, por la generosidad de su tiempo y su experiencia, y por su inestimable compañía en este y otros andares. Al doctor José Antonio Jiménez Heffernan, por su generosidad anatomopatológica.

A la doctora Teresa Bellón, por todas sus aportaciones y su amplio conocimiento compartido, por su interés y apoyo mostrado desde el inicio de esta tesis y sus trabajos, y por su guía y ayuda constante en lo relativo a los experimentos de laboratorio realizados en este trabajo. A Virginia Martínez, por su inestimable ayuda y trabajo de laboratorio, sin el que esta tesis no hubiera sido posible.

A Rosario Madero, por su crucial ayuda en el análisis y visión estadística de este trabajo, por su colaboración en la interpretación de los datos y por su gran paciencia y sabiduría compartida.

A mi compañera y jefa de Unidad de Nefrología del Hospital Infanta Elena, Alicia García, por su increíble capacidad para hacer que todo sea posible, por nuestro día a día, por priorizar siempre en los pacientes y sonreír en la adversidad, por acompañarme y animarme siempre en mi crecimiento profesional y personal, y por su continua generosidad que ha hecho que esta tesis fuera finalmente una realidad.

A todos mis compañeros del Hospital La Paz, a mis adjuntos por guiarme siempre con apoyos, a compañeras y amigas por el entusiasmo por mejorar compartido y por cuidarme tanto siempre, a las enfermeras y auxiliares que tanto y siempre nos ayudan. A María Fernández,

por su apoyo y su importante trabajo en la recogida de datos en la etapa en la que realmente se fragua esta tesis, muchas gracias.

A todo el equipo de enfermeras y auxiliares de la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital La Paz, por cuidarme tanto siempre en lo personal y profesional, por fraguar en mí el entusiasmo por la diálisis peritoneal, por cuidar tanto y tan bien de los pacientes, por su interés y su ayuda constante en la mejora de la técnica y por hacer posible siempre que este y otros trabajos de investigación consigan ser realidades. A María José Castro, por guiarme, enseñarme y compartir siempre su gran trabajo.

A mis compañeros, enfermeras y auxiliares del Hospital Infanta Elena, por todos sus apoyos y por seguir apostando por mejorar. A Valeria Sainz, por su siempre discreto e incondicional soporte, por estar siempre ahí y ayudarme en cada circunstancia, por hacer que la logística no sea un problema y que nuestro día a día sea mejor. A Neus, por esos cuidados no pedidos y tan necesarios, por estar siempre ahí. A Carmen, siempre capaz de resolver la logística.

A los pacientes, por hacernos crecer cada día, por recordarnos lo importante, por los que esta tesis y tantos trabajos toman sentido, y por los que espero seguir trabajando y mejorando en cada peldaño.

A mis padres siempre, por estar a mi lado cada día, en cada empeño, por cuidarme siempre desde donde estén, por transmitirme tantas cosas que perseguir, por llenarme desde siempre la vida de alegría, y por quererme tanto y tan incondicionalmente. A mi nueva familia, llena de gente buena a la que no puedo más que querer y agradecer haberla hecho mía, por estar siempre a mi lado, por todas sus fuerzas y apoyo, y por lo que hacen cada día para que la vida sea más fácil y bonita.

A mis amigas, por todo y desde siempre, sin que quepa en las palabras lo que supone que sean parte de mi familia.

A mi Jorgete, por su ilusión contagiosa, por sus sonrisas y su constante crecer, por sus abrazos, por los ratos regalados y su "te ayudo?"... por recordarme con su sola presencia lo importante.

Y a ti, Alberto, mi increíble Pequeño, gracias cada día por ser como eres sin casi darte ni cuenta, por tu apoyo, tu sabiduría y tu alegría, por tus besos y tu luz..., por ser mi fortaleza y mi refugio de lo importante y por estar siempre a mi lado. Gracias por tu infinita generosidad, por conseguir que todo siempre tenga más sentido y por hacerme tan... tan feliz. Te quiero.

Índice general

1	Introducción	9
1.1	Diálisis Peritoneal	9
1.2	La membrana peritoneal: remodelado hacia la fibrosis	11
1.2.1	Remodelado peritoneal y repercusión funcional sobre la membrana peritoneal 15	
1.2.2	Agentes implicados en el remodelado peritoneal	16
	• Soluciones bioincompatibles y PDGs.....	16
	• Intercurrencias inflamatorias de la diálisis peritoneal	17
1.3	Fibrosis peritoneal y esclerosis peritoneal encapsulante (EPS)	22
1.3.1	Factores de riesgo y Pre-EPS	24
1.3.2	EPS: fisiopatología y teoría del “segundo golpe”	26
1.4	Biomarcadores del proceso de fibrosis / EPS y remodelado peritoneal: vías de acción 29	
1.4.1	Citoquinas inflamatorias y remodelado peritoneal	29
1.4.2	Factores profibróticos	31
1.4.3	Otros biomarcadores: predisposición y marcadores genéticos	33
1.5	El macrófago peritoneal	35
1.5.1	El macrófago alternativamente activado (M2)	37
1.5.2	El macrófago peritoneal alternativamente activado (M2) y el remodelado peritoneal	38
1.6	CCL18: una citoquina profibrótica sistémica y peritoneal	40
1.6.1	CCL18 y fibrosis.....	41

1.6.2	CCL18 y fibrosis Peritoneal	43
1.7	Agentes moduladores de la fibrosis de la membrana peritoneal	46
1.7.1	Soluciones de DP	46
1.7.2	Abordaje terapéutico de la MMT	47
1.7.3	Paricalcitol	50
2	Hipótesis	51
3	Objetivos	53
4	Material y métodos	55
4.1	Sujetos del estudio	55
4.2	Datos clínicos y factores de riesgo de la membrana peritoneal	56
4.3	Estimación de la función de la membrana peritoneal. Transporte de membrana	58
4.4	Definición de fallo de membrana peritoneal (PMF).....	59
4.5	Definición de esclerosis peritoneal encapsulante (EPS).....	59
4.6	Tratamiento de muestras histológicas	60
4.7	Metodología del laboratorio	60
	▪ Detección y medida de CCL18	60
	▪ Detección y medida de PAI-1	60
4.8	Análisis de los efectos de paricalcitol sobre la producción de CCL18 por macrófagos peritoneales	61
4.9	Análisis y enfoque estadístico global	62
5	Resultados	65
5.1	Sujetos de estudio. Análisis descriptivo de factores clínicos, de riesgo peritoneal y de funcionalidad de la membrana	65
5.1.1	Estudio longitudinal retrospectivo	65
5.1.2	Estudio transversal	69
5.2	CCL18 en suero	72
5.2.1	Niveles de CCL18 en suero durante el seguimiento del estudio longitudinal.....	72

5.2.2	Asociación de CCL18 en suero con variables clínicas, de transporte peritoneal y funcionalidad de membrana	73
5.2.3	Asociación de CCL18 en suero y desarrollo posterior de PMF o EPS.....	75
5.3	CCL18 en efluente	77
5.3.1	Niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento del estudio longitudinal	77
5.3.2	Asociación de CCL18 en efluente con variables clínicas	78
5.3.3	Asociación de CCL18 en efluente con variables de funcionalidad de membrana y riesgo peritoneal	80
5.3.4	Asociación de CCL18 en efluente con variables, clínicas, de funcionalidad de membrana y de riesgo peritoneal en el estudio de corte transversal	82
5.4	CCL18 en efluente: ¿un nuevo marcador de fallo de membrana?	83
5.4.1	Pacientes sin fallo de membrana presentaron niveles bajos y estables de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.....	90
5.4.2	Un aumento de los valores de CCL18 en efluente predispone a desarrollo de fallo de membrana	91
5.4.3	Valores elevados de CCL18 en efluente se asociaron con desarrollo de fallo de membrana y esclerosis peritoneal encapsulante.....	93
5.5	Capacidad predictiva de CCL18 en efluente. ¿Qué aporta sobre el modelo clásico de detección de riesgo?	95
5.5.1	Capacidad predictiva de CCL18 en efluente.....	95
5.5.2	CCL18 en efluente peritoneal: ¿Qué aporta sobre el modelo actual de detección de riesgo o fallo de membrana?.....	96
5.6	CCL18 y transporte de membrana	99
5.6.1	Correlaciones del transporte de CCL18 en efluente respecto de otros datos de transporte de membrana.....	99
5.6.2	Estabilidad de parámetros de transporte y de datos de alarma peritoneal frente a variabilidad o rangos de alarma de CCL18 en efluente peritoneal	102
5.7	Análisis de PAI-1 en nuestros sujetos de estudio.....	105
5.7.1	Correlación de CCL18 en efluente y PAI en efluente	107
5.7.2	Comportamiento de CCL18 en efluente y valores de PAI	108

5.8	Condiciones especiales: CCL18 y peritonitis eosinofílica (PE).....	110
5.8.1	CCL18, peritonitis eosinofílica y fibrosis peritoneal	111
5.9	CCL18 en efluente peritoneal: ¿una nueva diana terapéutica? Tratamiento con Paricalcitol.....	115
6	Resumen de resultados.....	119
7	Discusión	125
8	Fortalezas y limitaciones del estudio	139
	Fortalezas	139
	Limitaciones	139
9	Implicaciones clínicas y perspectivas futuras derivadas	141
10	Conclusiones.....	143

Resumen

El proceso de remodelado de la membrana peritoneal se ve mediado por una interacción inflamatoria y profibrótica que deriva en el fallo de membrana peritoneal (PMF) y en última estancia en su complicación más grave, la EPS. Dada la implicación de los macrófagos peritoneales alternativamente activados (M2) en el proceso de fibrosis peritoneal, se plantea la implicación fisiopatogénica de su citoquina CCL18 en dicha fibrosis y sus consecuencias funcionales derivadas.

Objetivos del estudio: validar los niveles de CCL18, en suero y efluente peritoneal, como marcadores de alteraciones funcionales y estructurales profibróticas de la membrana peritoneal y explorar potenciales inhibidores del sistema profibrótico M2-CCL18.

Métodos: Mediante un estudio longitudinal sobre 43 pacientes durante los 3 primeros años de DP y un corte transversal sobre 61 pacientes de >3 años en DP, valoramos CCL18 en suero y efluente estableciendo su asociación con PMF, EPS y factores de riesgo peritoneal. Estudiamos la implicación de CCL18 en efluente en PE secundaria a hipersensibilidad por clorhexidina. Relacionamos CCL18 con otras moléculas asociadas a EPS como PAI-1. Evaluamos CCL18 como diana terapéutica y su respuesta a inhibidores de la fibrosis como paricalcitol.

Resultados y Discusión: Valores bajos y estables de CCL18 en efluente (<2.2ng/ml) se asocian con la ausencia de presentación posterior de PMF o EPS. Incrementos de CCL18 se asociaron significativamente con desarrollo de PMF. Valores de CCL18 en efluente <3.15ng/ml en el tercer año de DP presentaron un valor predictivo negativo del 89.5% y superiores a dicho umbral un riesgo mayor de PMF. La asociación de CCL18 en efluente y el desarrollo posterior de PMF se mostró independiente del abordaje clásico de transporte peritoneal. CCL18 en PE se confirma como agente fisiopatogénico de fibrosis peritoneal y fallo funcional asociado. CCL18 y PAI-1 en efluente se correlacionaron entre sí. Paricalcitol inhibe CCL18 en efluente.

Conclusiones: Nuestro estudio muestra CCL18 en efluente como un marcador de riesgo de desarrollo de PMF con implicación fisiopatogénica en el modelo de fibrosis peritoneal en situación basal y en modelos inflamatorios como el de la PE, proporcionando además una potencial nueva diana terapéutica.

Palabras clave: Diálisis peritoneal, efluente peritoneal, CCL18, función peritoneal, fallo de membrana peritoneal, esclerosis peritoneal encapsulante.

Abstract

The fibrotic remodeling of the peritoneal membrane is mediated by inflammatory and profibrotic interaction, resulting in the failure of peritoneal membrane (PMF) and, ultimately, encapsulating peritoneal sclerosis (EPS). Given the involvement of alternatively activated peritoneal macrophages (M2) in the process of peritoneal fibrosis, we hypothesized that its cytokine CCL18 has a physiopathogenic involvement in peritoneal fibrosis and its derived functional consequences.

Objectives: validate CCL18 levels in serum and peritoneal effluent as a marker of fibrotic structural and functional alterations of the peritoneal membrane and explore potential inhibitors of profibrotic system M2 - CCL18.

Methods: Through a longitudinal study of 43 patients during the first 3 years of PD and a cross section of 61 long-term PD patients (>3 years), we analyze serum and effluent CCL18 and its association with PMF, EPS and peritoneal risk factors. We study the involvement of effluent CCL18 in chlorhexidine hypersensitivity secondary PE and CCL18 interaction with other molecules associated with EPS as PAI-1. Paricalcitol was studied as a CCL18 therapeutic agent.

Results and discussion: Low and stable values of CCL18 in effluent (< 2.2ng/ml) are associated with the absence of subsequent presentation of PMF or EPS. An increase in CCL18 levels at any time was a predictive factor for PMF development. At year 3 of PD, CCL18 values in effluent under 3.15ng/ml showed an 89.5% negative predictive value, and higher levels were associated with later PMF. The association of effluent CCL18 and the subsequent development of PMF was shown independent from the classical approach of peritoneal transport. CCL18 in PE is confirmed as a physiopathogenic agent of peritoneal fibrosis and its associated membrane functional failure. Effluent CCL18 and PAI -1 correlated with each other. Paricalcitol inhibits CCL18 production by M2 macrophages.

Conclusions: Our study shows CCL18 in effluent as a marker of risk of development of PMF with physiopathogenic involvement in the model of peritoneal fibrosis at baseline and inflammatory models such as the PE, also providing a potential new therapeutic target.

Key words: Peritoneal dialysis, peritoneal effluent, CCL18, peritoneal function, peritoneal membrane failure, encapsulating peritoneal sclerosis.

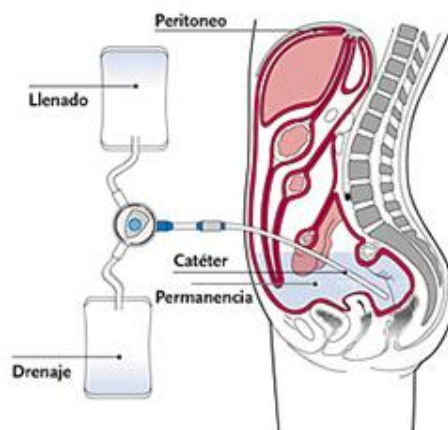
1 Introducción

1.1 Diálisis Peritoneal

La incidencia y prevalencia de la enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) es un problema emergente en todo el mundo. Las opciones de tratamiento renal sustitutivo (TRS) son el trasplante renal y la diálisis, tanto en su modalidad de Hemodiálisis (HD) como en su modalidad de Diálisis Peritoneal (DP). El abordaje del TRS en ERCA es considerado como un proceso dinámico que trata de optimizar los tiempos y prioridades de cada opción terapéutica. Se estima que, sólo en España, la prevalencia de ERCA en programa de TRS es de 1179 habitantes por millón de población y de éstos un 5.5% estaría en programa de DP. [Datos de los Registros Autonómicos de Enfermos Renales y Organización Nacional de Trasplante. 2014]

La DP utiliza el peritoneo como membrana de diálisis [Figura 1], mediante un intercambio de solutos y agua entre la sangre de los capilares peritoneales y un líquido de diálisis hiperosmótico que se introduce en la cavidad peritoneal y se renueva periódicamente. Sus objetivos son la depuración sanguínea y la ultrafiltración (UF) de agua libre para un adecuado manejo de toxinas y volumen.

Figura 1. Esquema de la diálisis peritoneal



La DP como modalidad de TRS, presenta una supervivencia similar a la de HD, siendo la edad y la presencia de diabetes (DM) los principales determinantes de la supervivencia del paciente en ambas (1–3). La DP juega un papel muy importante en el abordaje integral del TRS de los pacientes con ERCA en el que las diferentes modalidades terapéuticas se intercalan, pudiendo suponer la primera opción dialítica del TRS, seguida del trasplante renal o HD, en el esquema de abordaje terapéutico según los casos y sistemas de salud asociados (3,4)

Las tasas de supervivencia en DP son variables, habiéndose registrado en estudios previos realizados sobre cohortes retrospectivas tasas desde el 50 % al 70% a los cinco años (5–7). Recientemente se han publicado los resultados de un estudio de más de 30 años de experiencia en DP en la Unidad de Diálisis Domiciliaria del Hospital Universitario La Paz en el que se ha objetivado un aumento de incidencia de DP en las últimas décadas de tratamiento en el centro con una mejor supervivencia también en las décadas recientes con un 64,2% de supervivencia de técnica a los 5 años y un mayor éxito en pacientes jóvenes de menor comorbilidad y tratamientos de DP con cicladora automática (DPA) (8)

Tal y como se observa en este estudio comentado (8), la mejor selección de los pacientes, la experiencia y curva de aprendizaje del centro con continuidad del cuidado médico y de enfermería, la consecución de dosis de diálisis más adecuadas, la extensión del uso de la DPA y de las soluciones biocompatibles, son factores determinantes en la mejora de la supervivencia del paciente y técnica. Sin embargo, el uso de soluciones de DP y las interurrencias inflamatorias que se pueden asociar a la técnica (peritonitis), siguen condicionando un remodelado profibrótico de la membrana peritoneal que puede derivar en un fallo de técnica, que comprometa la supervivencia de la misma o incluso la del paciente en programa de DP si la fibrosis de la membrana peritoneal llega a su máxima expresión o complicación más grave como es la esclerosis peritoneal encapsulante (en inglés encapsulating peritoneal sclerosis o EPS)

1.2 La membrana peritoneal: remodelado hacia la fibrosis

La membrana peritoneal utilizada como filtro para la realización de DP es, como membrana biológica, muy susceptible a los estímulos inflamatorios o lesivos que influyan sobre ella, sobre todo si éstos son mantenidos.

La exposición a soluciones dialíticas bioincompatibles y las potenciales intercorrientes inflamatorias asociadas a la técnica (como las peritonitis), hacen que este proceso dialítico promueva en la membrana peritoneal un remodelado profibrótico que se expresa en cambios estructurales (pérdida de la monocapa mesotelial, aumento de matriz y fibrosis submesotelial, vasculopatía y proliferación vascular) y que deriva en un fallo de funcionalidad de la membrana con incapacidad para la UF y alteraciones del transporte peritoneal de solutos que limitan su uso como membrana dialítica (9,10).

La membrana peritoneal, compuesta de una monocapa de células mesoteliales, matriz celular y capilares, sufre una transformación hacia la fibrosis condicionada en gran medida por los principales cambios estructurales y funcionales que se describen a continuación:

– Transición mesotelio-mesenquimal (MMT)

A lo largo de la exposición al tratamiento con DP se ha objetivado que las células de la monocapa mesotelial pierden su polaridad apical y las uniones intercelulares para progresar hacia la matriz extracelular y espacio submesotelial mediante un proceso de migración que requiere de la reorganización de su citoesqueleto, la pérdida de marcadores epiteliales (E-Cadherina, citoqueratina) y la expresión de moléculas y marcadores propios del tejido conectivo, mesenquimal y de miofibroblastos (N-Cadherina, alfa actina de músculo liso [α -SMA], fibronectina, colágeno VIII...) (9–11)

Este proceso se conoce como transición mesotelio-mesenquimal (MMT), inicialmente descrita como epitelio-mesenquimal (TEM), y fue demostrado en 2003 en un estudio realizado in vitro sobre células mesoteliales de epiplón, ex vivo sobre células obtenidas de efluentes e in vivo sobre biopsias peritoneales (12); revolucionando la interpretación de los procesos de respuesta y fibrosis peritoneal descritos hasta la fecha.

La MMT se postula como uno de los principales implicados y desencadenantes del remodelado peritoneal profibrótico y es considerado como probable punto de partida de la misma (10,12,13) con participación en la cascada profibrótica a través de mecanismos inflamatorios y profibróticos (14,15), sobreexpresión de factor de crecimiento endotelial vascular (en inglés,

endotelial grow factor o VEGF) y factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), y mediante la activación del fibroblasto residente y quiescente (CD 34 +) (16). Además, la MMT se ha relacionado de forma directa con el aumento de transporte de solutos peritoneales y con el fallo de UF (en inglés, ultrafiltration failure o UFF) (14,17,18)

Por tanto, la disminución del proceso de MMT es uno de los potenciales protectores del remodelado profibrótico de la membrana peritoneal, como se comentará más adelante en el apartado de agentes moduladores de fibrosis peritoneal.

– Aumento de la matriz extracelular (MEC)

La matriz extracelular situada bajo la monocapa de células mesoteliales presenta un aumento de tamaño y una baja celularidad progresivos en el proceso de remodelado peritoneal (9,10) Esta matriz, además, presenta fibronectina y colágeno en cantidades muy superiores a las esperadas en un peritoneo normal, y su evolución a la fibrosis constituye el estadio final del remodelado peritoneal con la máxima expresión en la EPS.

El aumento de MEC se ha asociado junto con la MMT con alteraciones funcionales de la membrana como el UFF (18)

– Incremento de la permeabilidad vascular: VEGF

Estudios funcionales han demostrado que la DP aumenta la superficie efectiva de transporte de la membrana peritoneal, como consecuencia de un aumento del número de capilares, vasodilatación y aumento de permeabilidad endotelial peritoneal (18–20). La angiogénesis y aumento de permeabilidad vascular esta mediada por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y otros estímulos, como la agresión mecánica o citoquinas y factores de crecimiento (factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α], interleuquina 6 [IL-6], factor de crecimiento transformante beta [TGF- β], Insulina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas [PDGF]) (18).

Se ha evidenciado la presencia de VEGF en el efluente de los pacientes en DP y su producción por células mesoteliales (21,22) y su incremento se ha asociado con MMT, UFF, alto transporte peritoneal y esclerosis peritoneal (14,17,23). Recientemente, se ha descrito la presencia de receptores de VEGF y correceptores en las células mesoteliales peritoneales (24), con una implicación bidireccional con MMT de la célula mesotelial con capacidad de migración e invasión en presencia de VEGF (24).

Además, en el peritoneo de los pacientes tratados con DP, se observa una vasculopatía hialinizante con reduplicación de la membrana basal subendotelial en lesiones similares a las

objetivadas en la vasculopatía diabética y que han sido puestas en relación con la agresión de la carga de glucosa y sus productos de glicosilación avanzada (AGEs) y de degradación de la glucosa (PDGs) (9,10). Estas lesiones no se observan en la misma medida en los vasos sistémicos de los pacientes urémicos diabéticos (25), lo que hace que estos factores sean considerados por tanto un elemento secundario en la patología vascular peritoneal. Además, estas lesiones se observan dependientes del tiempo de exposición a la técnica y se asocian con procesos simples de fibrosis estando implicados en el UFF (9,10,23).

– Ultrafiltración. Transporte de agua libre

La capacidad de UF peritoneal es uno de los principales condicionantes de viabilidad de la técnica. El UFF supone un importante aumento de riesgo cardiovascular de los pacientes en DP y complica su manejo con limitaciones terapéuticas.

La alteración de la capacidad de UF peritoneal se produce en contexto de la sobreexpresión de VEGF con angiogénesis e hiperpermeabilidad vascular secundarias, asociada a una pérdida del glucocalix endotelial, que aumenta también la hiperpermeabilidad vascular, y a la sobreexpresión de sustancias vasoactivas como la óxido nítrico sintetasa (NOS), que aumenta de forma predominante en procesos inflamatorios intercurrentes (como las peritonitis)(9).

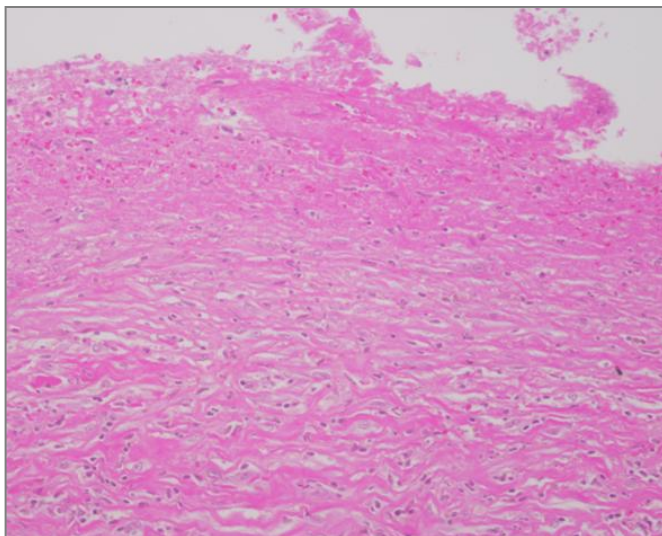
Similar al transporte de agua tubular renal (donde predomina la acuaporina 2), la acuaporina 1 (AQP-1) es una proteína mediadora del transporte de agua peritoneal, siendo considerada la responsable del 50% de la UF peritoneal total y puesta en relación directa con el cociente de dilución intraperitoneal dependiente de ganancia de agua libre intraperitoneal, como es el cribado del sodio (9). Su déficit se ha asociado a UFF y alteraciones del transporte de sodio y de agua libre en modelo murino (9).

La confirmación histológica de los hallazgos funcionales y de marcadores peritoneales, hace de la biopsia peritoneal un eslabón clave para el estudio del remodelado peritoneal (18). Su práctica está limitada por la invasividad de la técnica, condicionando su análisis a estudios de corte; sin embargo, la disponibilidad de material inmuno-histoquímico de archivo alimenta sus grandes posibilidades (26). Las principales alteraciones descritas en el tejido peritoneal son la denudación mesotelial, la transformación de la célula mesotelial en célula mesenquimal, la activación del fibroblasto residente y quiescente (CD34 +), la fibrosis submesotelial y la vasculopatía neoangiogénica o hialinizante (12,16).

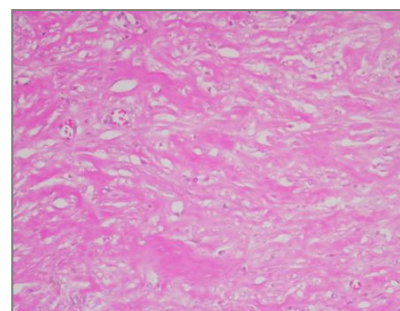
Todos los pacientes en DP terminan desarrollando con el tiempo cambios en su membrana peritoneal hacia una fibrosis peritoneal simple (SPS) objetivables en la biopsia peritoneal (27). Sin embargo, estos cambios histológicos en muy pocos casos se siguen de los observados en la EPS; en la que la membrana peritoneal se termina convirtiendo en una membrana fibrótica y densa denominada “cocoon” que envuelve y atrapa las asas intestinales (10,28), condicionando su peristaltismo y adhiriéndose íntimamente a ellas. Cabe destacar que en las biopsias peritoneales de EPS [Figura 2], respecto de las obtenidas de SPS, predomina un engrosamiento de la región submesotelial de baja celularidad, vasculopatía con oclusión y calcificación arterial, angiogénesis, aumento de fibroblastos y de depósito de fibrina y una mayor infiltración mononuclear (29–31)

Figura 2. Tinción de PASM de biopsia peritoneal tomada de un paciente con diagnóstico de EPS. A) Evidencia de la pérdida de monocapa mesotelial con evidencia de fibrina en la superficie peritoneal y evidencia de fibrosis submesotelial. B) Detalle de la intensa fibrosis submesotelial con desierto celular de paciente con EPS

A)



B)



1.2.1 Remodelado peritoneal y repercusión funcional sobre la membrana peritoneal

Los cambios estructurales y funcionales de la membrana peritoneal condicionan pérdida progresiva de su funcionalidad caracterizada por un incremento en el transporte de solutos y una incapacidad para mantener una UF adecuada.

La evolución del transporte peritoneal ha sido definida a lo largo de la evolución de la DP y en las primeras etapas del tratamiento dialítico. Existe una gran variabilidad intersujetos en cuanto al transporte inicial de la membrana peritoneal sin que estén definidos hasta la fecha sus factores determinantes (32,33), aunque se han postulado asociaciones con características clínicas (edad avanzada, origen racial, sexo) (34) y con factores genéticos como polimorfismos en el gen de la IL-6 (35)

No es infrecuente encontrar un alto transporte de solutos al inicio del tratamiento con DP. Sin embargo, los datos de transporte peritoneal al inicio no siempre se acompañan de un grado proporcional de UFF y el estado de transporte peritoneal al inicio del tratamiento con DP no determina la evolución posterior del transporte peritoneal (36). En un estudio realizado en 249 pacientes tratados con DP (33) se objetivó una tendencia a normalizar el transporte solutos y de agua durante el primer año de tratamiento en DP (enlenteciéndose el de los altos transportadores iniciales y acelerándose el de los bajos transportadores).

En tratamiento con soluciones de DP con pobre biocompatibilidad, se considera que sobre un 20-30% de los pacientes en DP desarrolla a partir del cuarto-quinto año de tratamiento con DP un aumento progresivo del transporte peritoneal de solutos con un descenso de UF peritoneal asociado; lo que denominamos alto transporte peritoneal adquirido.

Tradicionalmente el alto transporte peritoneal se ha asociado con neoangiogénesis, sin embargo se ha descrito una tasa de neoangiogénesis similar en los tiempos de DP estudiados y no siempre en relación con alto transporte peritoneal o UFF (17), aunque si se asocia neoangiogénesis con EPS (23). Por tanto, parecen de mayor relevancia en el proceso de transporte peritoneal los agentes implicados en la permeabilidad del vaso y el remodelado intersticial peritoneal como VEGF y TGF β que derivan de la MMT (14,17,21). Se ha asociado además la participación de la vasculopatía hialinizante en el proceso de alto transporte peritoneal (37).

La presencia de peritonitis tempranas o severas y la exposición a altas cargas de glucosa mantiene el alto transporte en los pacientes que así lo presentaban de inicio (33,38–40) y se han asociado tanto a alto transporte como a UFF en los diferentes tiempos de tratamiento dialítico con DP. Por tanto, la inflamación y la agresión directa por glucosa-soluciones bioincompatibles, se postulan como los principales agentes que inician, acentúan y perpetúan los cambios funcionales y estructurales previamente comentados, que derivan en una alteración de la funcionalidad de membrana caracterizada por un alto transporte de solutos y UFF.

1.2.2 Agentes implicados en el remodelado peritoneal

El proceso de fibrosis de la membrana peritoneal, y sus alteraciones estructurales y funcionales derivadas, resulta principalmente de dos grandes agentes fisiopatogénicos: la inflamación (y sus agudizaciones) y la toxicidad sobre la membrana peritoneal derivada de la exposición a soluciones biocompatibles y sus PDGs (41). Ambos procesos se retroalimentan y potencian uno a otro, perpetuando el daño peritoneal que deriva en fibrosis.

El tiempo de exposición a la técnica (por encima de 4 años) ha sido considerado uno de los mayores factores de riesgo de desarrollo de fibrosis peritoneal y de su máxima expresión: la EPS (12,14).

- **Soluciones bioincompatibles y PDGs**

Las soluciones de diálisis requieren de un gradiente osmótico para la eliminación del agua libre y la UF, que viene dado de la concentración de glucosa de las mismas (19,44), lo que condiciona sin embargo, gran parte de la bioincompatibilidad de dichas soluciones.

El pH ácido de las soluciones de diálisis combinado con la glucosa empleada como agente osmótico de las mismas genera PDGs y AGEs, de reconocida toxicidad peritoneal y sistémica. A nivel renal, los AGEs y PDGs intervienen en la apoptosis de células tubulares renales y endoteliales como un factor determinante de complicaciones microvasculares y arterioesclerosis (45–47). En el peritoneo, AGEs y PDGs participan en la apoptosis de células mesoteliales y son factores precipitantes y estimulantes de su transformación MMT (12,47). Por tanto, AGEs y PDGs estimulan también la vía profibrótica TGF β (48,49) y la perpetuación del daño sobre la membrana peritoneal mediado por VEGF (14,17,23,24). Además se ha

descrito la implicación de AGEs y PDGs en la activación de sistemas endógenos profibróticos como Gremlin 1 (GREM1), un inhibidor de las proteínas morfogénicas óseas (BMPs) (que a su vez son inhibidoras de TGF β), capaces de promover MMT y fibrosis vía TGF β , con expresión clínica de alto transporte de solutos (50).

La utilización de soluciones con tampón bicarbonato (aislado o combinado con lactato) y los sistemas bi o tricompartmentales que permiten una disminución de formación de PDGs, han supuesto una mayor biocompatibilidad de las soluciones dialíticas empleadas, que mejora la viabilidad y funcionalidad de las células peritoneales (51). Recientemente, se ha comprobado que el uso de estas soluciones bajas en PDGs reduce el fenómeno de MMT involucrado en el proceso de fibrosis peritoneal, con una mayor preservación del fenotipo epiteloide característico de la célula mesotelial sana y una menor expresión VEGF y TGF, fibronectina y colágeno tipo 1 (52,53).

- **Intercurrencias inflamatorias de la diálisis peritoneal**

Se ha descrito un grado de inflamación basal que se asocia al proceso de DP, con tendencia a la sobreexpresión de interleuquinas (IL) inflamatorias como IL-6, que se relacionan con alteraciones funcionales de la misma como el alto transporte de solutos (54). Pero sobre esa inflamación basal se producen además procesos intercurrentes inflamatorios asociados a la DP, como las peritonitis.

- **Peritonitis**

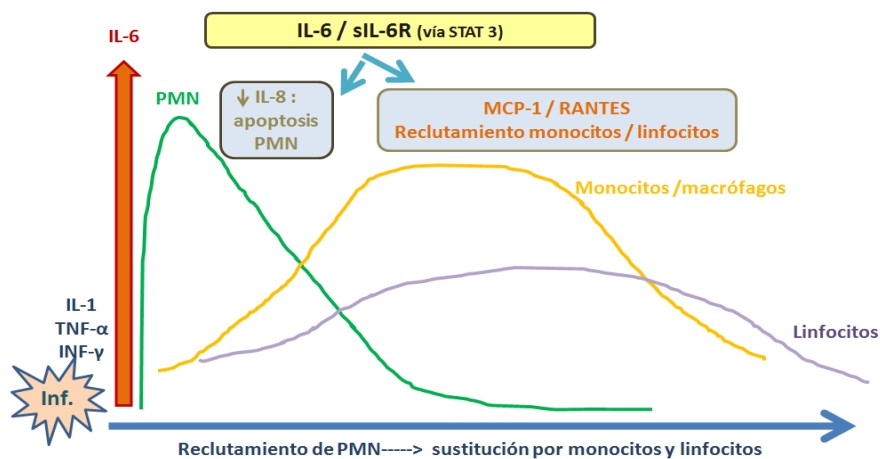
Las peritonitis intercurrentes, sobre el proceso dialítico crónico con DP, originan un proceso inflamatorio que dispara los mecanismos mediados por citoquinas inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α (19,42), suponiendo uno de los principales factores desencadenantes del remodelado peritoneal hacia la fibrosis. La gravedad de las peritonitis, etiologías fúngicas o secundarias a *Pseudomonas ssp.* o *Staphylococcus aureus*, una alta frecuencia o un elevado número de días de inflamación peritoneal acumulado, se asocian con mayor agresión sobre la membrana peritoneal; con mayor predisposición de la misma a fibrosis y a desarrollo de EPS (29,33,39,54,55).

La respuesta inflamatoria que sigue a una peritonitis se modifica a medida que pasa el tiempo desde su inicio. Como se esquematiza en la Figura 3, la regulación del reclutamiento celular frente a una infección peritoneal depende inicialmente de citoquinas proinflamatorias como

IL-1, TNF- α e interferón gamma (INF- γ), capaces de reclutar neutrófilos polimorfonucleares (PMN), que incrementan y acompañan a la sobreexpresión de IL-6. Posteriormente, y como mecanismo regulador de este proceso infeccioso agudo, los neutrófilos liberan el receptor soluble de IL-6 (sIL-6R), que permite la formación de complejos IL-6/sIL-6R, que a su vez (vía STAT 3) disregulan citoquinas como IL-8, cuyo descenso permite la apoptosis de neutrófilos, y promueven la sobreexpresión de la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) y sistema RANTES, encargados del reclutamiento de monocitos y linfocitos que concluyen con el episodio de infección aguda (9).

Los monocitos-macrófagos implicados en los procesos infecciosos-inflamatorios pasan por tanto a tener dos posibles funciones en la membrana peritoneal. Una funcionalidad defensiva en su estado proinflamatorio en forma de macrófagos clásicamente activados (denominados M1), encargados de la promoción de respuesta Th1 y presentación de antígeno; y una funcionalidad reparadora en el caso de macrófagos alternativamente activados (denominados M2) con acción reparadora y profibrótica a través de citoquinas propias como CC quimioquina ligando 18 (CCL18), en la que profundizaremos más adelante.

Figura 3. Esquema del proceso inflamatorio desencadenado por un episodio de peritonitis [Modificado desde Devuyt et al. 2010 (9)]



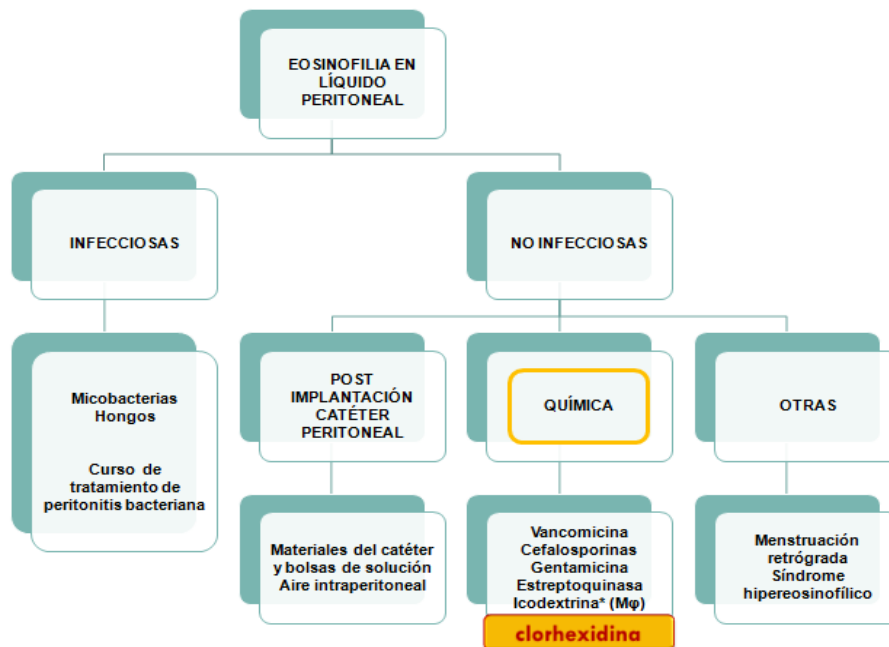
– Peritonitis eosinofílica

Alrededor de un 10-20% de las peritonitis producidas en DP no presentan un cultivo positivo, siendo denominadas peritonitis estériles. Cuando el tratamiento inadecuado de la muestra del efluente, material insuficiente o extracción de efluentes con tratamiento antibiótico previo se

descartan, otras posibilidades, tales como microorganismos raros o causas no infecciosas, deben ser consideradas (56,57).

La peritonitis eosinofílica (PE) forma parte de las potenciales etiologías de una peritonitis estéril. Caracterizada por la presencia de al menos 40 eosinófilos /mm³ o más del 10% de eosinófilos del recuento peritoneal, cumpliendo los criterios de peritonitis (más de 100leucocitos/mm³), supone una de las causas de eosinofilia peritoneal (57), que puede observarse en patologías no inflamatorias-infecciosas, tales como la exposición química, como se observa en la Figura 4.

Figura 4. Esquema de potenciales etiologías de eosinofilia en efuente peritoneal. Modificado para destacar etiologías químicas o farmacológicas



A pesar de su escasa incidencia, la PE tiene un papel relevante pues en algunos casos se ha relacionado con fibrosis peritoneal y FUF (58). En esta tesis describimos un caso de una peritonitis eosinofílica mediada por hipersensibilidad a clorhexidina que comentaremos más adelante en el apartado 5.8

Se ha descrito eosinofilia peritoneal como respuesta de hipersensibilidad a fármacos (59) y casos de hipersensibilidad en contexto de clorhexidina (60), pero hasta la fecha no hay

descritos casos de eosinofilia peritoneal en contexto de hipersensibilidad a clorhexidina como se evidenció en el caso que describiremos más adelante en este trabajo. Tanto las PE recurrentes (58) como la clorhexidina (61) se han asociado al posterior desarrollo de fibrosis peritoneal y FUF; por tanto, y en base a nuestro caso, trataremos de ahondar en los potenciales mecanismos de acción implicados.

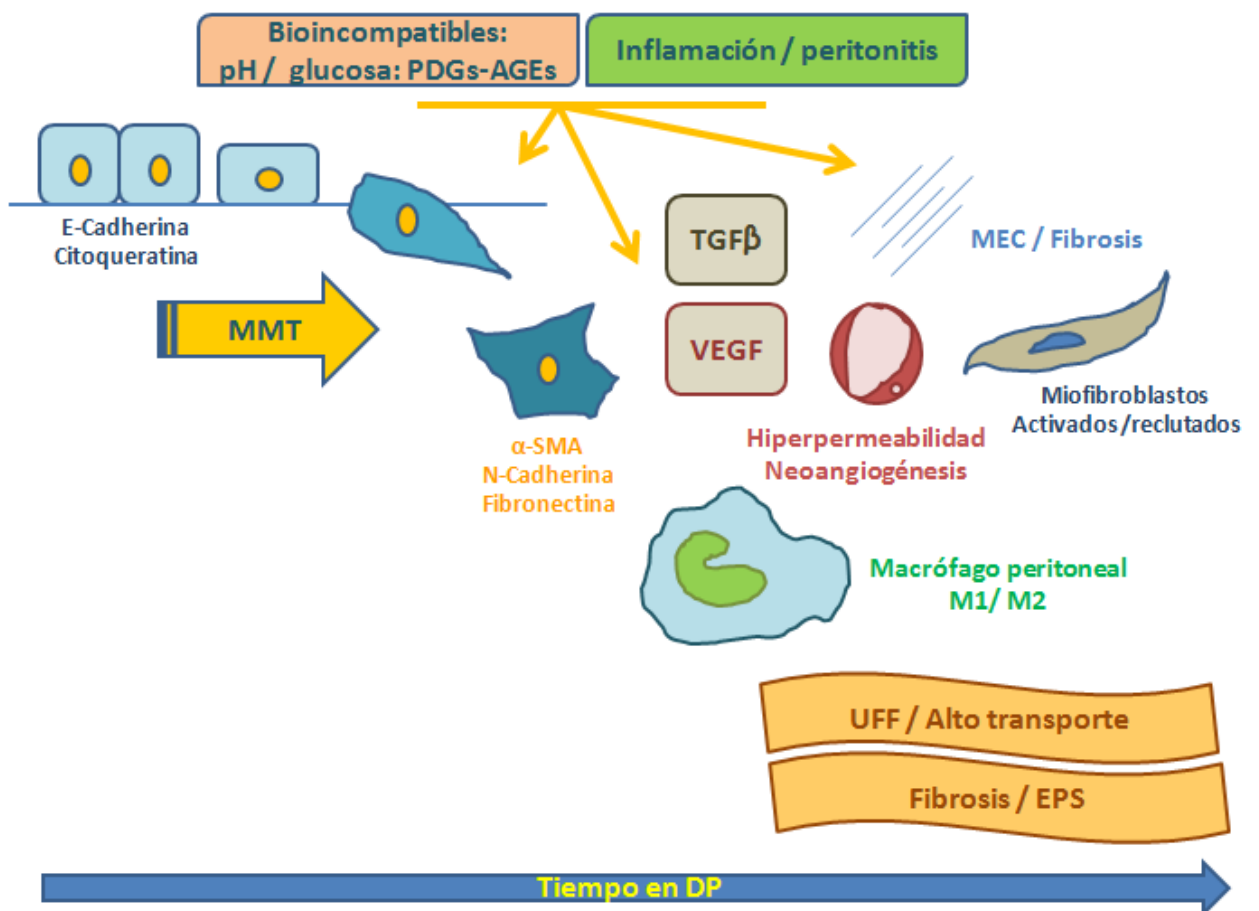
– **Hemoperitoneo**

La incidencia de hemoperitoneo en DP oscila entre un 6.1 y 8.3% según las series, y su pronóstico puede ser grave en un 20% de los casos. No se ha evidenciado una asociación entre sus presentaciones leves y una mayor fibrosis o alteración del transporte de membrana (62,63), sin embargo, en el caso de los hemoperitoneos graves o prolongados la permanencia de sangre en la cavidad peritoneal tendría previsible efectos inflamatorios y profibróticos (64).

En base a lo comentado hasta ahora, y pendientes de profundizar más adelante en las vías implicadas, esquemizamos en la

Figura 5 los principales agentes y procesos implicados en el remodelado peritoneal hacia fibrosis / EPS, que deriva en alteraciones funcionales de la membrana peritoneal como son el alto transporte de solutos y el UFF.

Figura 5. Esquema de las modificaciones funcionales y estructurales de la transformación de la membrana peritoneal



1.3 Fibrosis peritoneal y esclerosis peritoneal encapsulante (EPS)

La mayor expresión del remodelado peritoneal profibrótico es la EPS. Descrita por primera vez en 1980 por Gandhi (65), se caracteriza por una inflamación peritoneal que conduce a un remodelado fibrótico que deriva en la conversión de la membrana peritoneal en una membrana fibrótica y densa denominada “cocoon” que envuelve las asas intestinales, condicionando su peristaltismo con la consiguiente aparición de síntomas gastrointestinales (GI), obstrucción intestinal, malnutrición y, en un alto porcentaje de casos, mortalidad asociada (43,66,67).

La incidencia de EPS es en realidad poco conocida, y ha aumentado desde un 0.9% en 1996 a un 3.3% en 2005 (29), probablemente en relación con un mayor tiempo de permanencia en técnica de DP y una mayor concienciación con su diagnóstico. Actualmente las series sitúan su incidencia entre un 0.7 y 3.3%(29,43,66,68). Un estudio reciente llevado a cabo en 679 pacientes en DP durante más de dos décadas (1980 hasta 2012), identificó una prevalencia global del 2.9%, siendo menor en las décadas más recientes (66).

El diagnóstico de la EPS se basa en datos clínicos, radiológicos e histológicos (68,69):

- Síntomas clínicos sugestivos de obstrucción intestinal
- Datos de transporte peritoneal alterado (alto o bajo transporte con UFF o cociente de transferencia de masas-MTC- de creatinina y urea alterados)
- Hallazgos radiológicos (esclerosis, calcificación, engrosamiento peritoneal o encapsulación intestinal) en tomografía computerizada (TC) o ultrasonografía (US)
- Datos anatómicos o histológicos en los casos de laparotomía o necropsia (adherencias fibróticas, calcificaciones, o “cocoon”).

Se considera su diagnóstico cuando se cumple cualquier criterio inequívoco (visualización directa, histología), dos criterios mayores (imagen en ecografía o tomografía) o un criterio mayor y dos menores (sintomatología, alto transporte y o alteración del ratio MTC de urea/MTC de creatinina).

Los síntomas clínicos, desafortunadamente, se hacen más sugestivos cuanto más desarrollado y avanzado se encuentra el proceso de EPS. El diagnóstico basado en pruebas de imagen se encuentra con limitaciones importantes en la práctica clínica habitual, puesto que no todos los pacientes que muestran alteraciones en la imagen de TC desarrollan posteriormente EPS y ésta puede ocurrir en el transcurso de un año con TC previo normal (70). La resonancia magnética dinámica (cine-RMN) puede tener un papel en la detección precoz de EPS, pero se requieren más estudios para validar la eficacia de esta nueva técnica de imagen (71). En ocasiones es precisa la laparoscopia exploradora para confirmar estadios precoces de EPS.

En el evolutivo del proceso de EPS se distinguen clásicamente 4 estadios (69), según se describen en la Tabla 1. Cabe destacar un primer estadio asintomático en el que, sin embargo, ya se expresan alteraciones estructurales significativas de la membrana. Sólo inicialmente se detectan marcadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR) y los síntomas GI van progresando desde los inespecíficos síntomas de íleo en estadios 2 y 3 hasta la obstrucción intestinal en estadio 4, donde a menudo sobreviene el diagnóstico (29,69,72,73).

Tabla 1. Estadios evolutivos de la clasificación de EPS [Modificado Nakamoto et al. 2005 (69)]

Estadios	Hallazgos
Estadio 1: Asintomático [Periodo Pre-EPS]	Fallo de ultrafiltración, alto transporte, hipoproteinemia, ascitis, hemoperitoneo, calcificaciones peritoneales
Estadio 2: Periodo Inflamatorio	Hemoperitoneo, fiebre, ascitis, pérdida de peso, hiporexia, diarrea, incremento de la proteína C reactiva
Estadio 3: Periodo Progresivo	Signos y síntomas de íleo (náuseas, vómitos, dolor abdominal, estreñimiento, masa abdominal, ascitis)
Estadio 4: Periodo Obstructivo	Anorexia, obstrucción intestinal completa, masa abdominal, malnutrición

A su complejo diagnóstico, mayoritariamente tardío, se le suma, además que una importante proporción de los casos de EPS se diagnostica tras la salida de DP, cuando el paciente está siendo tratado con HD o ha recibido un trasplante renal (42), lo que en ocasiones dificulta su sospecha.

Una vez se confirma el diagnóstico de EPS, es obligatoria la suspensión de DP y la transferencia del paciente a HD (55,67).

La mortalidad de EPS se ha descrito en el 25- 55% de los casos diagnosticados, produciéndose mayoritariamente en el primer año tras su diagnóstico y relacionándose con el tiempo de permanencia previa en DP (29,68,74,75). Todos los autores coinciden en la prioridad de un diagnóstico temprano para su abordaje y en la necesidad de establecer datos predictivos o de sospecha dado su carácter mayoritariamente asintomático en los estadios iniciales (76).

La investigación actual sobre la fisiopatología y abordaje de la EPS está encaminada a evaluar si las soluciones biocompatibles, con menor proporción de PDGs /AGEs, y la prevención de eventos inflamatorios, pueden ofrecer algo de luz sobre el pronóstico, tradicionalmente considerado fatal, de esta entidad (77).

Sin embargo, no existe hasta la fecha suficiente evidencia científica que avale un manejo terapéutico electivo. El uso de esteroides ha demostrado ser beneficioso, sobre todo en fases inflamatorias o tempranas de la enfermedad (74,78) y junto con tamoxifeno, como inhibidor selectivo de los receptores de estrógenos capaz de inhibir la producción de TFG β 1 (empleado en la mayoría de las series junto con corticoides) (79,80), son los fármacos más utilizados. Nos detendremos más adelante en los potenciales agentes terapéuticos guiados de la mano de la fisiopatología.

En etapas avanzadas de la enfermedad, el tratamiento electivo es la enterolisis total (81,82), una intervención quirúrgica que libera las adherencias y el tejido fibrótico del peritoneo visceral de las asas intestinales, revirtiendo la obstrucción intestinal. Sin embargo, esta intervención requiere de un equipo quirúrgico experimentado y no está exenta de una alta tasa de mortalidad y recurrencia (83).

1.3.1 Factores de riesgo y Pre-EPS

La complejidad de esta entidad hace que la búsqueda científica se centre en adelantar el diagnóstico lo más posible a etapas reversibles del proceso estructural y funcional de la EPS.

Así, el objetivo es identificar tanto factores predisponentes y/o tempranos como pacientes de alto riesgo, ante los que poder adelantar estrategias terapéuticas ya conocidas, o plantear abordajes preventivos no bien desarrollados hasta ahora.

Aunque su progresión desde procesos fibróticos no está establecida, se considera que el tiempo de tratamiento dialítico con soluciones no biocompatibles (>4 años) es el principal

determinante para el desarrollo de EPS, a lo que se le suman la edad joven, las peritonitis asociadas (sobre todo graves o de larga duración), la exposición a altas cargas de glucosa y sus PDGs, y el proceso de MMT que perpetúa los cambios estructurales y funcionales de la membrana (13,42,43,68,74,84).

Un estudio reciente que incluyó 679 pacientes tratados con DP (66), consideró pacientes de alto riesgo de desarrollo de EPS aquellos que presentaran al menos 2 de las siguientes condiciones:

- Al menos 3 años en DP
- Historia de peritonitis recurrentes o severas (incluyendo todos los episodios en los que fue preciso retirar el catéter peritoneal bajo condiciones inflamatorias)
- Fallo de UF adquirido o alto transporte de membrana no inherente (presente más allá del primer año en DP)
- Alta exposición a glucosa y PDGs (uso mayoritario de soluciones dialíticas con concentración de glucosa 2.27% con irregular manejo de volumen)
- Hemoperitoneos severos o de repetición

Estos pacientes, considerados de alto riesgo de desarrollo de EPS, fueron incluidos en un nuevo estadio denominado Pre-EPS o EPS-prone (66); y en este contexto fueron tratados con medidas preventivas para desarrollar EPS como la suspensión temporal del tratamiento con DP o la profilaxis con tamoxifeno.

Además de los factores clínicos y de riesgo peritoneal, circunstancias ajenas a la realización de DP se han asociado con un mayor riesgo de desarrollo de EPS. Un estudio prospectivo multicéntrico realizado en Japón en 2004, constató que el 69% de los casos de diagnóstico de EPS suceden una vez abandonado el programa de DP (74). Es posible por tanto, que pese a que el tratamiento con DP supone el principal factor de riesgo de desarrollo de EPS, los lavados peritoneales puedan por otro lado disminuir la potencial acumulación de los factores implicados en su desarrollo (29,85).

En no pocos casos, el diagnóstico de EPS posterior al cese del tratamiento con DP se produce en el seno de un trasplante renal (29). El mecanismo por el que el trasplante renal parece asociado al desarrollo de EPS no está totalmente definido, pero algunos autores apuntan a un

efecto profibrótico de la medicación inmunosupresora empleada. Los inhibidores de la calcineurina (tacrólimus y ciclosporina) promueven una sobreexpresión de TGF- β y otros factores fibrogénicos (86). Así, en modelos experimentales de ratón, la ciclosporina asociada a la exposición a soluciones de DP se asoció con un aumento de fibrosis peritoneal y angiogénesis (87).

1.3.2 EPS: fisiopatología y teoría del “segundo golpe”

La etiología de la EPS en DP no está totalmente aclarada hasta la fecha, siendo probable una participación multifactorial de agentes predisponentes y desencadenantes; en la que intervendrían procesos intercurrentes (peritonitis, tiempo de exposición a DP, soluciones bioincompatibles...) sobre probables factores genéticos predisponentes, todos ellos relacionados entre sí y potenciadores unos de otros (13,66,74,84). Además, se han descrito casos de EPS no asociada a DP en contexto de enfermedades autoinmunes como la sarcoidosis, neoplasias malignas peritoneales y quimioterapia peritoneal, agentes agresivos como clorhexidina e infecciones como la tuberculosis peritoneal (29,72).

Al igual que en el caso del remodelado peritoneal profibrótico, los principales agentes implicados en el desarrollo de EPS radicarían en la bioincompatibilidad de las soluciones de DP ricas en PDGs /AGEs y en la inflamación basal asociada a DP y sus agudizaciones (peritonitis, hemoperitoneos graves...). Su evolución clínica se traduciría en UFF y alteraciones del transporte peritoneal iniciales que, en última instancia se asocian con daños estructurales irreversibles que conducen al cortejo de sintomatología GI y sistémica previamente descrita (88).

Sin embargo, la mayoría de los autores coinciden en que el proceso de EPS no parece una continuidad o progresión sencilla de la fibrosis o esclerosis peritoneal simple (en inglés simple peritoneal sclerosis o SPS).

Los procesos de SPS incluyen un amplio rango de fibrosis peritoneal de aparición y evolución progresiva y considerada potencialmente reversible, que no produce encapsulamiento ni “cocoon”. Sin embargo, el desarrollo de EPS supone un cambio no sólo cuantitativo sino cualitativo hacia un proceso no reversible, con un probable umbral de no retorno (15), y modificaciones estructurales histopatológicamente distintas de las de SPS (31,89).

En la SPS se producen los fenómenos descritos previamente entre los que destacamos MMT, principalmente a través de TGF β , como uno de los principales perpetuadores del proceso de fibrosis peritoneal incluyendo sobreexpresión de VEGF, aumento de matriz extracelular, producción de colágeno tipo 1, fibronectina y factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), inhibición de la capacidad fibrinolítica del plasminógeno activado 1 (PA-1) mediante su inhibidor natural PAI-1 y la activación de fibroblastos quiescentes. De hecho, el bloqueo de TGF β es capaz de minimizar el proceso profibrótico sufrido por la membrana peritoneal expuesta a tratamiento dialítico con DP, como se comprobó en modelo animal de ratón (49).

En las biopsias peritoneales de EPS, respecto de las obtenidas de SPS, predomina un engrosamiento de la región submesotelial de baja celularidad, vasculopatía con oclusión y calcificación arterial, angiogénesis, aumento del tamaño de fibroblastos y de depósito de fibrina, y una mayor infiltración mononuclear (29–31). En estudios de inmunohistoquímica cabe destacar, además, una mayor expresión de podoplanina (un marcador endotelial linfático expresado por las células mesoteliales) y VEGF en biopsias peritoneales de EPS (31).

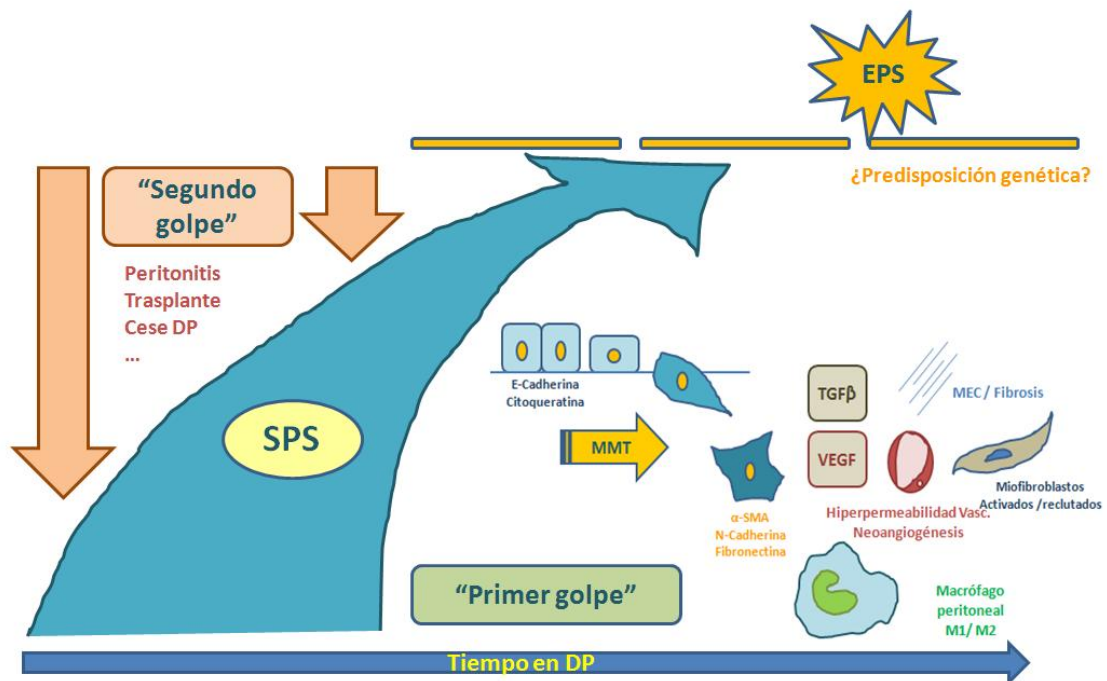
Recientemente se ha descrito la predominancia de células T CD4 + y macrófagos M2 en el infiltrado peritoneal de los pacientes con EPS (90), en la que nos detendremos más adelante.

El paso de la SPS, potencialmente reversible, al desarrollo de EPS no está aún esclarecido. La dificultad para simular la entidad de EPS en el modelo murino ha condicionado parte del complejo estudio de la misma (15). Actualmente la mayoría de los autores defienden la teoría del “*doble golpe*” o “*two hit*” (15,30), en la que dos agresiones son necesarias para el desarrollo de EPS. Un primer factor (“*first hit*” o “*primer golpe*”) actuaría como predisponente, como lo son la exposición prolongada a las soluciones de DP y el proceso de MMT y fibrosis hacia SPS. Sobre este, un segundo daño (“*second hit*” o “*segundo golpe*”), actuaría como un factor desencadenante o precipitante. Así, un factor inflamatorio agudo (como pudiera ser una peritonitis) sobre una membrana ya dañada, haría sobrepasar un umbral (probablemente determinado por una predisposición genética individual, entre otros) que condicionara el paso a EPS.

La denudación peritoneal que supone la MMT (“*primer golpe*”) aumenta la liberación de fibrina y factores procoagulantes, que se ve incrementada por las citoquinas inflamatorias de los procesos infecciosos asociados capaces de activar fibroblastos peritoneales, conduciendo finalmente a la producción de adherencias y cápsula de fibrina.

El desarrollo de EPS dependería del daño total causado por las dos agresiones y se desencadenaría una vez superado un umbral que, probablemente, dependa también en parte de la predisposición genética de cada paciente. De esta forma, a medida que el tiempo de exposición a la técnica aumenta (“primer golpe”), es menor la agresión requerida asociada (“segundo golpe”) para superar ese umbral y desencadenar el proceso de EPS. (15,30). La Figura 6 describe esta teoría.

Figura 6. Esquema de la teoría del segundo golpe: fisiopatología probable de la EPS.



1.4 Biomarcadores del proceso de fibrosis / EPS y remodelado peritoneal: vías de acción

La implicación de las citoquinas inflamatorias y factores profibróticos (derivados de la exposición a soluciones bioincompatibles y episodios inflamatorios) en el remodelado peritoneal hacia la fibrosis, las convierte en potenciales marcadores del mismo, objeto de estudio diagnóstico y de valoración terapéutica.

Recientes estudios han tratado de identificar los principales biomarcadores del proceso de remodelado peritoneal profibrótico y, en especial, del desarrollo posterior de EPS (29,41,91,92).

1.4.1 Citoquinas inflamatorias y remodelado peritoneal

La gran mayoría de moléculas e IL inflamatorias se han abordado desde el punto de vista de las peritonitis intercurrentes sobre un proceso inflamatorio basal.

La agresión producida por soluciones bioincompatibles, PDGs y AGEs derivados y la exposición a la técnica de DP, producen una sobreexpresión de citoquinas inflamatorias en el efluente peritoneal como son IL-6, IL-8 e IL-1. En varios estudios, IL-6 se ha propuesto como marcador de un incremento en el transporte de solutos a través de la membrana, en un contexto inflamatorio que predispone además a la progresión de la fibrosis peritoneal (54,93). Las interurrencias inflamatorias agudas sobre una base de estado inflamatorio, o la no resolución de las mismas, suponen además un potenciador del efecto profibrótico de estas citoquinas inflamatorias (94).

El daño sobre la célula mesotelial peritoneal inicia la cascada de citoquinas inflamatorias; y éstas, a través del factor nuclear de transcripción de células T activadas (NFAT5), promueven la inducción del factor nuclear kappa de la célula B (NFkB) encargado del reclutamiento de monocitos/macrófagos de finalidad reparadora y de cese del proceso inflamatorio agudo, tal y como describimos en el apartado de 1.2.2 (peritonitis). De esta manera, la implicación de los macrófagos en los procesos inflamatorios es doble, inicialmente serán predominantes los macrófagos clásicamente activados (M1), con función defensiva, para dar paso posteriormente a la activación alternativa de los mismos (M2), de acción reparadora y profibrótica.

Detallaremos más adelante el papel de los M2 en la fibrosis peritoneal a través de una de sus citoquinas, CCL18, relacionada con procesos de fibrosis sistémica y peritoneal, y de valor pronóstico para el desarrollo posterior de EPS y fallo de membrana (95,96)(como describiremos en los apartados 1.5 y 1.6.)

Otra de las vías inflamatorias implicadas, también valorada en el seno de agudizaciones inflamatorias o peritonitis agudas, es la del factor de necrosis tumoral de inducción leve de apoptosis (TWEAK)/Fn14 (41,97). TWEAK se ha asociado a la perpetuación de inflamación peritoneal a través de la inducción de la activación clásica de macrófagos peritoneales (M1). Valores elevados de TWEAK se han asociado con un detrimento de la curación de los procesos de peritonitis intercurrentes y con una mayor lesión mesotelial (97). Por otra parte, la lesión inflamatoria sobre la célula mesotelial que sobre expresa Fn14 y TWEAK sobre éstas, induce la producción de citoquinas que dependen de NFkB. Una de estas citoquinas es CCL21, potencialmente implicada en el proceso de fibrosis peritoneal a través de su efecto sobre el fibrocito (41).

Recientemente se ha descrito otro sistema inflamatorio implicado: Th17/IL-17, ya descrito en otros procesos inflamatorios sistémicos como parte de la inmunidad de respuesta a los mismos (98). Valores de IL-17 elevados se han descrito en efluente peritoneal de pacientes de larga estancia en DP y su expresión en biopsia peritoneal se asocia con infiltración inflamatoria. Destacamos además, los recientes hallazgos sobre la implicación de IL-17 y de su promotor el antígeno leucocitario CD69 en el proceso de fibrosis peritoneal y MMT (99,100).

Marcadores añadidos a VEGF, pueden traducir el aumento de permeabilidad vascular asociada a procesos inflamatorios. Así, moléculas como eNOS (endotelial oxido nítrico sintetasa) y ROS, producidas por la célula endotelial en contexto de su exposición a soluciones bioincompatibles y glucosa, se han descrito como elemento implicado en el transporte de solutos (9,11).

El daño de las células endoteliales, representado por el cociente entre el diámetro de la luz vascular (L) y el diámetro del vaso (V) (ratio L/V), puede ser un nuevo hallazgo predictivo del desarrollo de EPS, sobre todo en pacientes de larga permanencia en DP sin peritonitis (101).

Pero además, las citoquinas inflamatorias se acompañan de la producción de TNF- α , PDGF, VEGF y por supuesto TGF- β , potenciando y promoviendo el remodelado profibrótico a través de MMT (11,29). Y, en el mismo sentido, la expresión de moléculas implicadas en la regulación de peritonitis agudas como el sistema MCP-1/CCR2, encargado del reclutamiento de monocitos en la resolución de las mismas, se ha asociado en modelo murino a la perpetuación

de MMT y fibrosis peritoneal con síntesis de matriz extracelular vía TGF- β (41,102). De manera que, la vía inflamatoria y la vía profibrótica, están constantemente intrincadas.

1.4.2 Factores profibróticos

Al antígeno de cáncer 125 (Ca-125) se ha asociado la viabilidad de las células mesoteliales se ha asociado, y valores descendidos de Ca-125 recientemente se han asociado a fallo de membrana peritoneal y han sido propuestos como factor pronóstico del cese de DP (103,104). Son estas células mesoteliales y su transformación MMT, las principales desencadenantes de los procesos de remodelado peritoneal.

La MMT deriva en procesos de fibrosis peritoneal mayoritariamente a través de TGF- β , como se ha demostrado *in vivo* e *in vitro* (105,106), y sus cascadas de activación a través de vía Smad dependiente (implicada en la mayoría de acciones profibróticas de TGF- β) o Smad independiente (41). La superfamilia de TGF- β incluye las isoformas de la misma y proteínas morfogénicas óseas (BMPs).

La vía TGF- β 1/Smad es la principal implicada en el proceso de fibrosis peritoneal. Tras la unión de TGF- β 1 a su receptor celular, se activa la vía Smad2/3 que forma un complejo con Smad4 para producir su señal a través de translocación nuclear (9,14). La vía TGF- β 1/Smad3 se ha visto implicada en procesos de fibrosis renal, cardíaca y hepática. En fibrosis peritoneal, Smad3 ha demostrado su asociación con procesos de fibrosis en modelo murino, sin embargo Smad2 parece jugar un papel protector en los procesos de fibrosis renal y peritoneal en este mismo modelo animal (107,108). En la vía Smad encontramos una proteína reguladora Smad7, capaz de inhibir la fosforilación de Smad2/3 o de degradar el receptor de TGF- β (9,109). La sobreexpresión de Smad7 se ha asociado con un descenso de fibrosis peritoneal, grosor de la matriz extracelular y angiogénesis, a través de un descenso de VEGF y de la densidad microvascular (110–112). Valores aumentados de Smad7 se han asociado, además, con un descenso de PAI-1, PDGF y NF κ B (41,113).

Las principales vías efectoras de TGF- β independientes de Smad son PKC (proteína quinasa-C), ERK (quinasa reguladora extracelular), JNK (quinasa Jun N-terminal), PI3K (fosfatidil inositol quinasa 3) y AKT (quinasa activadora de serina/treonina). Unidas a la vía Smad, potencian la acción profibrótica de TGF- β , reduciéndola si están inhibidas, y siendo por tanto necesarias ambas para perpetuar el daño de MMT/ TGF- β (41,114).

Otro de los actores principales en MMT es la sobreexpresión de VEGF. Además de su efecto sobre la angiogénesis y permeabilidad vascular, VEGF se ha visto también implicado en el grosor mesotelial, con un descenso del mismo, y de la vasculopatía asociada a EPS en modelo murino, con implicación directa sobre el proceso fibrótico de EPS (115).

El sistema renina – angiotensina –aldosterona (SRAA) se activa con los procesos inflamatorios y la exposición a soluciones de DP, pudiendo perpetuar el proceso de MMT desde la célula mesotelial e incrementar su vía a través de la sobreexpresión de TGF- β inducida por SRAA. La activación de SRAA se traduce en un aumento de la matriz extracelular, neoangiogénesis y fibrosis peritoneal secundarias a MMT inducida (116).

El proceso profibrótico peritoneal se traduce en un aumento de fibrina en la matriz peritoneal que conduce a la formación de fibrosis y adherencias peritoneales. La plasmina juega un importante papel regulador de este proceso, no sólo degradando la fibrina, sino como parte implicada en la renovación de la matriz extracelular y en la activación de las metaloproteasas de la misma. La plasmina se forma a través de la activación del plasminógeno mediante activadores tisulares (tPA), que puede ser inhibida a través de los inhibidores del plasminógeno 1 (PAI-1) y 2 (PAI-2) (29). En el proceso de MMT y fibrosis peritoneal las células mesoteliales expresan PAI-1 y 2 como promotores de una disregulación a favor del depósito de fibrina, implicada en la formación de adherencias y de la capa fibrótica, que posiblemente contribuya al desarrollo de EPS (29,117).

Ya en 1992 se describe que los valores de los coeficientes de saturación peritoneales de tPA/PAI son más altos de lo esperado por su peso molecular, lo que sugería producción local (118). Pero entonces no pudo confirmarse una asociación de los mismos con los cambios funcionales de la membrana peritoneal (118). Sin embargo, recientemente se ha destacado PAI-1 como molécula pronóstica asociada a un mayor riesgo de desarrollo de EPS (92). Valores de PAI-1 elevados en efluente de pacientes en DP se han asociado significativamente con el desarrollo posterior de EPS, hasta 3 años antes de la presentación o diagnóstico de la misma (92).

Al igual que PAI-1, la metaloproteasa 2 (MMP-2) también está involucrada en el equilibrio fibrótico, y valores elevados de MMP-2 se han asociado igualmente con fibrosis peritoneal (92).

1.4.3 Otros biomarcadores: predisposición y marcadores genéticos

El análisis transcriptómico del tejido peritoneal de los pacientes con EPS ha encontrado 219 genes diferenciales de esta entidad, en relación con pacientes urémicos o en tratamiento con DP sin EPS (119). La expresión de los genes detectados se relaciona con vías de presentación de antígeno, maduración de células dendríticas (DC), desarrollo de célula B, señalización de quimioquinas e inmunidad celular y humoral.

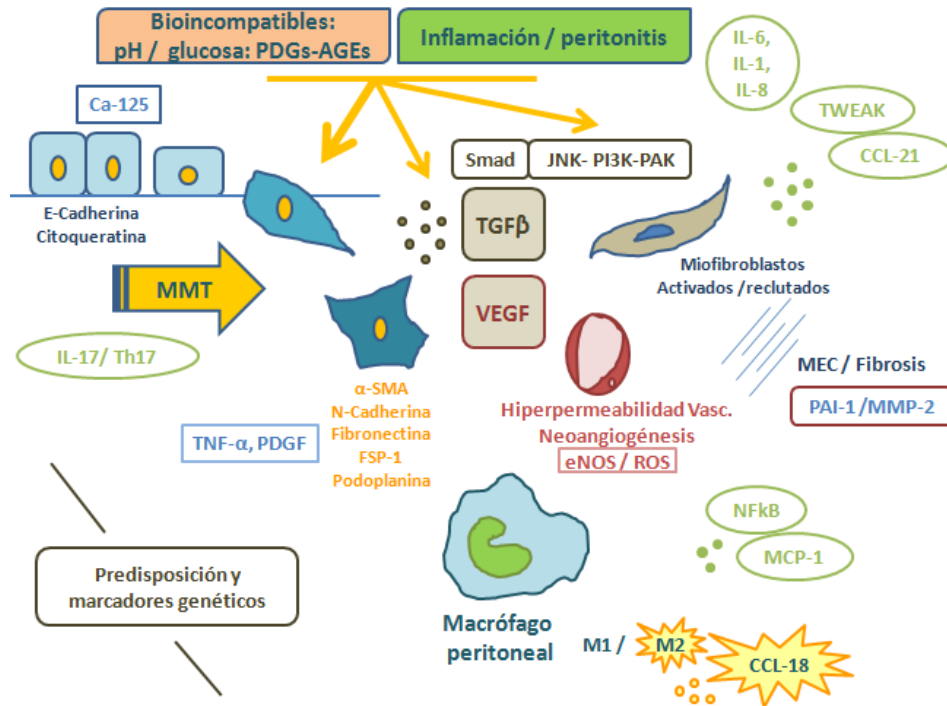
Los pacientes con EPS presentan una elevada proporción de genes que codifican sulfatasa 1, trombospondina 1, fibronectina 1 y α -SMA, con disregulación de la proteína 4 de unión a retinol (119). La inmunolocalización de la proteína colágeno 1 α -1, revela una posición mayoritaria de la misma en la región compacta submesotelial en el caso de los pacientes con EPS, mientras que en los pacientes sin EPS se muestra de forma difusa y homogénea. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que el proceso histológico de la EPS es diferente del de la fibrosis simple.

Estudios previos histológicos demuestran los cambios cualitativos de la composición del colágeno intersticial así como la disposición y composición estructural de la capa fibrótica característica de EPS, compatibles con los datos de expresión genética actuales (41,120).

Por otra parte, existe una evidencia creciente acerca de la implicación de los fragmentos no codificantes de RNA en el desarrollo de procesos patológicos dependientes de la expresión génica. Los microRNA (miRNA), pequeños fragmentos de RNA no codificante encargados de la degradación de mRNA o de la inhibición de la expresión proteica, se han visto implicados en procesos fibróticos (121) mediados por TGF- β . La sobreexpresión de miR29 y miR30 ha demostrado jugar un papel protector y preventivo del proceso de fibrosis peritoneal, mediado por MMT y de su disfunción de membrana asociada (122,123). Los fragmentos largos de este RNA no codificante (lncRNA) se han detectado también en análisis de microarrays llevados a cabo en efluente de fibrosis peritoneal en modelo de ratón (124), indicando su probable participación en el proceso de fibrosis peritoneal (41).

Se muestran en esquema en la Figura 7 las principales vías y potenciales agentes implicados en el desarrollo de fibrosis peritoneal.

Figura 7. Esquema de desarrollo del proceso profibrótico de la membrana peritoneal y agentes, vías de acción y potenciales biomarcadores implicados



De entre los que destacaremos a continuación el papel del macrófago peritoneal alternativamente activado (M2) y una de sus citoquinas profibróticas, CCL18; como agentes implicados en el remodelado profibrótico peritoneal y potencial biomarcador del mismo.

1.5 El macrófago peritoneal

El macrófago es la célula externa más abundante en el peritoneo normal y en diálisis estable, y se ha descrito un aumento del número de macrófagos activados en tejido peritoneal en tratamiento con DP, incluyendo las acumulaciones en torno a redes vasculares en el epiplón, conocidas como “milky spots (11).

Múltiples estudios han tratado sin éxito de relacionar número y actividad de estas células con la incidencia de infecciones peritoneales de los pacientes (125,126), sin poder relacionarlos con la capacidad defensiva del peritoneo. Sin embargo, se ha demostrado en la última década que son factores claves en la constelación celular peritoneal con capacidades diferentes según su entorno de diferenciación.

Como ya describimos en el proceso evolutivo de las peritonitis, el reclutamiento de macrófagos peritoneales puede sucederse en dos contextos; defensivo (M1) y reparador (M2). La diferenciación de los macrófagos en una activación clásica defensiva (M1) o alternativa reparadora (M2) depende del entorno de citoquinas que los rodee en el ambiente peritoneal, y esta diferenciación suele ser un proceso dinámico y reversible.

En la Figura 8 se muestra la potencial diferenciación del macrófago peritoneal (95,127) según su entorno:

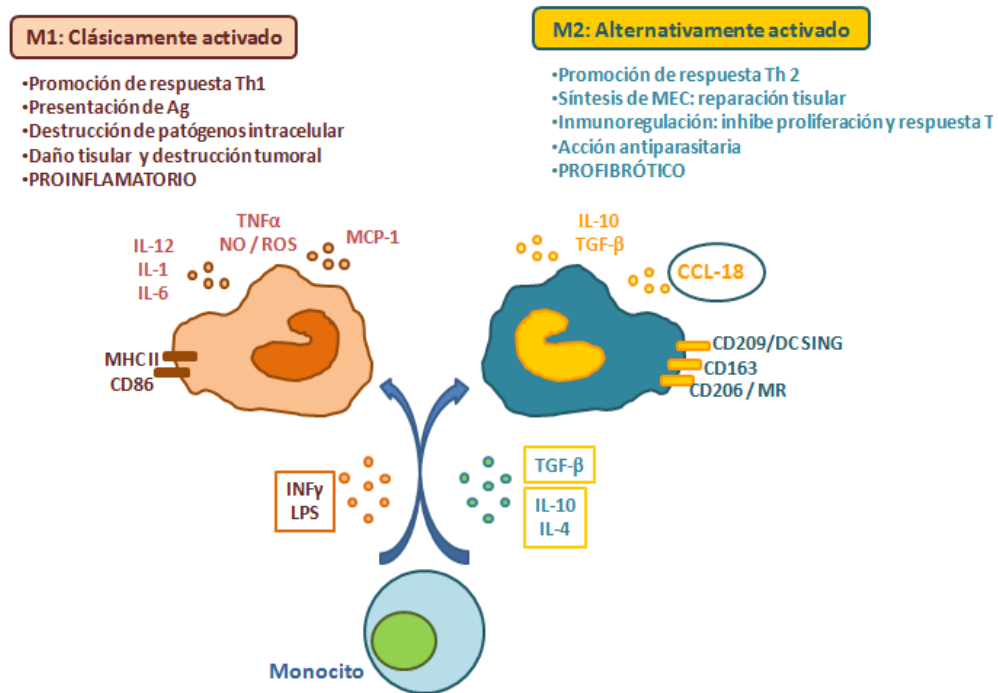
- macrófago tipo 1 o clásicamente activado (M1), de acción defensiva
- macrófago tipo 2 o alternativamente activado (M2), de acción reparadora-profibrótica

Un estímulo donde predominen ligandos y lipopolisacáridos bacterianos (LPS), con inducción de citoquinas “T helper 1” (Th1) o IFN- γ , dará lugar a una activación clásica del macrófago (M1) con un papel eminentemente defensivo, cuyos marcadores de membrana son las moléculas de histocompatibilidad clase II (MCH II) y CD86 (26,95,128).

Sin embargo, un estímulo mediado por respuesta “T helper 2” (Th2), IL-4, IL-10, inmunocomplejos, glucocorticoides o TGF- β , dará lugar a un macrófago alternativamente activado (M2), con un papel reconocido en la reparación tisular y la fibrosis mediado por citoquinas profibróticas como CCL18 y con capacidad de estimular la proliferación celular y la síntesis de colágeno. Sus principales marcadores de membrana son el receptor de manosa CD206 (MR/CD206) y CD163 (95,128,129).

In vivo, M1 y M2 son contemplados como los dos extremos de la continua diferenciación y modificación de los macrófagos, dentro de la plasticidad y heterogeneidad que caracteriza esta línea celular (128,130)

Figura 8. Esquema de la potencial diferenciación de los macrófagos peritoneales según el estímulo recibido [Modificado de T.Bellón et al 2011 (95)].



El macrófago clásicamente activado (M1) se ha visto involucrado en la respuesta defensiva y ha sido estudiado en procesos de peritonitis en respuesta a uno de los agentes ya mencionados en el remodelado de la membrana peritoneal: TWEAK. Se ha observado que TWEAK es capaz de perpetuar el proceso de inflamación peritoneal a través de la activación clásica de macrófagos peritoneales M1 que deriva en una inflamación patológica, con detrimento de la curación de los procesos de peritonitis intercurrentes y con una mayor lesión mesotelial (97).

Sin embargo, en el remodelado profibrótico peritoneal, son los macrófagos M2 los agentes principalmente implicados como comentaremos más adelante. Recientemente, además, se ha evidenciado un infiltrado predominante de células CD4+ y M2 (CD 163+) en el peritoneo de los pacientes con EPS y por tanto una muy probable implicación fisiopatológica de los mismos en este proceso (90).

1.5.1 El macrófago alternativamente activado (M2)

La caracterización de los M2 se ha realizado *in vitro* tras el tratamiento de monocitos aislados de sangre periférica con IL-4, IL-13, IL10 o M-SCF. Estas citoquinas inducen un patrón de expresión diferencial de receptores de membrana en los M2, tales como DC-SIGN/CD209 (molécula de adhesión intercelular específica dendrítica), receptor de manosa (MR/CD206), CD23 y CD163. Los M2 secretan quimioquinas como CCL17 y CCL18, así como varios factores profibrogénicos y angiogénicos como TGF β y PDGF (95,131).

In vivo, los M2 y su expresión de CCL18, han sido identificados en diferentes situaciones como en muestras de lavado broncoalveolar, tejido pulmonar de pacientes con esclerodermia o fibrosis pulmonar idiopática (132,133) y sarcoidosis neuromuscular (134). Así mismo han sido encontrados en infecciones causadas por parásitos (135), siendo ineficaces en la defensa primaria clásica; como se observó en el modelo de sepsis murina por E Coli, que demostró que los macrófagos procedentes del peritoneo de aquellos ratones que presentaron síndrome de respuesta inflamatoria (SIRS) severo presentaban propiedades típicas de M2 (136). La sobreexpresión de proteínas de la MEC en los macrófagos M2, sugiere que éstos podrían intervenir en el depósito de MEC y remodelación del tejido durante la fase de recuperación de reacciones inflamatorias agudas y en enfermedades inflamatorias crónicas (131), dada la capacidad reparadora-profibrótica que se les atribuye.

Se han identificado grandes cantidades de mRNA y proteínas de múltiples factores profibróticos y quimioquinas, comparado con controles normales, en la producción de estos M2. Estos factores y citoquinas incluyen TGF β , CTGF, PDGF, oncostatina M (OSM), MCP-1 y CCL18, también denominada AMAC-1 (CC quimioquina asociada a macrófago alternativamente activado) o PARC (quimioquina de activación y regulación pulmonar); que están implicados en procesos de fibrosis tisular a múltiples niveles (90,95,133)

Los macrófagos M2 se consideran por todo esto un elemento clave en el proceso de fibrosis mediada por inflamación crónica, capaz de estimular la fibrosis a través de sus citoquinas y de regular la matriz extracelular a través de algunas MMP (137).

Existe además un potencial efecto del M2 sobre la angiogénesis y su relación con los AGEs, implicados en la patología de la membrana peritoneal. La posibilidad de estimular M2 a través de AGEs, abriría posibilidades interpretativas nuevas. Los AGEs inducen la expresión de VEGF, TNF- α , IL-8 y TGF- β por macrófagos en función de la duración de la estimulación y los tipos de productos glicosilados implicados; contribuyendo así a complicaciones vasculares por la regulación

de procesos angiogénicos, inflamatorios y procoagulantes (138). Además, los M2 han demostrado capacidad estimuladora de la proliferación de células endoteliales (96).

1.5.2 El macrófago peritoneal alternativamente activado (M2) y el remodelado peritoneal

Una vez demostrada la respuesta Th-2 en DP (139) y dada la implicación fibrótica de los macrófagos M2, los estudios se dirigen a profundizar en la expresión de M2 en el peritoneo y su relación con el proceso de remodelado de la membrana peritoneal.

En 2011, en un estudio (95) llevado a cabo sobre 74 pacientes en DP, se demostró la existencia de M2 en peritoneo humano, con o sin episodios de peritonitis asociada, independiente del tiempo de permanencia o del líquido de diálisis. Mediante análisis *ex vivo* de efluente peritoneal, fue comprobado el fenotipo característico de M2 a través de la comprobación de la expresión de sus marcadores de membrana (CD206, CD163 y CD209), la producción de quimioquinas propias como CCL18 y la expresión de genes profibrogénicos y angiogénicos como TGF- β y PDGF (95).

La expresión de M2 ha sido estudiada también en procesos de peritonitis en este mismo estudio (95) con expresión aumentada de sus marcadores, evidenciada a través de la expresión de CD163+. Existe además un predominio de esta población en torno al segundo-tercer día del proceso de peritonitis, momento esperado según el proceso previamente descrito de recambio celular desde los PMN a los monocitos en el evolutivo de una peritonitis hacia la resolución de su inflamación aguda. [Apartado 1.2.2]

Por otra parte, se ha evidenciado un infiltrado predominante de células CD4+ y M2 en el peritoneo afecto por EPS (90), lo que supone la confirmación de la implicación fisiopatológica de estas células en el remodelado peritoneal profibrotico y las separa del proceso de SPS, pudiendo ser uno de los elementos diferenciales de ambos procesos fibróticos peritoneales.

Finalmente, la evidencia de células CD4+ en EPS hace plausible la teoría de que un reclutamiento peritoneal de las mismas juegue un papel en la patogénesis de EPS. Las células T CD4+ tienen un papel relevante en la síntesis de colágeno dada la producción de citoquinas

profibróticas, además la respuesta Th2 condiciona una activación alternativa de los macrófagos hacia M2 y funciones de reparación y fibrosis (140).

La implicación profibrótica de los M2 se basa fundamentalmente en la expresión de TGF- β 1 y CCL18, citoquina implicada en múltiples procesos fibróticos sistémicos. En los M2 peritoneales humanos de pacientes en DP ambas producciones han sido evidenciadas (95).

La expresión de TGF- β 1 se ha descrito en efluente peritoneal, sobre todo de pacientes de DP con peritonitis (95,141), y su asociación con procesos profibróticos peritoneales ya ha quedado descrita junto con su implicación en la producción de colágeno y crecimiento de la matriz fibrótica (41,105,106,142). Sin embargo en el caso de los macrófagos, el principal potenciador es la activación del TGF- β 1 latente, un proceso catabolizado por varios agentes entre los que se encuentra la metaloproteasa MMP-9, cuya expresión es a su vez inducida por TGF- β 1 (95,143). En humanos, se ha confirmado una expresión significativamente asociada de MMP-9 a M2 peritoneal en efluentes de pacientes en DP, tanto en situaciones no infecciosas como en procesos de peritonitis, donde su expresión estaba muy aumentada (95).

La estimulación de fibroblastos humanos por M2 ha sido demostrada en varias líneas celulares (como IMR-90, WI-38, fibroblastos primarios) (95,144), y esta activación, dependiente de M2 sobre la población de monocito-macrófago, se ha demostrado recientemente también sobre los fibroblastos peritoneales (95) en pacientes en DP, con o sin peritonitis asociada.

La capacidad de M2 para estimular fibroblastos peritoneales está mediada por la expresión de su citoquina CCL18, como se demostró en el estudio realizado sobre efluente peritoneal de 74 pacientes en DP (95). Además, se observó *in vitro* que la adición de CCL18 recombinante a cultivos celulares fue capaz de estimular las líneas de fibroblastos primarios estudiadas (95).

CCL18 es una citoquina profibrótica ya estudiada y relacionada con procesos fibróticos sistémicos como el de la fibrosis pulmonar idiopática, en el que se relaciona además con evolución funcional y mortalidad (133). En peritoneo su estudio hasta la fecha es muy limitado.

1.6 CCL18: una citoquina profibrótica sistémica y peritoneal

CCL18 o CC quimioquina ligando 18, es un polipéptido de 89 aminoácidos, que pertenece a la familia de las CC quimioquinas. Se expresa en el cromosoma 17q11,2. También se denomina AMAC-1 (CC citoquina 1 asociada a macrófago alternativamente activado), haciendo referencia a su origen, o PARC (citoquina pulmonar activadora reguladora), en relación con la entidad donde tal vez haya sido más estudiada: la fibrosis pulmonar idiopática (133,145).

Desde sus primeras descripciones, CCL18 se ha considerado una citoquina tanto constitutiva/homeostática, como inducible. Desde un punto de vista constitutivo CCL18 presenta valores de relevancia en plasma normal (en torno a 20ng/ml) y una probable baja excreción o aclaramiento de la proteína circulante. Desde un punto de vista de citoquina inducible, la producción de CCL18 por monocitos/macrófagos M2 y células dendríticas (DC) está sujeta a los estímulos, respuesta T, e inductores o inmunosupresores, a los que éstos estén expuestos.

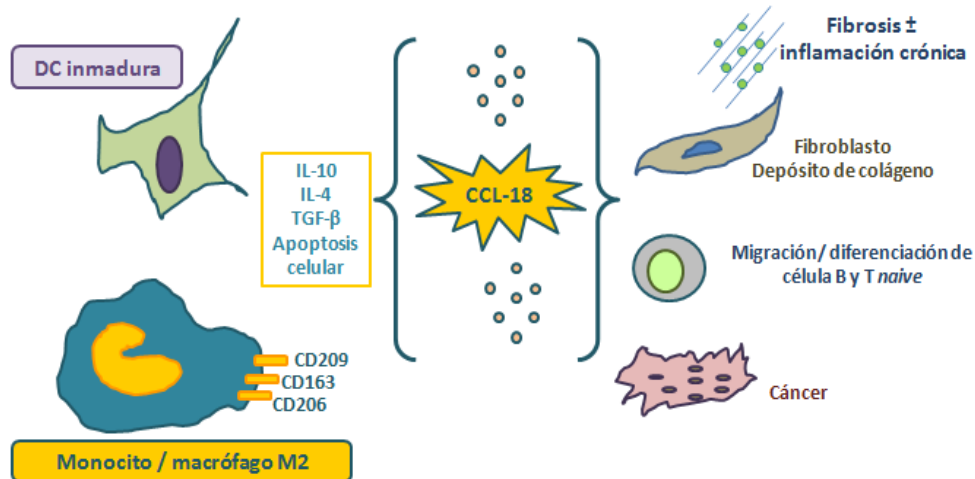
Inducida por monocitos-macrófagos alternativamente activados (M2) y por DC mayoritariamente, CCL18 ha presentado una capacidad constitutiva o profibrótica en la mayoría de las patologías en las que se ha visto implicada. CCL18 mayoritariamente condiciona una respuesta reparadora-profibrótica con inflamación patológica mantenida y un reclutamiento adicional de monocitos, linfocitos y DC, con implicación de las vías Th2. Sin embargo, en las menos ocasiones, también ha sido descrito como agente antiinflamatorio con implicación Th1 (145).

CCL18 se ha visto implicada en procesos relativos a alteraciones inflamatorias crónicas de la piel, tejido conectivo y pulmón que derivan en procesos profibróticos, patologías de depósito y tumores sólidos o hematopoyéticos entre otros. CCL18 es capaz de estimular el depósito de colágeno mediado por fibroblastos, perpetuar respuestas inflamatorias profibróticas, participar de los mecanismos de diferenciación de célula T y B *naïve* y estar implicado en la respuesta inmune cancerígena [Figura 9] (145).

En los procesos tumorales en los que ha sido descrita, CCL18 se ha visto asociada a M2 (como es el caso del carcinoma de ovario, sin poder descartar participación de DC) y se ha valorado en algunos como agente protector que marca pronóstico (como es el caso del cáncer gástrico en el que supone un factor de buen pronóstico independiente del estadio tumoral [(146)]) dada la respuesta antitumoral inmunitaria generada. En procesos hematopoyéticos (Leucemia infantil) también se ha asociado a estímulo M2/IL-4 y en enfermedades de depósito, como es

el caso de la enfermedad de Gaucher, se ha observado que los macrófagos cargados de glicolípidos o células de Gaucher, responden al fenotipo del M2 (145).

Figura 9. Esquema de síntesis y potenciales acciones de CCL18 [Modificado de Schutyser et al 2005 (145)]



1.6.1 CCL18 y fibrosis

CCL18 se ha visto implicada en procesos inflamatorios crónicos que conducen a fibrosis secundaria tras la perpetuación de los mismos, mediados por la acción de monocito/macrófago y linfocitos como es el caso de la Hepatitis C, la arterioesclerosis derivada de procesos de vasculitis y enfermedades linfocitarias como la enfermedad de Sjögren (145).

Sin embargo, el modelo de fibrosis donde CCL18 ha sido más ampliamente estudiada es en caso de la Fibrosis Pulmonar Idiopática.

- Fibrosis Pulmonar

En Fibrosis Pulmonar Idiopática (FPI) se ha evidenciado la presencia de CCL18 y su producción se ha demostrado dependiente de estímulo M2 (IL-10, IL-4) y no dependiente del fibroblasto pulmonar (133).

En los estudios llevados a cabo en esta entidad (FPI), se objetivó que la acción profibrótica de CCL18 no parecía depender de la producción de TGFβ (133,147), puesto que el aumento de

colágeno secundaria a su expresión se llevó a cabo sin cambios en la producción o expresión de TGF β 1, 2 o 3. Según los hallazgos, parece que CCL18 en fibrosis pulmonar activa la producción de colágeno en los fibroblastos pulmonares a través de una vía dependiente de Sp1 que también requiere de la actividad de las vías Smad3, PKC α y ERK2 (133,147).

Sin embargo, TGF- β , al igual que la apoptosis de célula T, es capaz de activar alternativamente los macrófagos (como se ha descrito con los M2 peritoneales) y con ellos producirse un incremento de CCL18 secundario a M2 (95).

La importancia de CCL18 en Fibrosis Pulmonar Idiopática radica principalmente en su capacidad de predecir evolución, en términos de supervivencia del paciente y de evolución de parámetros funcionales (133), con un umbral patológico en suero por encima de 150ng/ml.

- Fibrosis Renal

Se ha evidenciado la implicación del proceso de MMT también en fibrosis renal; lo que sugiere que las vías implicadas descritas a nivel peritoneal pudieran suceder potencialmente también a nivel renal (148).

La implicación de TGF- β en los procesos de fibrosis renal está bien establecida y numerosos estudios avalan la expresión de los receptores y ligandos requeridos en la mayoría de las células renales, incluyendo la expresión del receptor de TGF- β en los pericitos renales. La señalización de esta vía es suficiente para desencadenar la transdiferenciación *in vivo* e *in vitro* de los miofibroblastos renales.

De igual manera, la implicación de los M2 en la patología renal ha sido demostrada en varios modelos de afectación glomerular e intersticial (149,150) como agentes implicados en la MMT renal. De forma novedosa, además, se han propuesto como nuevo objetivo terapéutico (148,151). En este sentido, CCL18, como producto de M2, también se ha descrito como agente implicado (148,152).

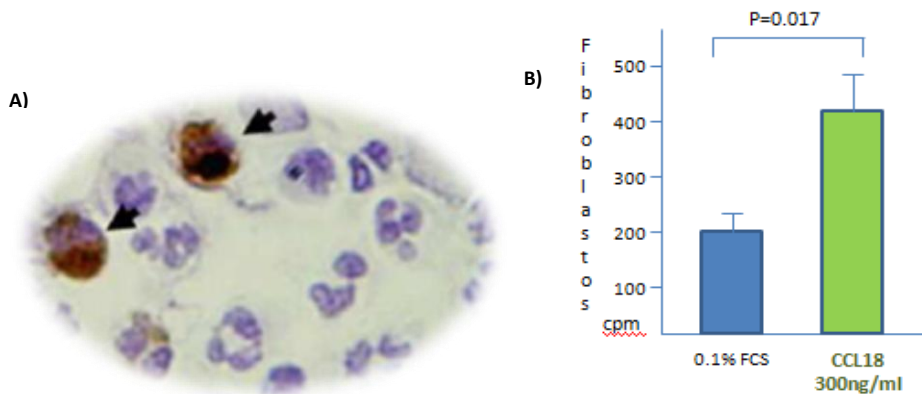
En el caso de la nefropatía diabética, el proceso de afectación renal comprende de nuevo una inflamación crónica amplificada con vías inflamatorias comunes a la agresión de los AGEs en peritoneo, con implicación de múltiples citoquinas inflamatorias y macrófagos. CCL18 se ha evidenciado en la orina de los pacientes con nefropatía diabética, proponiéndose como un nuevo agente implicado en la inflamación y fibrosis de esta entidad (153).

1.6.2 CCL18 y fibrosis Peritoneal

Una vez demostrada la existencia de M2 en peritoneo humano, con o sin episodios de peritonitis asociada, caracterizados con su fenotipo (CD206, CD163 y CD209), expresión de genes profibrogénicos y angiogénicos como TGF β y PDGF y producción de quimioquinas propias como CCL18 (95), y vista la asociación de estos M2, y en concreto de su quimioquina CCL18, con procesos fibróticos sistémicos; se plantea la posibilidad de la participación de CCL18 en el proceso de remodelado peritoneal profibrótico y en última estancia su asociación con fibrosis peritoneal o EPS.

En pacientes en DP, se ha demostrado la producción de CCL18 por macrófagos peritoneales alternativamente activados M2 (95)[Figura 10]. En un estudio realizado en 2011 sobre 74 pacientes en DP se reflejó que la capacidad de M2 para estimular fibroblastos peritoneales está mediada por la expresión de su citoquina CCL18 y se muestra dependiente de ésta (95). En el abordaje *ex vivo* se comprueba, además, que la adición de CCL18 recombinante a cultivos celulares fue capaz de estimular las líneas de fibroblastos primarios estudiadas (95), como se muestra en la Figura 10.

Figura 10. A) Tinción con ac. antiCCL18 específico sobre células del efluente peritoneal de un paciente con peritonitis bacteriana, procesadas en citospin. Detección de CCL18 en células mononucleares B) El estímulo de proliferación fibroblástica mediado por macrófagos se correlaciona con los niveles de mRNA de CCL18 [Modificados de T.Bellón et al 2011 (95)]

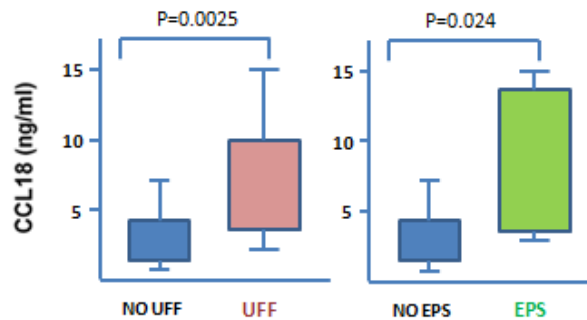


La producción de CCL18 depende de los M2 peritoneales, y por tanto los estímulos que diferencian el macrófago alternativamente hacia M2, como TGF- β 1 y la fagocitosis de la apoptosis celular, también podrían estar implicados en la expresión de CCL18. Sin embargo, solo recientemente se ha demostrado la asociación de la producción de CCL18 tras el estímulo de TGF- β 1 y de la fagocitosis de la apoptosis celular (95).

CCL18 mostró, en el estudio referido, una correlación significativa con datos de función peritoneal como el D/P de creatinina ($R=0.724$ $p<0.0001$) (95)

Pero además, en este estudio, se objetivaron valores significativamente más elevados de CCL18 en el efluente peritoneal en aquellos pacientes que posteriormente desarrollaron UFF ($p=0.002$) y EPS ($p=0.024$) (95). [Figura 11]

Figura 11. Niveles de CCL18 en efluente se asociaron de forma significativa con un posterior desarrollo de UFF y EPS [Modificados de T.Bellón et al 2011 (95)]



No se produjo esa asociación con posterior desarrollo de UFF o EPS en el caso de otras quimioquinas como $INF-\gamma$ (relacionada con el estímulo de diferenciación de los M1) o interleuquinas como IL-10 (implicada en el entorno activación alternativa de los M2). IL-10, sin embargo, sí se correlacionó con D/P de creatinina (95).

En un estudio contemporáneo observacional prospectivo sobre 106 pacientes (West London) seguidos durante 1 año, sin episodios de peritonitis en los 3 meses previos a la inclusión (96), se confirmaron estos hallazgos. Se observó una asociación de CCL18 en suero con el tiempo de exposición a DP y datos de transporte de membrana; así como una asociación de CCL18 en efluente con datos de transporte de membrana y carga de glucosa (análisis multivariante) (96). Además, se evidenciaron valores de CCL18 en suero ($156,9\pm 12,8$ vs $124,8\pm 12,2$ ngmL⁻¹) y efluente ($11,5\pm 3,6$ vs $5,6\pm 0,82$ $\mu\text{g } 4\text{h}^{-1}$) significativamente superiores en aquellos pacientes con desarrollo posterior de EPS (96).

Algunos autores no han encontrado que la determinación de citoquinas en efluente peritoneal (tales como CCL15, MPC-1, IL-6) suponga un beneficio asociado a los parámetros de riesgo peritoneal y datos clínicos y de transporte de membrana clásicos (154). Pese a encontrar

valores significativamente más elevados en efluente de las citoquinas referidas en los pacientes con desarrollo posterior de EPS, no encontraron que la determinación de las mismas mejorara la capacidad predictiva del abordaje clásico (154).

Sin embargo, y aunque no sean un sustituto del abordaje clásico, ampliar los potenciales marcadores de esta grave y compleja entidad como es la EPS, y establecer predictores tempranos que puedan adelantar aquello que tal vez esté demasiado avanzado cuando los marcadores de transporte o clínicos sean sugestivos o diagnósticos, abre una nueva e interesante vía de investigación diagnóstica y de potenciales abordajes terapéuticos.

Recientemente ha sido descrito en células tumorales un receptor funcional de CCL18 denominado PITPNM3 o Nir1, de localización transmembrana y familia de los “G protein-coupled receptors” (GPCRs); a través del que CCL18 media acciones promotoras de invasión, adherencia, migración celular y metastatización, vía fosforilización del complejo de adhesión focal (FAK) (155). Estos hallazgos abren otra vía de investigación y potenciales tratamientos dirigidos en torno a CCL18, dada su implicación en el proceso de fibrosis peritoneal y su asociación con datos de funcionalidad de membrana.

1.7 Agentes moduladores de la fibrosis de la membrana peritoneal

Según lo expuesto, y dada la relevancia de adelantar o aumentar las medidas terapéuticas que reviertan o retrasen el remodelado peritoneal hacia la fibrosis o su paso a EPS desde SPS, destacamos a continuación los principales agentes moduladores del remodelado peritoneal más estudiados hasta la fecha.

1.7.1 Soluciones de DP

Dado que la bioincompatibilidad de las soluciones de diálisis empleadas se ha descrito como una de las principales y más iniciales promotoras del remodelado peritoneal fibrótico, el uso de soluciones más biocompatibles sería la primera medida preventiva e incluso terapéutica de la fibrosis peritoneal.

La biocompatibilidad del tratamiento con soluciones de diálisis puede alcanzarse desde diferentes abordajes:

- Uso de soluciones con un pH neutro bajas en PDGs
- Uso de baja carga de glucosa en el tratamiento dialítico
- Uso de soluciones con agente osmótico distinto de la glucosa

Múltiples estudios *in vitro* y *ex vivo* han asociado el uso de soluciones de pH neutro con bajo contenido en PDGs con una mayor preservación de la célula mesotelial (91,156,157). Los recientes estudios, llevados a cabo con soporte de biopsia peritoneal, confirman una menor evidencia de MMT hasta en un 56.5% de las biopsias peritoneales humanas obtenidas de los pacientes en DP tratados con estas soluciones biocompatibles (16), con una menor fibrosis peritoneal y afectación vascular (158). Esta preservación mesotelial y descenso de MMT se traduce, además, en una menor alteración del transporte de solutos y una menor tasa de UFF (16,53,158).

El uso de una menor carga de glucosa en la pauta de DP se ha asociado con una mayor preservación de la membrana peritoneal, con aumento de marcadores de viabilidad de la misma (Ca-125, adiponectina...)(159). Por tanto, el uso de soluciones de glucosa combinado con soluciones que utilicen icodextrina (polímero de la glucosa) o aminoácidos como agente osmótico se plantea como una pauta segura, que proporciona una menor exposición a los PDGs promotores de la fibrosis peritoneal (159,160). Estudios sobre el uso de icodextrina *in*

vitro (que plantean una potencial toxicidad)(161) y *ex vivo* (que muestran una mayor proliferación mesotelial) (162) han mostrado resultados contradictorios. Sin embargo, existe una recomendación clínica del uso de soluciones con icodextrina como agente osmótico que permite una UF prolongada en permanencias mayores; ya que el uso de icodextrina en pacientes anúricos en tratamiento con DPA demostró un retraso en la pérdida de UF y alto transporte peritoneal (163).

Utilizar otros agentes osmóticos diferentes a la glucosa es una vía de estudio en activo, dada la importancia de encontrar soluciones más biocompatibles y libres de PDGs. En este sentido se está trabajando con L-carnitina [cuyo uso sobre cultivo de células mesoteliales humanas demostró mayor viabilidad y crecimiento de las mismas respecto a soluciones con glucosa o icodextrina como agente osmótico (164) y que ha mostrado viabilidad endotelial y UF similar a glucosa al 2,5% en humanos (165)] y con Taurina [que ha mostrado mayor preservación histológica de la membrana (166)]; como agentes osmóticos para los que aún son precisos más estudios (91).

-Descanso peritoneal

Si la exposición a soluciones de DP conlleva el inicio del remodelado peritoneal, el cese del estímulo de las mismas podría revertir el proceso. Una vez que se ha establecido el diagnóstico de EPS el cese del tratamiento con DP es prioritario (55,67), sin embargo, ¿es posible utilizar los descansos peritoneales de manera preventiva?. El descanso peritoneal se ha mostrado como una medida eficaz ante el UFF tipo I (alto transporte de solutos con UFF) adquirido (167), sólo eficaz en aquellos pacientes con UFF (168), y se ha acompañado de cambios estructurales con disminución de fibrosis de membrana (SPS) en modelo murino (169).

1.7.2 Abordaje terapéutico de la MMT

Agentes antiinflamatorios:

La continuidad de los procesos inflamatorios hacia los fibróticos con la cascada fisiopatológica descrita de PMM/macrófago/linfocito peritoneal y sus citoquinas, hace que el abordaje de los cuadros inflamatorios no se centre sólo en la curación del proceso infeccioso en sí, sino en una interrupción de aquellas vías derivadas que perpetúen la fibrosis peritoneal.

Celecoxib, inhibidor de ciclooxigenasa 2, ha mostrado en estudios animales un descenso de la inflamación, angiogénesis y fibrosis peritoneal (170), pero sus efectos no han sido estudiados en humanos.

Los recientes resultados prometedores sobre inhibidores de Il-17 en la espondilitis anquilopoyética (171), ofrecen una vía de estudio en pacientes en DP dada su asociación con la perpetuación inflamatoria y la MMT.

Agentes antifibróticos:

El principal agente fibrótico derivado de la MMT peritoneal es TFG- β 1. El bloqueo de TFG- β 1 mediante péptidos inhibidores del mismo (P17 y P144) demostró una disminución de la angiogénesis, fibrosis peritoneal y fibroblastos (especialmente aquellos que expresan FSP1-proteína específica del fibroblasto- y citoqueratina, en base a su origen epitelial derivados de la transformación MMT), así como una mejora de la función peritoneal (49). Sin embargo el bloqueo de TFG- β 1 no es tan sencillo en la práctica DP, dada la implicación del mismo en procesos de inmunomodulación y respuesta inflamatoria requeridas (91).

Factores endógenos como la proteína morfogénica ósea 7 (BMP-7) antagonizan el efecto de TFG- β , fundamentalmente vía smad. El tratamiento de células mesoteliales con BMP-7 reduce su transformación MMT mediada por glucosa (172), y el uso de BMP-7 intraperitoneal en modelo murino se asoció con un descenso de fibrosis, angiogénesis y datos de MMT peritoneal sin interferencia con la respuesta inflamatoria (173).

El uso de tamoxifeno, agente dirigido al receptor de estrógenos, como molécula antifibrótica en base a mecanismos mediados por TFG- β también ha sido demostrado en modelo animal de DP, con un descenso de la angiogénesis, fibrosis y grosor peritoneal y una mejora de los parámetros de transporte peritoneal con un descenso de MMP-2 (174). Su uso en EPS ha mostrado un descenso en la mortalidad de esta entidad (79) y recientemente, se ha observado que adelantar el tratamiento con tamoxifeno a los estadios precoces o “prone-EPS” (en dosis de 20mg/día durante un año) puede ser una estrategia de prevención eficaz para la progresión de EPS (66).

A nivel génico, la inhibición de las vías de acción de TFG- β mediante la transferencia génica de Smad7, miR29 o miR30, ha demostrado en modelos murinos de DP, una capacidad de atenuar la fibrosis peritoneal, la inflamación y la angiogénesis dependientes de TFG- β (111–113,122).

Dada la implicación de SRRA en el proceso de fibrosis peritoneal, MMT y producción de TFG- β , su uso ha sido estudiado como abordaje preventivo de las mismas. En modelo animal (ratas) el uso de IECA (Inhibidores de la enzima convertasa de la angiotensina) o de ARA II (antagonistas del receptor de la angiotensina II) se ha asociado con un descenso de la concentración de TFG- β , VEGF, menor grosor submesotelial y fibrosis peritoneal (175–177). Estos mismos datos se han comprobado en pacientes de DP con una mejora asociada de los datos de transporte peritoneal como el MTC (coeficiente de transferencia de masas) (178,179).

Otros agentes:

La heparina de bajo peso molecular, como subtipo de glicosaminoglicanos que pudieran estar implicados en el mantenimiento de la capa mesotelial, se ha asociado con acciones antifibróticas, antiinflamatorias y descenso de VEGF y del factor de crecimiento de los fibroblastos (180). Sin embargo, no hay datos suficientes ni claros en humanos que apoyen su uso sistemático en la prevención de las alteraciones estructurales o funcionales de la membrana peritoneal (91).

El ácido hialurónico (HA) forma parte del glycocalix de las células mesoteliales y tiene un papel en el mantenimiento del fenotipo epiteloidal de las mismas y en su mantenimiento estructural. La pérdida de integridad del glycocalix se asocia a hiperpermeabilidad vascular y el uso de HA en soluciones dialíticas se ha asociado con acciones antiinflamatorias y una potencial preservación de la membrana peritoneal (181). Sin embargo, su uso en clínica es todavía controvertido (91).

Las estatinas han mostrado capacidad de inhibir los cambios de MMT en la célula mesotelial en modelo animal, así como de estimular la capacidad fibrinolítica mediada por TNF- α y reducir la procoagulante en situaciones inflamatorias o basales (182,183). Aunque prometedoras por tanto para mantener la viabilidad de la membrana peritoneal, no se han realizado estudios por ahora en humanos (91).

La rosiglitazona, agonista del receptor gamma activado de proliferación de la perioxosoma (PPAR- γ), se ha valorado en DP dada su capacidad de reducir los efectos de PDGs y su transformación en AGEs. Su adhesión a las soluciones dialíticas empleadas en modelo murino de DP ha objetivado un descenso de la acumulación de AGEs y una mayor preservación de la monocapa mesotelial con descenso de fibrosis y angiogénesis; pero se ha asociado con una mayor producción de IL-10 con reclutamiento linfocitario y de células CD4+ (184).

1.7.3 Paricalcitol

El paricalcitol es un inhibidor selectivo del receptor de la vitamina D (VDR). Tradicionalmente el sistema hormonal de la vitamina D ha sido implicado en el remodelado óseo y metabolismo del calcio y fósforo, sin embargo, recientemente se han destacado las acciones pleiotrópicas y extraminerales de la activación de VDR renal o extrarenal (185). VDR se ha visto implicado en la regulación inflamatoria, inmunitaria y de proliferación-fibrosis. La activación de VDR se ha asociado a la expresión de factores antifibróticos, anti-inflamatorios y antiproliferativos, con modificación del patrón Th1/Th2, inducción de la activación de células T reguladoras y disminución de la activación de NFκB (186). Además la activación de VDR promueve la expresión BMP-7 y MMP-8 y se ha asociado con la disminución de fibrosis renal y bloqueo del SRAA (186).

En modelos animales, el uso de paricalcitol se ha asociado con un efecto protector de la fibrosis renal. Paricalcitol se ha asociado con el descenso del grosor y la fibrosis intersticial renal, un descenso del depósito de colágeno I y III, de la expresión de fibronectina y de la expresión del receptor de TGF-β tipo 1. *In vivo*, paricalcitol preserva la expresión de E-Cadherina y reduce la de α-SMA. *In vitro*, paricalcitol se ha mostrado eficaz en la inhibición de MMT de las células tubulares renales a través del descenso de TGF-β. Pero además, se ha objetivado que paricalcitol suprime la vía Snail, clave en los procesos de fibrosis y MMT, tanto en experimentos *in vivo* (modelo obstructivo de fibrosis renal en ratón) como *in vitro* (sobre células tubulares renales tratadas con TGF-β) (187–189).

En cuanto a la fibrosis peritoneal, un estudio reciente llevado a cabo sobre modelo de DP en ratón con adhesión de paricalcitol a las soluciones de diálisis empleadas, demostró una disminución de la fibrosis peritoneal y una menor tasa de UFF asociada (190,191). El mecanismo objetivado en este estudio se basa en una capacidad de regulación inflamatoria del paricalcitol, con un aumento de las células T reguladoras y una disminución de la producción de IL-17 en los ratones tratados (190).

En un estudio preliminar llevado a cabo en 23 pacientes en programa de DP, el uso de paricalcitol oral se asoció con un descenso de la pérdida protéica peritoneal y un aumento de la UF peritoneal (192). En este sentido, en nuestro trabajo ahondaremos en los potenciales efectos de paricalcitol sobre CCL18 del efluente peritoneal.

2 Hipótesis

El remodelado peritoneal profibrótico implica mecanismos inflamatorios y profibróticos, derivados de la bioincompatibilidad de las soluciones dialíticas y/o agudizaciones inflamatorias sobre una inflamación basal. El proceso inflamatorio evolutivo deriva en la diferenciación secuencial de macrófagos peritoneales desde los M1 defensivos hacia los M2 reparadores y profibróticos, evidenciándose éstos M2 como uno de los principales agentes implicados en el proceso de fibrosis peritoneal. Los macrófagos peritoneales M2 secretan citoquinas como CCL18, involucrada en numerosos procesos fibróticos sistémicos y peritoneales, y cuya relación y valor pronóstico respecto del desarrollo de EPS o UFF ya ha sido demostrada.

Postulamos, en base a lo previo, a CCL18 como agente fisiopatogénico implicado en la fibrosis peritoneal (en sus formas de SPS, EPS o circunstancias específicas como EP) y su fallo funcional derivado. De esta manera, la evaluación sistemática de CCL18 en suero y efluente peritoneal de pacientes en DP pudiera proporcionar un nuevo marcador diagnóstico y pronóstico con valor predictivo para la determinación de riesgo de un posterior desarrollo de fallo de membrana peritoneal y/o EPS.

Como agente fisiopatogénico implicado en el remodelado peritoneal, CCL18 se plantea además en relación con otros marcadores ya existentes (como PAI-1) y como una nueva potencial diana terapéutica en el tratamiento de la fibrosis peritoneal.

3 Objetivos

El objetivo principal del proyecto de tesis que se presenta es validar los niveles de CCL18, en suero y efluente peritoneal, como marcadores de alteraciones funcionales y estructurales profibróticas de la membrana peritoneal tanto en situación basal como en procesos intercurrentes asociados.

Para ello nos fijamos los objetivos secundarios que se describen a continuación:

- ✓ Describir la historia natural de los niveles de CCL18 en pacientes en DP, determinando los valores de la misma en suero y efluente peritoneal de pacientes con una permanencia en técnica de al menos 2 años.
- ✓ Discriminar si variables clínicas o de riesgo/funcionalidad peritoneal (soluciones de DP, peritonitis previas y datos de transporte peritoneal) influyen en los niveles de dicha molécula y por tanto en sus potenciales repercusiones.
- ✓ Definir fallo de membrana peritoneal (PMF) y esclerosis peritoneal encapsulante (EPS) como variables de estudio y expresión de las alteraciones estructurales y funcionales de membrana peritoneal.
- ✓ Determinar la fuerza de asociación y el valor predictivo de los niveles de CCL18, y sus variaciones en efluente peritoneal y/o suero, con el desarrollo de PMF o EPS. Valorando si la medición de CCL18 en efluente peritoneal puede aportar nueva o mayor información sobre riesgo peritoneal respecto de los parámetros clásicamente empleados.
- ✓ Valorar la potencial asociación o relación de CCL18 en efluente peritoneal con otros marcadores de riesgo de EPS ya estudiados, como PAI-1; y estudiar el comportamiento del mismo en nuestra muestra.
- ✓ Explorar la potencial implicación de CCL18 en otros modelos de fibrosis peritoneal como es la peritonitis eosinofílica.
- ✓ Testar la potencial inhibición de este nuevo sistema CCL18-esclerosis, por agentes antifibróticos relacionados con la reducción del proceso de MMT, como paricalcitol.

4 Material y métodos

4.1 Sujetos del estudio

Llevamos a cabo un estudio longitudinal retrospectivo planteado por intención de tratar, sobre 43 pacientes de la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital Universitario La Paz (Madrid, España), incluidos en DP desde Diciembre de 1999 hasta Diciembre 2010. Los pacientes incluidos en el estudio al menos presentaron tratamiento en diálisis peritoneal durante 2 años y sus muestras fueron recogidas secuencialmente en cuatro tiempos que denominamos basal (tiempo medio de seguimiento 3 meses), primer año en DP (tiempo medio de seguimiento 14 meses), segundo año en DP (tiempo medio de seguimiento 27 meses) y tercer año en DP (tiempo medio de seguimiento de 38 meses).

De los 43 pacientes seleccionados, 35 pacientes cumplieron los criterios de cuatro muestras consecutivas en los tiempos descritos, realizando un abordaje de la muestra por intención de tratar sobre el global de los pacientes incluidos para evitar sesgos de selección positiva o negativa, máxime considerando el tamaño muestral.

Los criterios de exclusión fueron: edad menor a 18 años, neoplasia sólida o hematológica, hepatitis vírica de cualquier etiología, enfermedad hepática aguda, procesos inflamatorios o infecciosos agudos, reacciones alérgicas agudas o subagudas, fibrosis pulmonar o fibrosis significativa de cualquier órgano sólido, enfermedades de depósito, afectación cutánea significativa o conectivopatías.

Todos los pacientes incluidos en el estudio recibieron información de los requerimientos y objetivos del mismo, firmando un consentimiento informado con la posibilidad en todo momento de denegar el acceso a sus datos o de retirarse del estudio. Este abordaje fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario La Paz.

Siendo conscientes del limitado tamaño muestral del estudio longitudinal descrito y tratando de confirmar las tendencias observadas en éste, llevamos a cabo un estudio transversal sobre 61 pacientes de larga permanencia en DP (al menos 3 años), de los que se analizó la última muestra disponible previa su salida de técnica de DP.

Los pacientes incluidos en este estudio transversal pertenecen a la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital Universitario La Paz del periodo incluido de Septiembre de 1989 a Diciembre de 2010. Los criterios de exclusión son los mismos que se han descrito para el estudio longitudinal y, de igual manera, recibieron información sobre el estudio y tratamiento de muestras durante el mismo, pudiendo retirar total o parcialmente su consentimiento firmado por escrito en cualquier momento del estudio.

4.2 Datos clínicos y factores de riesgo de la membrana peritoneal

Evaluamos características demográficas de los pacientes incluidos en cada tiempo de estudio, así como los factores de riesgo y datos de funcionalidad de la membrana peritoneal en cada tiempo.

Incluimos datos de filiación de cada paciente (nombre, número de historia y valor identificativo que preservara la confidencialidad en el manejo de datos) y datos clínicos como edad, sexo, causa de enfermedad renal crónica, presencia o no de hipertensión arterial (HTA), diabetes méllitus tipo 1 (DM1) o tipo 2 (DM2), dislipemia, enfermedad vascular central (infarto agudo de miocardio o IAM y/o accidente cerebrovascular agudo o ACVA), enfermedad vascular periférica, obesidad (definida como índice de masa corporal >30) y cirugía abdominal mayor que implique peritoneo visceral.

Fueron recogidos así mismo datos de inicio de técnica DP, modalidad de la misma (diálisis peritoneal automática DPA o diálisis peritoneal continua ambulatoria DPCA), salida de técnica y motivo de la misma (éxitus, transferencia a HD o trasplante renal).

El periodo de estudio abarcó desde la entrada en programa de DP hasta el momento en que se produce el diagnóstico de EPS o PMF (durante o posterior al periodo programado de estudio) o salida del estudio ante cualquiera de las causas que lo justifiquen.

De entre los factores de riesgo de agresión a la membrana peritoneal incluimos:

- Función renal residual (FRR) y porcentaje de pacientes anúricos en cada tiempo del estudio.

Calculamos FRR como la media del aclaramiento renal de creatinina y de urea.

- Uso de soluciones bioincompatibles o biocompatibles de líquido peritoneal (entendiendo estas últimas como aquellas con pH neutro de doble bolsa, bajo contenido en PDGs con tampón con contenido parcial o total de bicarbonato sódico o lactato).

- Carga de glucosa empleada en el tratamiento dialítico: definida como el porcentaje de soluciones de diálisis peritoneal de concentración de glucosa 2.3-2.5%.

- Baja exposición a glucosa: como ninguna solución de glucosa 2.3-2.5%

- Alta exposición a glucosa: al menos el 50% de las soluciones empleadas tenían glucosa 2.3-2.5%

- Exposición a hemoperitoneo y peritonitis, definiendo:

– Peritonitis: recuento celular de >100 leucocitos/ mm^3 con al menos un 50% de PMN

- Peritonitis grave: aquella que se debe a microorganismos resistentes, pseudomonas o etiología fúngica, que precisa de retirada de catéter peritoneal bajo condiciones inflamatorias, o que presenta más de 3 días de inflamación peritoneal

– Hemoperitoneo: presencia de sangre en la cavidad peritoneal

- Hemoperitoneo grave: aquel que condiciona la estabilidad hemodinámica del paciente, que requiere de transfusión de hemoderivados, de pruebas diagnósticas invasivas como arteriografía o de intervenciones quirúrgicas de urgencia como laparotomía o laparoscopia

Considerando incidencia y días de inflamación acumulada y severidad en cada tiempo de estudio

- Exposición en los últimos 3 meses a tratamientos potencialmente antifibróticos (como los inhibidores del SRR, IECA o ARA II), inmunosupresores y/o de abordaje clínico ante sospecha de fibrosis peritoneal (tamoxifeno, corticoides)

4.3 Estimación de la función de la membrana peritoneal.

Transporte de membrana

Definimos los datos de transporte de membrana en base a los parámetros obtenidos del análisis de la cinética peritoneal. Las cinéticas peritoneales se realizaron según la práctica clínica habitual de la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital Universitario La Paz, cada 6-12 meses. Se utilizaron concentraciones de glucosa peritoneal de 3.86% o 4.25%, con una permanencia total de 4 horas. Se recogieron muestras de suero basal y de efluente peritoneal a los 0, 30, 60, 120, 180 y 240 minutos. Las muestras de suero y efluente peritoneal fueron conservadas a -80°C, incluyéndose en el biobanco de la Unidad.

La expresión de la funcionalidad de la membrana peritoneal se realizó en base a:

- Variables de transporte de pequeños (cociente D/P de creatinina) y grandes solutos (excreción proteica peritoneal medida en gr/24h).
- Transporte de agua peritoneal: cribado y D/P de sodio a los 60 minutos de permanencia y datos de UF medida en la prueba de cinética peritoneal de 4 horas, realizada con soluciones de glucosa a 3.86% o 4.25% .
- Parámetros de membrana: coeficiente de transferencia de masas (MTC) de creatinina y de urea, medidos en ml/min

Estableciendo como valores de alarma datos clásicos de alto transporte de membrana como son D/P de creatinina >0.8 y MTC creatinina >12ml/min.

Definiendo Fallo de Ultrafiltración (en inglés ultrafiltration failure o UFF) como UF menor a 400cc de efluente peritoneal tras cinética de 4 horas realizada con soluciones de glucosa a 3.86% o 4.25%

Para el cálculo de los previos utilizamos las fórmulas que se describen a continuación:

- D/P de creatinina:

Cociente de la concentración de creatinina en el dializado o efluente obtenido de cinética peritoneal / entre la concentración de creatinina en plasma.

- MTC de creatinina o urea:

El cálculo del coeficiente de transferencia de masas se realizó mediante la fórmula:

$$V/T \ln [V_i/V_0 \times (C_b - C_{d0}) / (C_b - C_{dt})]$$

Donde V es el volumen medio del dializado, V_i : volumen inicial, V_0 : volumen final drenado, C_b : concentración sérica del soluto, C_{d0} : concentración del soluto en el dializado en el momento cero y C_{dt} : la concentración del soluto en el dializado a los 240 minutos de cinética peritoneal (193).

- Ratio MTC urea/cr:

Cociente entre el MTC de urea y el MTC de creatinina

- Cribado del sodio:

$DifNa_{60 \text{ min}} = [\text{sodio en dializado inicial} - \text{sodio en dializado a los 60 min}] \times 100 / [\text{sodio en dializado basal}]$

- Ultrafiltración(UF):

UF=Volumen drenado tras cinética de 4 horas de permanencia con soluciones de diálisis de alta carga glucosa (3.86% o 4.25%) a los 240 minutos – volumen infundido en el momento cero de la cinética. Expresado en mililitros.

4.4 Definición de fallo de membrana peritoneal (PMF)

Definimos Fallo de Membrana Peritoneal (en inglés peritoneal membrane failure o PMF) como valores de $D/P_{cr} > 0.8$ y/o $MTC_{Cr} > 12 \text{ ml/min}$ y/o fallo de ultrafiltración en cinética peritoneal ($< 400 \text{ cc}$), todos de aparición en el segundo año de DP o sucesivos, y sin evidencia de claros factores precipitantes agudos.

4.5 Definición de esclerosis peritoneal encapsulante (EPS)

Definimos esclerosis peritoneal encapsulante (en inglés encapsulating peritoneal sclerosis o EPS) ante cualquier criterio inequívoco (visualización directa o histología), dos criterios mayores (imagen compatible en ecografía o tomografía abdominal) o un criterio mayor y dos menores (sintomatología compatible con obstrucción o pseudo-obstrucción intestinal, datos de alto transporte peritoneal y ratio MTC urea/cr)

4.6 Tratamiento de muestras histológicas

Se obtienen muestras histológicas a través de biopsia peritoneal de pacientes en programa de DP de la Unidad de Diálisis Domiciliaria del Hospital Universitario La Paz, tras consentimiento de los mismos. La muestra de biopsia se recoge en el proceso de un trasplante renal y se conserva en formol hasta su procesado con posterior inclusión en parafina y cortes de micrótopo a 0,8µm. Se muestran imágenes con tinción de PASM (PAS con ácido periódico de Schiff y H/E –hematoxilina/eosina) con realce de mucopolisacáridos y fibras de colágeno con tinción nuclear.

4.7 Metodología del laboratorio

▪ **Detección y medida de CCL18.**

Determinamos los valores de la proteína CCL18 en suero y efluente peritoneal tras permanencia de 4 horas en cinética descrita anteriormente.

CCL18 fue cuantificada en suero y en efluente peritoneal mediante DuoSet ELISA Development System (R&D Systems Europe, UK) acorde a las instrucciones y recomendaciones dadas por el fabricante. Se llevaron a cabo diluciones 1/1000 y 1/50 para analizar las muestras de suero y efluente respectivamente.

▪ **Detección y medida de PAI-1**

Determinamos los valores de PAI-1 en efluente peritoneal tras permanencia de 4 horas en cinética descrita anteriormente. Se llevaron a cabo diluciones 1/50 para analizar las muestras de efluente.

PAI-1 fue cuantificado en efluente peritoneal mediante DuoSet ELISA Development System (R&D Systems Europe, UK) acorde a las instrucciones y recomendaciones dadas por el fabricante, con marcadores específicos del mismo.

▪ **Test de estimulación linfocitaria**

Se lleva a cabo la realización de un test de estimulación linfocitaria en el apartado referido al caso clínico de peritonitis eosinofílica para valorar si el proceso fue mediado por una reacción de hipersensibilidad a clorhexidina.

Se enfrentaron células mononucleares de sangre periférica con distintas dosis de clorhexidina y se evaluó la proliferación de los cultivos en presencia o ausencia del fármaco mediante la incorporación de timidina tritiada (194). Se consideró una respuesta positiva para un índice de estimulación ≥ 2

4.8 Análisis de los efectos de paricalcitol sobre la producción de CCL18 por macrófagos peritoneales

Se seleccionaron pacientes de la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital Universitario La Paz en programa de DP durante el año 2010, con o sin episodios de peritonitis como pacientes caso o control, que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión referidos en el apartado “3.1 Sujetos del estudio”.

Los pacientes recibieron información sobre el estudio y tratamiento de muestras durante el mismo, pudiendo retirar total o parcialmente su consentimiento firmado por escrito en cualquier momento del estudio.

▪ **Tratamiento celular**

Las células peritoneales se aislaron de los efluentes de DP obtenidos de los pacientes incluidos mediante centrifugación a 500g durante 10 min a temperatura ambiente. El aislamiento de células PMN se llevó a cabo por el aislamiento magnético de células CD66b positivas mediante el etiquetado con isotiocianato de CD66b-fluoresceína (FITC), mAb (BD) y microperlas anti-FITC (Miltenyi Biotech GmbH). La selección positiva de los macrófagos se realizó a partir de la población CD66b negativa por aislamiento magnético usando microesferas CD14 (Miltenyi Biotech GmbH, Alemania). La pureza de las fracciones se evaluó mediante citometría de flujo.

▪ **Medida de los niveles de CCL18**

Los macrófagos purificados se incubaron en medio RPMI-1640 con 5 % de suero inactivado por calor en presencia o ausencia de concentraciones crecientes de paricalcitol (10^{-9} molar-M-, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-5} M) o vehículo. Los sobrenadantes se recogieron a las 24, 48 y 72 horas y se almacenaron congeladas a -80°C hasta que fueron utilizados para la medición.

CCL18 se cuantificó usando un ELISA Sistema de Desarrollo DuoSet (R&D Systems Europe, Gran Bretaña).

4.9 Análisis y enfoque estadístico global

Los datos estadísticos fueron procesados empleando el programa de análisis SPSS-15 software (IBM, Inc., Chicago, IL, USA). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Llevamos a cabo un análisis descriptivo de las variables clínicas, factores de riesgo y datos de transporte de membrana utilizando frecuencias y porcentajes (expresados en base al tamaño muestral de cada tiempo) de las variables categóricas y medidas de tendencia central y dispersión con medias \pm desviación estándar de las variables cuantitativas con distribución normal. Se utilizaron test paramétricos o no paramétricos acorde a la distribución de las muestras.

La evolución de CCL18 en suero y efluente peritoneal se llevó a cabo sobre valores absolutos de las muestras de suero y efluente y sobre logaritmo en base 10 de los mismos para tratar de minimizar el efecto de unidad de medida sobre la variabilidad de la misma. Se llevó a cabo un análisis de regresión lineal de modelos mixtos con efectos variables y fijos, siendo los variables el intercept [variabilidad de los valores de CCL18 entre sujetos del estudio al inicio del mismo] y el tiempo [variabilidad de los valores de CCL18 entre sujetos del estudio a lo largo del tiempo de seguimiento]

En el análisis estadístico inferencial se relacionaron los valores de CCL18 en suero y efluente peritoneal con las variables clínicas, factores de riesgo de membrana peritoneal y de transporte de membrana descritos en los apartados anteriores utilizando comparación de medias mediante Student's t-test.

La relación entre la evolución de los valores de CCL18 en efluente y el posterior desarrollo de EPS/PMF se abordó a través de curvas de supervivencia Kaplan-Meier. Mediante análisis de Cox hazard analizamos los valores o incrementos de CCL18 en efluente y su asociación con un posterior diagnóstico de EPS/PMF.

La capacidad diagnóstica de CCL18 en efluente para predecir posterior desarrollo de EPS/PMF fue analizada mediante curva ROC, determinando la sensibilidad (S) y especificidad (E) de los diferentes valores tomados como punto de corte y su respectiva área bajo la curva (AUC) con intervalo de confianza del 95%, asumiendo valores más discriminatorios cuanto más cercana a 1 fuera el AUC. El índice de Youden fue utilizado para elegir el punto de máxima S y E simultáneas.

Para analizar el grado de asociación o dependencia de los valores de efluente peritoneal respecto de los valores en suero o del transporte de membrana peritoneal asociado (de pequeños o grandes solutos y agua según lo descrito en el apartado de métodos 3.3), fueron comparados ambos factores evolutivamente.

Con el objetivo de determinar el valor adicional pronóstico o predictivo de CCL18 en efluente peritoneal respecto de los parámetros de fallo de membrana clásicos (D/P cr, MTC urea, MTC cr, UFF) llevamos a cabo un análisis multivariante ajustado a dichos parámetros tanto en el tercer año de DP del estudio longitudinal como en el corte transversal del estudio suplementario realizado.

5 Resultados

5.1 Sujetos de estudio. Análisis descriptivo de factores clínicos, de riesgo peritoneal y de funcionalidad de la membrana

5.1.1 Estudio longitudinal retrospectivo

5.1.1.1 Variables clínicas

Un total de 43 pacientes de al menos 2 años en programa de DP fueron incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal realizado. La edad media de los pacientes fue de 53 años (rango 20-78 años). La causa de enfermedad renal crónica fue variable, siendo la nefropatía diabética la etiología de 6 de los pacientes incluidos (en 2 casos secundaria DM tipo 1 y en 4 casos en contexto de DM tipo 2). Un alto porcentaje de los pacientes eran hipertensos, más de dos tercios de los mismos presentaba dislipemia en tratamiento y sólo 2 pacientes eran diabéticos tipo 1. Aproximadamente un tercio de los pacientes presentaba enfermedad vascular central (IAM, ACVA) o periférica y un 17% cumplía criterios de obesidad. Sólo 4 pacientes al final del seguimiento habían sido intervenidos mediante cirugía abdominal mayor. [Tabla 2]

Analizamos la exposición a potenciales tratamientos que pudieran interferir en los procesos de fibrosis (IECA / ARA II) o de inmunomodulación (inmunosupresores) ante potenciales efectos sobre el sistema de fibrosis dependiente del macrófago alternativamente activado (M2) y CCL18. Así mismo registramos el tratamiento con fármacos clásicamente utilizados en los procesos de sospecha clínica de fibrosis grave de membrana peritoneal o EPS, como el Tamoxifeno [Tabla 2].

Objetivamos una muy baja exposición a cualquiera de los descritos salvo a IECA / ARA II, presente en casi un 70% de los casos en todos los tiempos de seguimiento.

Tabla 2. Características clínicas de los 43 pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal

	Periodo Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Etiología de enfermedad renal crónica	Glomerulonefritis crónica: 8 pacientes Nefropatía diabética (2ptes DM1 y 4ptes DM2): 6 pacientes Nefroangioesclerosis: 6 pacientes Poliquistosis Hepatorrenal autosómica dominante: 5 pacientes Nefropatía obstructiva: 5 pacientes Enfermedad sistémica: 4 pacientes Nefropatía túbulo-intersticial: 2 pacientes No filiada: 7 pacientes			
Hipertensión	39 pacientes (92.9%)			
Diabetes mellitus	DM Tipo 1: 2 pacientes (4.8%) // DM Tipo 2: 8 pacientes (19%)			
Dislipemia	29 pacientes (69%)			
Infarto de miocardio o ACVA	13 pacientes (31%)			
Enfermedad vascular periférica	9 pacientes (21.4%)			
Obesidad	7 pacientes (16.7%)			
Cirugía abdominal mayor	3 pacientes (7.1%)	3 pacientes (7.1%)	4 pacientes (9.8%)	4 pacientes (11.8%)
Tratamiento esteroideo	3 pacientes (7.1%)	4 pacientes (9.5%)	2 pacientes (4.9%)	1 paciente (2.9%)
Tratamiento con Tamoxifeno	0	0	0	1 paciente (2.9%)
Tratamiento con IECA/ ARA II	30 (69%)	30 (69%)	31 (70,7%)	34 (73,5%)

DM: diabetes mellitus; ACVA: accidente cerebrovascular agudo; IECA: inhibidores de enzima convertasa de la angiotensina; ARA II: antagonistas del receptor de la angiotensina II

No se objetivó asociación significativa entre los parámetros clínicos o de tratamientos recibidos descritos y los niveles de CCL18 en suero o efluente en cada uno de los tiempos analizados como se describirá a continuación en los epígrafes 5.2, relativo al suero, y 5.3, relativo al efluente.

5.1.1.2 Variables de funcionalidad de membrana peritoneal y factores de riesgo de la misma

Los factores de riesgo de la membrana peritoneal de los 43 pacientes incluidos en el estudio longitudinal están descritos en la Tabla 3. Aproximadamente la mitad de los pacientes utilizó soluciones biocompatibles de diálisis peritoneal en todos los tiempos del seguimiento. La incidencia de peritonitis, días de inflamación asociada o hemoperitoneo no es reseñable.

Tabla 3. Factores de riesgo de la membrana peritoneal durante el seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal.

Factores de riesgo de membrana peritoneal	Basal (n=43pts)	1 año en DP (n=43pts)	2 años en DP (n=42pts)	3 años en DP (n=35pts)
Peritonitis (n)	3 (7.1%)	8 (19%)	15 (36.6%)	13 (38.2%)
Días de inflamación acumulada	0.24	0.88	1.9	2.91
Hemoperitoneo	0	0	0	1
Alta carga de Glucosa (≥50% glucosa 2.27%)	2 (4.9%)	7 (16.7%)	13 (31.7%)	13 (38.2%)
Soluciones DP Biocompatibles	19 (45.2%)	21 (50%)	23 (56.1%)	20 (58.8%)
Pacientes anúricos	1 (2.9%)	4 (11.4%)	9 (25.7%)	11 (34.4%)

La función renal residual (FRR) descendió durante el seguimiento de manera relevante pero dentro de las proporciones habituales en programa de Diálisis Peritoneal, como se muestra en la Tabla 4, con una media de 2,5ml/min en el tercer año de DP, siendo 11 de los 43 pacientes incluidos (34.4%) anúricos en ese último tiempo de seguimiento, donde, probablemente en este mismo contexto, un 38.2% de los pacientes (13 pacientes) requieren alta carga de glucosa en la pauta dialítica para optimizar manejo de volumen [Tabla 3].

Los datos de función peritoneal se encuentran desglosados en la Tabla 4, de los que destacan valores estables y en rangos de la normalidad durante el seguimiento de los habituales parámetros de transporte de membrana de pequeños (D/P cr) y grandes solutos (excreción proteica peritoneal) y de estado de la membrana peritoneal (MTC cr, MTC urea) así como de transporte de agua libre (Cribado del Na, UFF)

Tabla 4. Datos de la función renal y peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal, en cada tiempo del seguimiento.

Función peritoneal	Basal (n=43pts)	1 año en DP (n=43pts)	2 años en DP (n=42pts)	3 años en DP (n=35pts)
MTC UREA (ml/min) media \pm SD	24.6 \pm 5.9	23.8 \pm 5.5	24.1 \pm 5.5	22.6 \pm 5.2
MTC Cr (ml/min) media \pm SD	9.2 \pm 3.8	9 \pm 2.7	9.6 \pm 2.8	8.5 \pm 3
Excreción proteica peritoneal (gr/24h) media \pm SD	5.9 \pm 1.8	6.4 \pm 2.1	6.5 \pm 2	6.2 \pm 2
Cribado del Na media \pm SD	3.4 \pm 2.2	4 \pm 2.2	3.3 \pm 2.9	4 \pm 2.6
D/P Cr (media \pm SD)	0.71 \pm 0.06	0.70 \pm 0.07	0.69 \pm 0.07	0.66 \pm 0.08
FRR (ml/min) (media \pm SD)	6.5 \pm 2.4	4.3 \pm 2.9	3.3 \pm 3	2.5 \pm 2.7
D/P Cr >0.8	3 (7.1%)	3 (7.1%)	5 (12.2%)	3 (9.1%)
MTC Cr >12	5 (12.2%)	6 (14.6%)	8 (20.5%)	3 (10.3%)
Fallo de ultrafiltración <400cc / 4h (UFF)	6 (15.4%)	3 (7.3%)	2 (5%)	4 (13.8%)

MTC: coeficiente de transferencia de masas; Cr: creatinina; Na: sodio; FRR: función renal residual; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina, UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%, SD: desviación estandar

Diez pacientes de los 43 que iniciaron el estudio desarrollaron fallo de membrana (PMF), según los criterios diagnósticos descritos en el apartado de métodos 4.4. El tiempo de seguimiento de éstos pacientes fue de 46.2 meses (rango 22-41 meses), sin diferencias significativas con respecto al tiempo de seguimiento de los pacientes que no desarrollaron PMF: 35.2 meses (rango 13-65 meses).

Sólo 2 pacientes, de los incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal, fueron diagnosticados de EPS, según los criterios diagnósticos descritos en el apartado de métodos 4.5, a los 80 y 91 meses respectivamente, habiendo presentado ambos previamente PMF.

No se han encontrado en nuestra serie diferencias significativas en cuanto a las variables demográficas, clínicas o de función peritoneal entre los pacientes que presentaron PMF o EPS y los que no lo hicieron.

Tal y como se comentó en el apartado de métodos 4.1, aunque sólo 35 de los 43 pacientes iniciales completaron la determinación de valores de CCL18 en suero y efluente en el tercer año en DP, llevamos a cabo un abordaje de la muestra por intención de tratar sobre el global de los pacientes incluidos para evitar sesgos de selección positiva o negativa, máxime considerando el tamaño muestral.

5.1.2 Estudio transversal

5.1.2.1 Variables clínicas

Tratando de confirmar las tendencias observadas en el estudio longitudinal llevamos a cabo un estudio transversal sobre 61 pacientes de larga permanencia en DP (al menos 3 años), de los que se analizó la última muestra disponible previa su salida de técnica de DP.

El tiempo medio de seguimiento fue de 57.7 meses (rango 30.4–152.9 meses). La edad media de los 61 pacientes incluidos fue de 53 años (rango 21-86 años). La causa de enfermedad renal crónica fue variable, siendo la nefropatía diabética la etiología de 6 de los pacientes incluidos (en 2 casos secundaria DM tipo 1 y en 4 casos en contexto de DM tipo 2). Un alto porcentaje de los pacientes eran hipertensos y dislipémicos. Sólo 2 pacientes eran diabéticos tipo 1. Aproximadamente un tercio de los pacientes presentaba enfermedad vascular central (IAM, ACVA) o periférica y casi un 9% cumplía criterios de obesidad. Siete pacientes al final del seguimiento habían sido intervenidos mediante cirugía abdominal mayor [Tabla 5].

De nuevo hubo una baja exposición a tratamientos inmunomoduladores, como los inmunosupresores, o a fármacos utilizados ante sospecha clínica de fibrosis grave peritoneal o EPS (Tamoxifeno), con un alto porcentaje de pacientes tratados con IECA / ARA II, en el momento de la muestra.

Tabla 5. Características clínicas de los 61 pacientes incluidos en el estudio transversal de más de tres años en DP

Etiología de enfermedad renal crónica	Glomerulonefritis Crónica: 10 pacientes Nefropatía Diabética (2ptes DM1 y 4ptes DM2): 6 pacientes Nefroangioesclerosis: 7 pacientes Poliquistosis Hepatorrenal autosómica dominante: 6 pacientes Nefropatía obstructiva: 8 pacientes Enfermedad Sistémica: 6 pacientes Nefropatía túbulo-intersticial: 2 pacientes No filiada: 16 pacientes
Hipertensión	52 pacientes (92.9%)
Diabetes mellitus	DM Tipo 1: 2 pacientes (3.6%) // DM tipo 2: 9 pacientes (16.1%)
Dislipemia	41 pacientes (73.2%)
Infarto de miocardio o ACVA	21 pacientes (37.5%)
Enfermedad vascular periférica	20 pacientes (37.5%)
Obesidad	5 pacientes (8.9%)
Cirugía abdominal mayor	7 pacientes (12.5%)
Tratamiento esteroideo	4 pacientes (7.4%)
Tratamiento con Tamoxifeno	3 pacientes (5.3%)
Tratamiento con IECA / ARA II	38 pacientes (70.4%)

DM: diabetes mellitus; ACVA: accidente cerebrovascular agudo; IECA: inhibidores de enzima convertasa de la angiotensina; ARA II: antagonistas del receptor de la angiotensina II

5.1.2.2 Variables de factores de riesgo y de funcionalidad de membrana peritoneal

Los datos de función peritoneal y de factores de riesgo de membrana peritoneal de los 61 pacientes incluidos en el estudio transversal de pacientes de larga permanencia en DP se describen en la Tabla 6. Cabe destacar que más de la mitad de los pacientes presentaban tratamiento dialítico con soluciones biocompatibles en el momento de la muestra, siendo muy bajas las incidencias de peritonitis y hemoperitoneo objetivadas. La mitad de los pacientes son anúricos en el momento de la muestra y probablemente en dicho contexto, utilizan altas cargas de glucosa en el tratamiento dialítico para optimizar el manejo de volumen ante una FRR media de 1.9ml/min.

Es relevante destacar que los valores medios de transporte y funcionalidad de membrana peritoneal (D/P cr, MTC de urea y cr) se encuentran en rangos de lo considerado como normalidad de transporte peritoneal, pese a estar incluidos pacientes de larga duración en diálisis peritoneal. Sólo 13 pacientes de los 61 incluidos presentaba datos de alto transporte según los parámetros definidos de D/P cr >0.8 y MTC cr >12ml/min en el momento de la muestra [Tabla 6].

Tabla 6. Datos de función peritoneal y de factores de riesgo de la membrana peritoneal de los 61 pacientes incluidos en el estudio transversal de larga estancia en DP

Función peritoneal		Factores de riesgo de la membrana peritoneal	
MTC UREA (ml/min) media ± SD	21.3 ± 5.4	Peritonitis (n)	1.47
MTC Cr (ml/min) media ± SD	9.6 ± 3.7	Días de inflamación acumulada	4.2
Excreción proteica peritoneal (g/24h) media ± SD	5.8 ± 2.7	Hemoperitoneo	2 (3.6%)
Cribado del Na (media ± SD)	3.2 ± 3	Alta carga de Glucosa (≥50% glucosa 2.27%)	28 (51.9%)
D/P Cr (mean ± SD)	0.70 ± 0.03	Soluciones de diálisis Biocompatibles	34 (63%)
FRR (ml/min) (media ± SD)	1.9 ± 2.5	Pacientes anúricos	22 (50%)
D/P Cr > 0.8	13 (22.4%)	Paciente de alto riesgo (anúricos &/o DM1 &/o alta carga de glucosa)	32 (52.5%)
Cr MTC >12 ml/min	12 (21.1%)	Fallo de Ultrafiltración (UFF)	17 (29.8%)

MTC: coeficiente de transferencia de masas; Cr: creatinina; Na: sodio; FRR: función renal residual; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina, UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%, SD: desviación estándar

Veintidós de los 61 pacientes estudiados desarrolló PMF según los criterios diagnósticos descritos en el apartado de métodos 4.4, con una media de tiempo de presentación de 55.9 meses (rango 19-124 meses), y de éstos, 6 pacientes cumplieron criterios de EPS (métodos sección 4.5) a un tiempo de seguimiento medio de 106.3 meses en DP (rango 60-147 meses) y habiendo presentado previamente PMF.

5.2 CCL18 en suero

5.2.1 Niveles de CCL18 en suero durante el seguimiento del estudio longitudinal

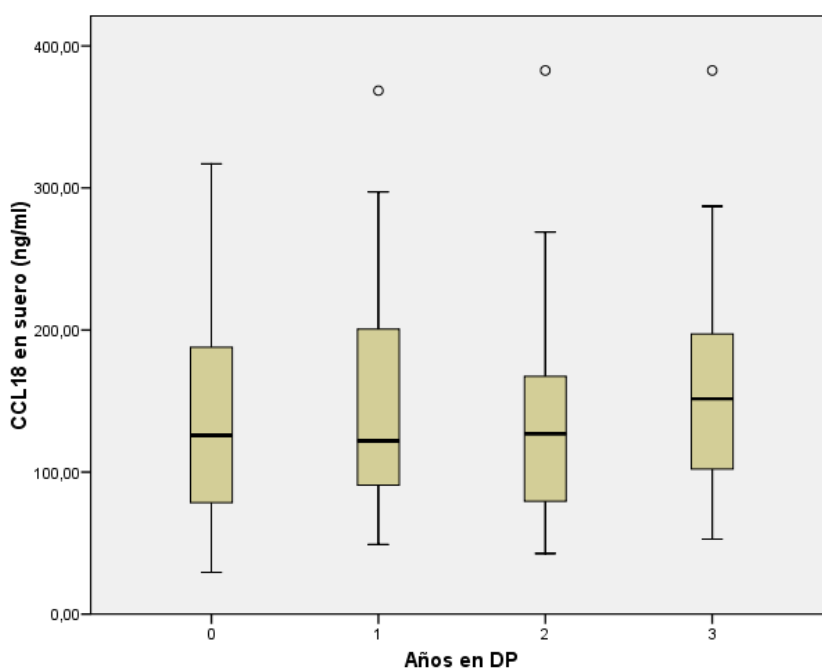
Los valores medios de CCL18 en suero durante el seguimiento realizado en el estudio longitudinal se reflejan en la Tabla 7 y en la Figura 12. La media de dichos valores es de 151.59 ± 72.06 ng/ml en el tercer año de tratamiento con DP. Se ha objetivado una alta variabilidad entre sujetos del estudio, sin que se hayan evidenciado cambios evolutivos significativos de sus valores medios durante el seguimiento, como se observa en la Figura 12 y según el estudio realizado mediante análisis de regresión lineal de modelos mixtos descrito en el apartado métodos 4.9.

Tabla 7. Valores medios de CCL18 en suero a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal.

Niveles de CCL18 en SUERO (ng/ml)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Media \pm SD	134.51 \pm 66.51	149.59 \pm 79.34	137.80 \pm 71.41	151.59 \pm 72.06

SD: desviación estándar

Figura 12. Valores y evolución de los niveles de CCL18 en suero a lo largo del seguimiento durante el estudio longitudinal transversal llevado a cabo sobre 43 pacientes.



5.2.2 Asociación de CCL18 en suero con variables clínicas, de transporte peritoneal y funcionalidad de membrana

No se objetivó asociación significativa entre los niveles de CCL18 en suero y los parámetros clínicos, uso de soluciones biocompatibles, peritonitis, datos de transporte peritoneal o tratamientos con agentes inmunomoduladores, en cada uno de los tiempos analizados en nuestra muestra como se detalla en las siguientes tablas [Tabla 8,Tabla 10].

Aunque en la Tabla 8 se objetivan valores más elevados de CCL18 en suero en los pacientes DM tipo1, al desglosar estos dos pacientes se objetivan valores muy dispares entre los dos sujetos diabéticos DM1 y sólo uno de ellos realmente presentaba valores elevados, ante lo que no podemos pronunciarnos [Tabla 9].

Tabla 8. Comparación de los valores de CCL18 en suero respecto de las características clínicas y tratamientos de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo.

CCL18 suero (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
HTA	no	127.8	183.3	139.03	213.9	136.49	133.15	148.00	198.85
Sig		0,155		0,085		0,950		0.348	
DM 1 (n=2)	no	186.83	129.17	196.38	137.81	269.25	130.06	242.27	151.77
Sig		0.254		0.261		0.434		0.108	
DM 2	no	128.34	129.17	157.63	137.81	127.39	130.06	117.19	151.77
Sig		0.974		0.488		0.914		0.287	
DL	no	135.75	122.87	139.85	154.48	131.59	146.52	140.52	176.13
Sig		0.558		0.552		0.541		0.200	
IAM / ACVA	no	150.45	123.38	157.67	138.42	149.04	130.43	178.55	139.51
Sig		0,215		0.433		0.446		0.159	
Enfermedad Vascular periférica	no	159.46	124.21	174.48	136.17	188.86	123.60	175.95	145.64
Sig		0.313		0.163		0.120		0.365	
Obesidad	no	118.01	135.03	146.19	140.49	133.14	139.48	137.97	143.12
Sig		0.563		0.857		0.845		0.872	
CCL18 suero (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
IECA-ARA II	no	130.55	123.27	130.47	170.33	131.10	134.46	117.36	181.62
Sig		0.776		0.225		0.897		0.183	
Inmunosupresión	no	91.35	134.87	132.28	145.65	144.03	135.94	191.44	149.77
Sig		0.268		0.730		0.879		0.582	
Tamoxifeno	no	-	131.76	-	144.38	-	136.33	163.1	150.63
Sig		-		-		-		0.869	

HTA: hipertensión, DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; DL: dislipemia; IAM: infarto agudo de miocardio; ACVA: accidente cerebrovascular agudo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA II; antagonistas del receptor de la angiotensina II; Sig: significación estadística o valor de p

Tabla 9. Valores de CCL18 en suero de los dos pacientes diabéticos tipo 1 (DM1) incluidos en el estudio longitudinal

CCL18 suero (ng/dl)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Paciente DM1 (1)	108.87	118.77	155,81	197.44
Paciente DM1 (2)	264.80	274.00	382,70	287.10
Media ± SD de los pacientes no DM1	131.9± 64.79	143.3± 78.7	131.2± 61.4	146.1± 69.6

DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; SD: desviación estandar

Tabla 10. Comparación de los valores de CCL18 en suero respecto de los factores de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo

CCL18 suero (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
Anúricos	no	130.38	132.45	132.09	150.52	153.15	127.61	158.30	147.01
Sig		0.935		0.444		0,285		0.674	
Alta glucosa	Baja	148.45	120.60	170.08	128.27	145.66	132.14	153.69	152.85
Sig		0.53		0.178		0.630		0.977	
Qx. mayor abd.	no	106.61	149.38	130.60	158.42	166.58	149.16	170.00	182.45
Sig		0.290		0.564		0.708		0.777	
Hemoperitoneo	no	-	131.766	-	144.38	-	136.33	163.10	150.63
Sig		-		-		-		0.869	
Sol.Biocompatible	no	133.14	130.62	148.93	139.83	136.46	136.21	159.30	139.25
Sig		0.902		0.689		0.991		0.436	
Peritonitis (n)	no	145.14	130.73	152.00	142.58	134.07	137.63	147.47	153.17
Sig		0.716		0.745		0880		0.829	
UFF	no	136.68	132.83	126.85	134.59	218.89	127.75	170.93	152.94
Sig		0.893		0.850		0.090		0.677	
D/P cr >0,8	no	160.72	131.04	92.45	148.37	205.83	126.68	107.99	154.89
Sig		0.453		0.202		0.196		0.304	
MTC Cr>12ml/min	no	166.26	129.10	133	142.89	187.43	120.17	144.77	155.32
Sig		0.239		0.756		0.107		0.873	

Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; Biocompatible; soluciones de diálisis empleadas biocompatibles; UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina. Sig: significación estadística o valor de p

Así mismo, en el estudio transversal realizado sobre 61 pacientes de más de 3 años en DP no se objetivaron asociaciones o diferencias significativas de los valores de CCL18 en suero respecto de las variables clínicas, como se observa en la Tabla 11.

Tabla 11. Valores de CCL18 en suero en el estudio transversal de corte según las características clínicas, de riesgo y funcionalidad de membrana

		CCL18 suero (ng/dl)				CCL18 suero (ng/dl)	
HTA	no	159.59	136.92	Biocompatible	no	147.62	159.32
Sig		0.617		Sig		0.614	
DM 1 (n=2)	no	242.27	156.73	IECA /ARA II	no	114.15	175.35
Sig		0.184		Sig		0.114	
Obesidad	no	137.49	155.91	Inmunosupresión	no	127.69	153.89
Sig		0.64		Sig		0.54	
DL	no	148.60	183.57	Tamoxifeno	no	183.25	150.11
Sig		0.181		Sig		0.498	
IAM / ACVA	no	177.95	145.98	Anúricos	no	163.73	132.03
Sig		0.181		Sig		0.207	
Enfermedad Vascular periférica	no	162.89	155.23	Alta Glucosa	Baja	164.75	138.77
Sig		0.753		Sig		0.296	
DP>60 meses (n=23)	no	155.19	162.25	Peritonitis	no	160.51	154.82
Sig		0.762		Sig		0.809	
UFF	no	151.82	160.18	MTC cr>12	no	133.44	160.12
Sig		0.745		Sig		0.336	

Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; Biocompatible; soluciones de diálisis empleadas biocompatibles; UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina. Sig: significación estadística o valor de p

5.2.3 Asociación de CCL18 en suero y desarrollo posterior de PMF o EPS

No hubo asociación en ninguno de los tiempos del estudio longitudinal retrospectivo realizado entre los valores de CCL18 en suero y el desarrollo posterior de fallo de membrana peritoneal (PMF) o EPS [Tabla 12].

Tabla 12. Valores de CCL18 en suero en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs. los que no lo hicieron.

CCL18 suero (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
PMF (n=10)	no	126.93	136.80	145.94	150.70	158.08	131.46	157.09	149.39
Sig		0.686		0.870		0.309		0.780	
EPS (n=2)	no	179.45	132.31	233.26	141.51	134,23	137,98	120.68	153.46
Sig		0.334		0.633		0.943		0.540	

PMF: fallo de membrana peritoneal; EPS: esclerosis peritoneal encapsulante; Sig: significación estadística o p

En el estudio de corte transversal realizado sobre 61 pacientes de larga permanencia en técnica (al menos 3 años en DP) los valores de CCL18 en suero fueron más elevados en aquellos pacientes que presentaron posteriormente PMF (161.84 ng/ml vs 155.28ng/ml; $p=0,77$) o EPS (177.41ng/ml vs 155.49ng/ml; $p=0.54$) respecto de los que no lo presentaron, pero sin asociación estadística significativa.

5.3 CCL18 en efluente

5.3.1 Niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento del estudio longitudinal

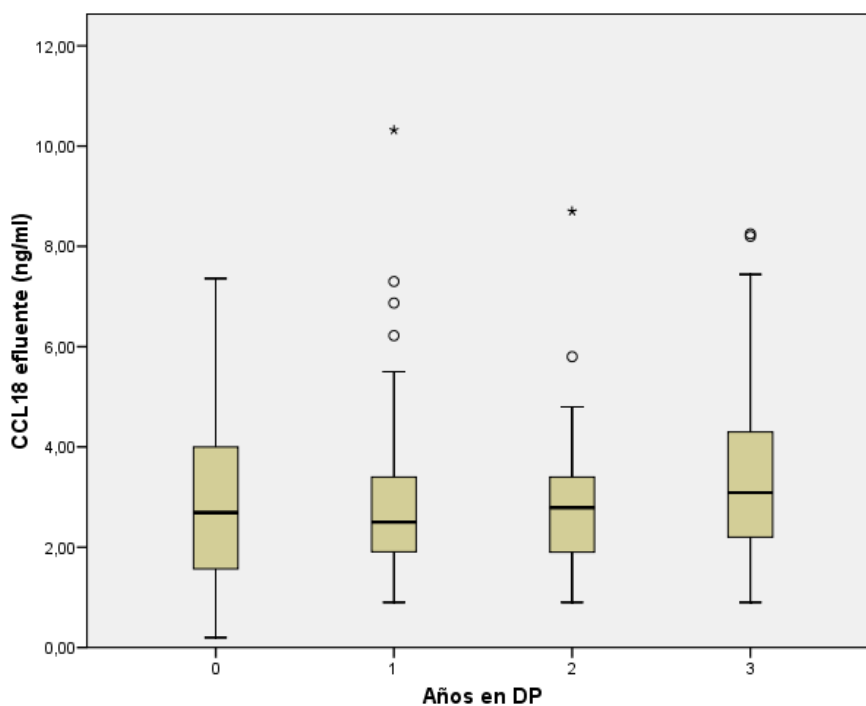
Los valores medios de CCL18 en suero durante el seguimiento realizado en el estudio longitudinal se reflejan en la Tabla 13 y en la Figura 13 . La media de dichos valores es de 3.43 ± 1.78 ng/ml en el tercer año de tratamiento con DP. Se ha objetivado una alta variabilidad entre sujetos del estudio, sin que se hayan evidenciado cambios evolutivos significativos de sus valores medios durante el seguimiento, tal y como se observa en la Figura 13 y según el estudio realizado mediante análisis de regresión lineal de modelos mixtos descrito en el apartado métodos 4.9.

Tabla 13. Valores medios de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal

CCL18 en efluente (ng/ml)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Media \pm SD	2.82 \pm 1.56	3.12 \pm 2.05	2.94 \pm 1.77	3.43 \pm 1.78

SD: desviación estándar

Figura 13. Valores y evolución de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento durante el estudio longitudinal transversal llevado a cabo sobre 43 pacientes.



5.3.2 Asociación de CCL18 en efluente con variables clínicas

En el estudio longitudinal no se objetivaron diferencias significativas en los valores de CCL18 en efluente en relación a tratamientos potencialmente antifibróticos (IECA / ARA II), inmunomoduladores (inmunosupresión) o tratamientos clásicamente utilizados ante sospecha clínica de fibrosis peritoneal (tamoxifeno); aunque la presencia de éste último es testimonial encontrándose sólo 1 de los 43 pacientes del estudio tratado con tamoxifeno en el tercer año en DP [Tabla 14].

No hubo diferencias en los valores de CCL18 en efluente respecto de las variables clínicas recogidas con la excepción de los pacientes DM1 como describiremos a continuación.

Tabla 14. Comparación de los valores de CCL18 en efluente respecto de las características clínicas y tratamientos de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo

CCL18 efluente (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
HTA	no	2.78	2.70	3.03	3.30	2.88	3.30	3.37	3.85
Sig		0.929		0.861		0.820		0.725	
DM 1 (n=2)	no	4.29	2.68	4.72	3.06	6.45	2.75	5.97	3.37
Sig		0.171		0.296		0.004		0.048	
DM 2	no	2.78	2.68	2.69	3.06	2.58	2.75	2.69	3.37
Sig		0.868		0.566		0.715		0.370	
DL	no	2.80	2.72	2.96	3.24	3.01	2.64	3.31	3.62
Sig		0.875		0.688		0.548		0.646	
IAM / ACVA	no	2.71	2.80	3.23	2.97	3.43	2.66	4.24	3.05
Sig		0.872		0.707		0.354		0.081	
Enfermedad Vascular periférica	no	3.03	2.70	3.35	2.96	4.30	2.54	3.43	3.39
Sig		0.588		0.612		0.141		0.962	
Obesidad	no	3.46	2.68	2.85	3.03	3.18	3.01	3.17	3.51
Sig		0.270		0.633		0.836		0.718	
CCL18 efluente (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
IECA-ARA II	no	3,11	2,88	1,85	3,53	2,48	2,68	2,69	3,87
Sig		0,730		0,138		0,709		0,110	
Inmunosupresión	no	1,44	2,88	4,15	2,93	2,68	2,90	4,07	3,38
Sig		0,122		0,600		0,863		0,714	
Tamoxifeno	no	-	2,77	-	3,05	-	2,89	5,90	3,32
Sig								0.164	

HTA: hipertensión, DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; DL: dislipemia; IAM: infarto agudo de miocardio; ACVA: accidente cerebrovascular agudo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA II; antagonistas del receptor de la angiotensina II; Sig: significación estadística o valor de p

Tal y como se muestra en la Tabla 14, los valores de CCL18 en efluente fueron relevantemente más elevados en todos los tiempos en los pacientes con DM1, respecto del resto de pacientes; siendo esta diferencia estadísticamente significativa en el segundo (6.45 vs 2.75ng/ml p=0.004) y tercer año de DP (5.97 vs 3.37ng/ml p=0.048).

Sin embargo, sólo 2 pacientes de los 43 estudiados estaban diagnosticados de DM1 ante lo que se desestimó una comparativa de la media de sus valores y los pacientes fueron tratados de forma individual. Se desglosan a continuación en la Tabla 15 los valores brutos de cada uno de los 2 pacientes diabéticos tipo 1 (paciente 1 y paciente 2), mostrándose relevantemente superiores en ambos casos en efluente con variabilidad de su comportamiento en suero.

Tabla 15. Valores de CCL18 en suero y efluente de los dos pacientes diabéticos tipo 1 (DM1) incluidos en el estudio longitudinal

CCL18 en SUERO (ng/ml)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Paciente DM1 (1)	108.87	118.77	155,81	197.44
Paciente DM1 (2)	264.80	274.00	382,70	287.10
Media ± SD de los pacientes no DM1	131.9± 64.79	143.3± 78.7	131.2± 61.4	146.1± 69.6
CCL18 en EFLUENTE (ng/ml)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Paciente DM1 (1)	4.48	3.94	4.21	3.74
Paciente DM1 (2)	4.10	5.50	8.70	8.20
Media ± SD de los pacientes no DM1	2.7± 1.5	3± 2.1	2.7± 1.5	3.2± 1.6

DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; SD: desviación estándar

Las diferencias evidenciadas en efluente no se acompañaron, sin embargo, de diferencias en cuanto a los parámetros de riesgo peritoneal [Tabla 16].

Tabla 16. Comparativa de los parámetros de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes diabéticos tipo 1 y los no DM1 en cada uno de los tiempos analizados del estudio longitudinal

Factores de riesgo de Membrana	Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
	DM1	No DM1	DM1	No DM1	DM1	No DM1	DM1	No DM1
Peritonitis (n)	0	0.1	0	0.2	0	0.4	0.5	0.4
Días de inflamación acumulada	0	0.25	0	0.93	0	2	1.5	3
Hemoperitoneo	0	0	0	0	0	0	0	1
Alta glucosa	0	2 (4.9%)	0	10 (24.4%)	1	9 (22%)	2	6 (14.6%)
Soluciones biocompatibles	2	17 (41.5%)	2	19 (46.3%)	2	21 (51.2%)	2	18 (43.9%)
Anúricos	2	1 (2.4%)	2	4 (9.8%)	2	9 (22%)	2	9 (22%)
D/P Cr >0.8	1	2 (4.9%)	0	3 (7.3%)	1	4 (9.8%)	0	3 (7.3%)
MTC Cr >12	2	3 (7.3%)	1	5 (12.2%)	1	7 (17.1%)	1	2 (4.9%)

Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; Biocompatible; soluciones de diálisis empleadas biocompatibles; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina

5.3.3 Asociación de CCL18 en efluente con variables de funcionalidad de membrana y riesgo peritoneal

En tiempo basal, objetivamos valores de CCL18 en efluente significativamente más elevados en aquellos pacientes con alta carga de glucosa (4.60 vs. 2.54 ng/ml; $p=0.027$), peritonitis en el primer año (4.55 vs. 2.64 ng/ml; $p=0.038$) y datos de alto transporte peritoneal (MTC cr >12: 4.35 vs. 2.64 ng/ml, $p=0.019$; D/P Cr >0.8: 4.61 vs. 2.66 ng/ml, $p=0.035$) o presencia de UFF (3.93 vs. 2.56 ng/ml, $p=0.05$) [Tabla 17].

Algunas de estas diferencias se mantienen en el segundo año en DP como la asociación de niveles de CCL18 en efluente más elevados en pacientes con UFF (5.85 vs. 2.82 ng/ml, $p=0.027$), sin que se hayan acompañado de otros datos significativos.

Tabla 17. Comparación de los valores de CCL18 en efluente respecto de los factores de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo

CCL18 efluente (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
Anúricos	no	4.31	2.71	2.08	2.95	3.65	2.61	3.51	3.07
Sig		0.274		0.380		0.126		0.478	
Alta glucosa	Baja	4.60 (n=2)	2.54	4.70	2.51	3.18	2.78	3.87	3.09
Sig		0.027		0.055		0.547		0.332	
Qx mayor abd.	no	2.77	2.75	4.58	2.79	3.50	3.20	4.71	3.53
Sig		0.982		0.179		0.826		0.326	
Hemoperitoneo	no	-	2.77	-	3.05	-	2.89	5.9	3.32
Sig		-		-		-		0.164	
Sol.Biocompatible	no	2.95	2.62	3.19	2.90	3.25	2.53	3.58	3.14
Sig		0.502		0.654		0.199		0.494	
Peritonitis (n)	no	4.55 (n=3)	2.64	2.75	3.11	2.51	3.10	3.66	3.24
Sig		0.038		0.673		0.320		0.521	
UFF	no	3.93 (n=6)	2.56	3.01	2.94	5.85	2.82	3.40	3.05
Sig		0.050		0,957		0.027		0.710	
D/P cr >0,8	no	4.61 (n=3)	2.66	4.35	2.94	3,45	2,81	3,71 (n=3)	3,29
Sig		0.035		0.250		0.453		0.698	
MTC Cr>12ml/min	no	4.35 (n=5)	2.64	3.09 (n=6)	3.06	4.30	2.61	5.16	3.07
Sig		0.019		0.980		0.023		0.064	

Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; Biocompatible; soluciones de diálisis empleadas biocompatibles; UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina. Sig: significación estadística o valor de p

No hubo diferencias en cuanto a soluciones de diálisis empleadas, función renal residual o pacientes anúricos, en ninguno de los tiempos empleados [Tabla 17].

5.3.4 Asociación de CCL18 en efluente con variables, clínicas, de funcionalidad de membrana y de riesgo peritoneal en el estudio de corte transversal

En el estudio transversal realizado sobre 61 pacientes de al menos 3 años en DP se objetivaron de nuevo valores más elevados de CCL18 en efluente en los pacientes con DM1, pero sin asociación significativa [Tabla 18].

Observamos, de forma similar a los datos obtenidos del estudio longitudinal, una asociación entre valores más elevados de CCL18 en efluente y pacientes con alto transporte, siendo significativa sólo en el caso de MTC $cr > 12$ (5.37 vs. 3.35 ng/ml, $p = 0.014$) y no en el D/P de cr (4.34 vs. 3.63 ng/ml, $p = 0.376$). Los pacientes anúricos presentaron valores significativamente superiores de CCL18 en efluente (4.35 vs. 2.99 ng/ml, $p = 0.0015$), sin que encontráramos diferencias significativas en cuanto a peritonitis o larga estancia en DP (> 60 meses) [Tabla 18].

No se observaron otras diferencias significativas en cuanto a otras variables clínicas o de tratamientos recibidos.

Tabla 18. Valores de CCL18 en efluente en el estudio transversal de corte según las características clínicas, de riesgo y funcionalidad de membrana

		CCL18 efluente (ng/dl)				CCL18 efluente (ng/dl)	
HTA	no	3.82	3,20	Biocompatible	no	3.70	3.79
Sig		0.605		Sig		0.886	
DM 1 (n=2)	no	5.97	3.82	Inmunosupresión	no	4.50	3.67
Sig		0.200		Sig		0.477	
Obesidad	no	3.49	4.03	Tamoxifeno	no	4.82	3.67
Sig		0.629		Sig		0.389	
DL	no	3.59	4.26	Peritonitis	no	3.63	3.95
Sig		0.336		Sig		0.611	
IAM / ACVA	no	4.40	3.40	Anúricos	no	4.35	2.99
Sig		0.111		Sig		0.015	
Enfermedad Vascular periférica	no	3.98	3.66	Alta Glucosa	Baja	4.34	3.02
Sig		0.620		Sig		0.062	
DP > 60 meses (n=23)	no	4.03	3.98	D/P $cr > 0.8$		4.34	3.63
Sig		0.944				0.376	
UFF	no	4.03	3.58	MTC $cr > 12$	no	5.37	3.35
Sig		0.564		Sig		0.014	

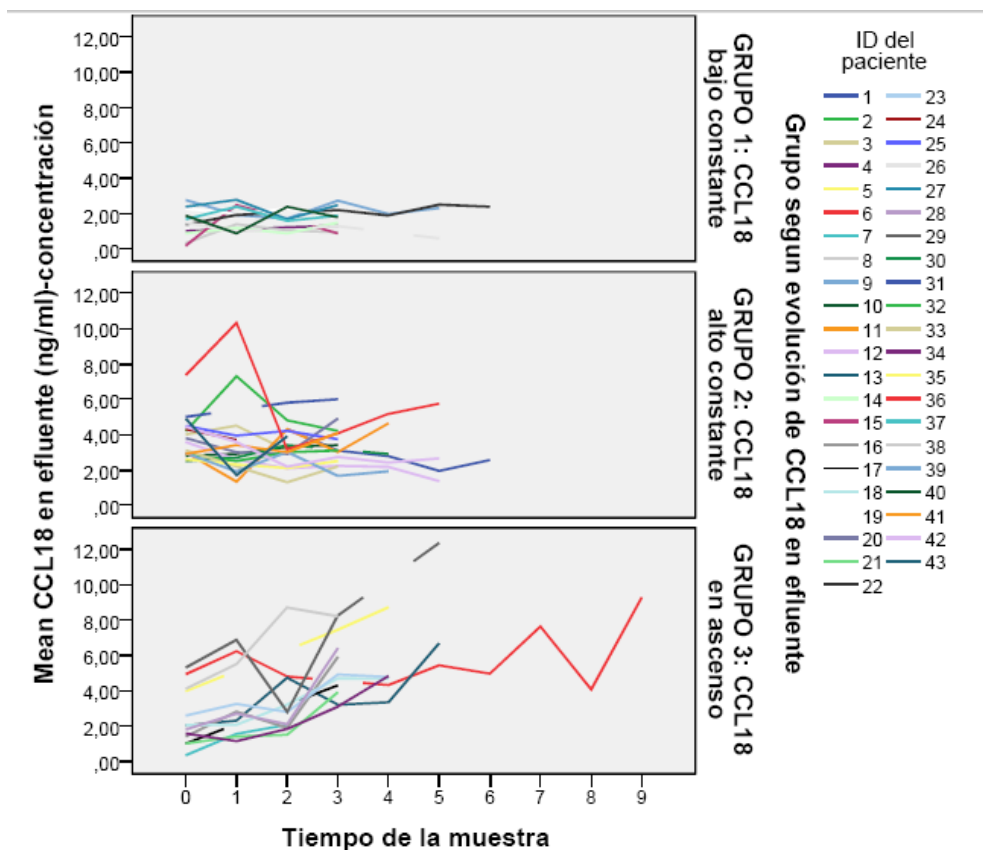
Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; Biocompatible; soluciones de diálisis empleadas biocompatibles; UFF: Fallo de ultrafiltración < 400 cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina. Sig: significación estadística o valor de p

5.4 CCL18 en efluente: ¿un nuevo marcador de fallo de membrana?

De forma observacional, en el análisis del comportamiento de CCL18 en efluente, destacamos un grupo de pacientes que presentaban niveles de CCL18 en efluente bajos y estables durante el seguimiento, mientras que el resto de los pacientes o bien presentaba valores altos de CCL18 en efluente desde el inicio y mantenidos durante el seguimiento o bien incrementaba sus valores de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.

Así establecimos inicialmente 3 grupos de pacientes dentro de los incluidos en el estudio longitudinal, de acuerdo al comportamiento de CCL18 en efluente de los mismos, tal y como se muestra en la Figura 14

Figura 14. Distribución individual de los pacientes según el comportamiento de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento del estudio longitudinal (incluido un seguimiento posterior de los mismos más allá del final del estudio longitudinal)



Definimos por tanto inicialmente tras comportamientos;

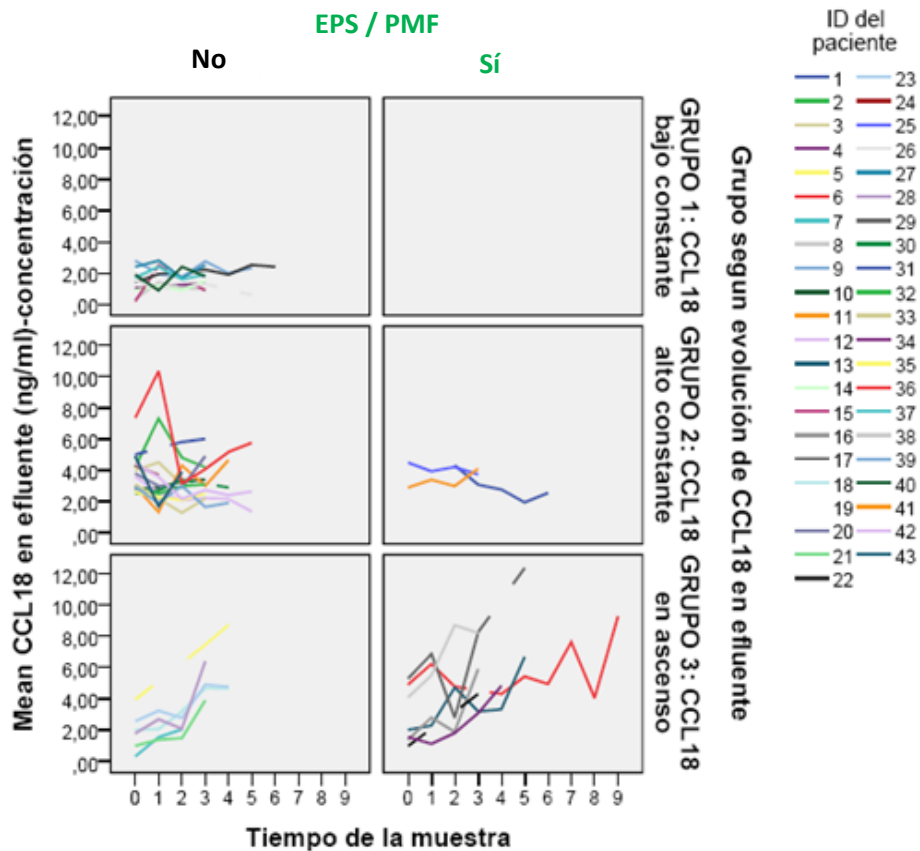
-Grupo 1: pacientes que presentaban niveles de CCL18 en efluente bajos y estables durante el seguimiento (en el que se incluyeron 11 pacientes)

-Grupo 2: pacientes que presentaban niveles de CCL18 en efluente altos desde el inicio del seguimiento y mantenidos durante el mismo (19 pacientes)

-Grupo 3: pacientes que presentaron un incremento de los valores de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento (13 pacientes)

Al analizar el desarrollo posterior de EPS o PMF cabe destacar que ninguno de los pacientes incluidos en el Grupo 1 (niveles de CCL18 en efluente bajos y estables durante el seguimiento) presentó EPS o PMF, como se evidencia en la Figura 15.

Figura 15. Pacientes del estudio longitudinal que desarrollan o no EPS / PMF clasificados según los grupos realizados en base al comportamiento de CCL18 en efluente peritoneal a lo largo del seguimiento (incluido un seguimiento posterior de los mismos más allá del final del estudio longitudinal)



Dado que sólo los pacientes del Grupo 1 no presentaron desarrollo posterior de EPS / PMF consideramos para el análisis posterior sólo dos grupos:

-Grupo 1: pacientes que presentaban niveles de CCL18 en efluente bajos y estables durante el seguimiento, en el que se incluyeron 11 pacientes.

-Grupo 2: que incluye el resto de comportamientos de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento durante el estudio longitudinal (englobando a los grupos denominados anteriormente grupo 2 y grupo3), en el que se encontraban los 32 pacientes restantes.

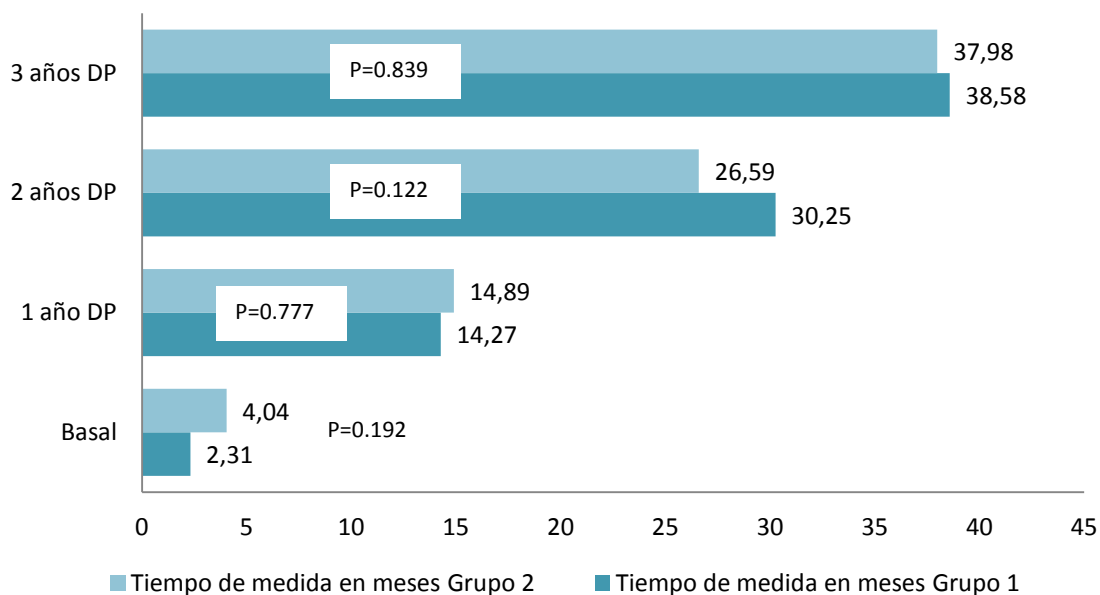
Las medias de los valores de CCL18 en suero y efluente de los pacientes incluidos en cada uno de esos dos grupos se detallan a continuación en la Tabla 19. Los valores de CCL18 en efluente fueron significativamente más bajos en todos los tiempos en el caso de los pacientes incluidos en Grupo 1 respecto a Grupo 2 , objetivándose valores de CCL18 en suero también más bajos pero sin significación estadística salvo a los 2 años en DP [Tabla 19].

Tabla 19. Valores de CCL18 en suero y efluente según los grupos establecidos en cuanto a la evolución de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento (Grupo 1 y Grupo 2). Comparativa de medias mediante T-Student.

CCL18 (ng/ml)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
Media ± SD									
SUERO	Grupo 1	107,17 ± 48.04	0.15	117,70 ± 53	0.60	104,66 ± 37.88	0.02	117,58 ± 44.05	0.10
	Grupo 2	143,90 ± 69.95		160,55 ± 84.48		149,56 ± 77.11		163,36 ± 76.69	
EFLUENTE	Grupo 1	1.49 ± 0.83	0.00	1,75 ± 0.64	0.00	1,54 ± 0.90	0.00	1,8 ± 0.69	0.001
	Grupo 2	3,28 ± 1.50		3,61 ± 2.16		3,45± 1.79		3,99± 1.69	

Los tiempos de seguimiento o de recogida de la muestra de CCL18 en suero o en efluente de ambos grupos no presentaron diferencias significativas [Figura 16].

Figura 16. Tiempos de recogida de la muestra de CCL18 en suero y en efluente en los pacientes incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento.



Las variables clínicas de ambos grupos se muestran en la Tabla 20; de las que destacamos que ninguno de los pacientes incluidos en el Grupo 1 (valores bajos y estables de CCL18 en efluente) había presentado una cirugía abdominal mayor (factor que no se asoció en el análisis global con los niveles de CCL18 en efluente)

Tabla 20. Comparativa de las variables clínicas de los pacientes del estudio longitudinal incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 establecidos en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.

		Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Etiología de enfermedad renal crónica	Grupo 1	GNC 2 (18.2%) / Nefropatía Diabética 2 (18.2%) // PQHR 1 (9.1%) / Uropatía Obstructiva 1 (9.1%) / Sistémica 1 (9.1%) / NTI 1 (9.1%) / No filiada 3 (27.3%)			
	Grupo 2	GNC 6 (19.4%) / Nefropatía Diabética 4 (12.9%) // PQHR 4 (12.9%) / Uropatía Obstructiva 4 (12.9%) / Sistémica 3 (9.7%) / NTI 1 (3.2%) / No filiada 3 (9.7%)			
Edad (media en años)	Grupo 1	53.82	54.81	56.12	54.54
	Grupo 2	53.05	53.92	54.09	52.38
HTA	Grupo 1	11(100%)			
	Grupo 2	28 (90,3%)			
DM 1 / DM2	Grupo 1	DM1: 0 // DM2: 4 (36.4%)			
	Grupo 2	DM1: 2 (6.5) // DM2: 4 (12.9%)			
DL	Grupo 1	7 (63.3%)			
	Grupo 2	22 (71%)			
IAM/ACVA	Grupo 1	3 (27.3%)			
	Grupo 2	10 (32.3%)			
Enf. Vasc Periférica	Grupo 1	2 (18.2%)			
	Grupo 2	7 (22.6%)			
Obesidad	Grupo 1	1 (9.1%)			
	Grupo 2	6 (19.4%)			
Cirugía abdominal MAYOR	Grupo 1	0	0	0	0
	Grupo 2	3 (9.7%)	3 (9.7%)	4 (13.3%)	4 (16%)

HTA: hipertensión, DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; DL: dislipemia; PQHR: poliquistosis hepatorenal; IAM: infarto agudo de miocardio; ACVA: accidente cerebrovascular agudo.

Cabe destacar que los 2 pacientes con diabetes tipo 1 (DM1) incluidos en el estudio y con valores más elevados de CCL18 en efluente no se encontraban en el Grupo 1, presentando sin embargo comportamientos diferentes de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento:

-Paciente 1 DM1: Valores altos y estables durante el seguimiento (inicial grupo2)

-Paciente 2 DM1: Valores en ascenso durante el seguimiento (inicial grupo3)

Estando descritos los valores brutos de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento y las características clínicas y funcionales de los mismos en el apartado de Resultados 5.3.2.

Los datos de funcionalidad de membrana y riesgo peritoneal de ambos grupos (Grupo 1 y Grupo 2) se muestran a continuación en la Tabla 21.

Tabla 21. Comparativa de las variables de riesgo de membrana y función peritoneal de los pacientes del estudio longitudinal incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 establecidos en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.

Funcionalidad de membrana		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
D/P cr	Grupo 1	0.67	0.06	0.69	0.70	0.67	0.32	0.63	0.30
	Grupo 2	0.72		0.70		0.70			
MTC Cr	Grupo 1	7.53	0.07	8.01	0.12	8.37	0.09	6.67	0.04
	Grupo 2	9.83		9.48		10.08			
MTC urea	Grupo 1	22.67	0.21	23.19	0.64	21.91	0.11	21.13	0.35
	Grupo 2	25.38		24.12		25.01			
Cribado del Na	Grupo 1	4.81	0.06	4.29	0.70	4.79	0.86	4.16	0.91
	Grupo 2	3.04		3.95		2.83			
Excreción proteica	Grupo 1	6.02	0.82	6.69	0.68	6.36	0.70	5.80	0.39
	Grupo 2	5.88		6.35		6.65			
FRR	Grupo 1	6.27	0.74	3.88	0.56	2.64	0.42	2.43	0.88
	Grupo 2	6.60		4.55		3.59			
		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
Anúricos	Grupo 1	0		2 (22.2%)		3 (27.3%)		3 (27.3%)	
	Grupo 2	1 (3.8%)		2 (7.7%)		6 (23.1%)		8 (34.8%)	
Alta glucosa	Grupo 1	0		0		3 (27.3%)		5 (55.6%)	
	Grupo 2	2 (6.5%)		5 (18.8%)		10 (33.3%)		8 (32%)	
Soluciones DP biocompatibles	Grupo 1	4 (26.4%)		5 (45.5%)		5 (45.5%)		4 (44.4%)	
	Grupo 2	15 (48.4%)		16 (51.6%)		16 (51.6%)		18 (60%)	
UFF	Grupo 1	0		2 (22.2%)		0		2 (22.2%)	
	Grupo 2	6 (20.7%)		3 (10%)		4 (19%)		2 (9.5%)	
Peritonitis	Grupo 1	0		2 (18.2%)		5 (45.5%)		4 (44.4%)	
	Grupo 2	3 (9.7%)		6 (19.4%)		10 (33.3%)		9 (36%)	
D/P cr >0.8	Grupo 1	0		1 (9.1%)		1 (9.1%)		1 (11.1%)	
	Grupo 2	2 (6.5%)		2 (6.5%)		4 (13.3%)		2 (8.3%)	
MTC Cr >12ml/min	Grupo 1	0		1 (9.1%)		0		0	
	Grupo 2	2 (6.5%)		2 (6.5%)		5 (16.7%)		3 (14.3%)	

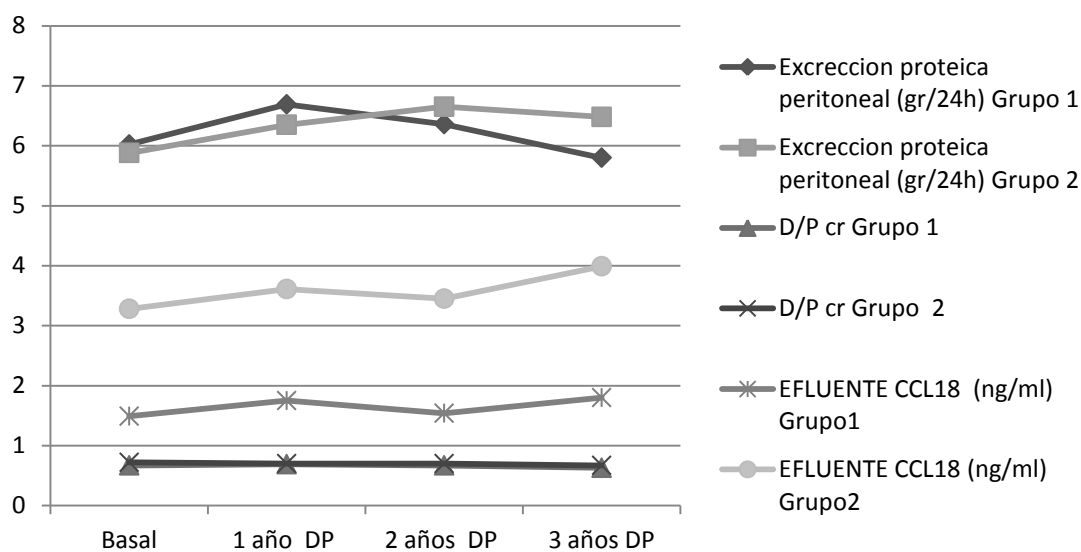
FRR: función renal residual (ml/min); Alta glucosa: al menos el 50% de las soluciones de diálisis utilizadas con glucosa 2.3%; UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina; MTC Cr: coeficiente de transferencia de masas de creatinina.

Se observa una tendencia a menor transporte inicial (D/P cr y MTC cr) en los pacientes pertenecientes al Grupo 1 en valores absolutos, sin relevante significado clínico, puesto que ya se comprobó que un alto transporte inicial no se asocia a fallo de membrana posterior (33,36), y sin diferencias mantenidas durante el seguimiento salvo un menor MTC de creatinina en el tercer año en DP en aquellos pacientes pertenecientes al Grupo 1 [Tabla 21].

Además, destaca una estabilidad de los valores de transporte de membrana frente a la variabilidad de los niveles de CCL18 en efluente, como se comentará de forma más extensa en el apartado de resultados 4.6

Así, valores elevados de CCL18 en efluente en el Grupo 2 no se acompañan de un aumento en el transporte de pequeños solutos (D/P cr) ni de proteínas, como se muestra en la Figura 17.

Figura 17. Evolución de los valores de CCL18 en efluente comparativamente a la de los datos de transporte de pequeños solutos (D/P cr) y de proteínas a través de la membrana peritoneal según los grupos 1 y 2.



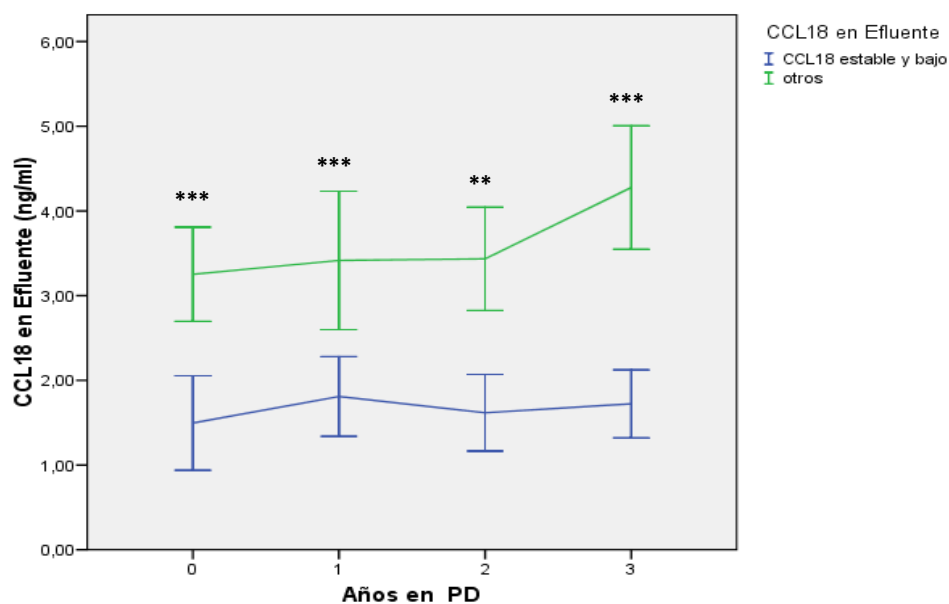
Las diferencias en el comportamiento de los valores de CCL18 en efluente de los pacientes que desarrollaron posteriormente EPS y / o PMF respecto de los que no lo hicieron, nos llevó a un estudio de cada uno de éstos comportamientos, que pormenorizamos a continuación.

5.4.1 Pacientes sin fallo de membrana presentaron niveles bajos y estables de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento

Como describimos en el apartado anterior, de la muestra de 43 pacientes incluidos en el estudio longitudinal cabe destacar un grupo de 11 pacientes (Grupo 1) que mantienen niveles de CCL18 en efluente bajos y estables con una media mantenida inferior a 2ng/ml en todos los tiempos [Tabla 19] y valores significativamente más bajos que los presentados por los 32 pacientes restantes (Grupo 2) en cada punto del seguimiento [Figura 18]

Figura 18. Evolución de los niveles de CCL18 en el estudio longitudinal de acuerdo a los grupos establecidos según su comportamiento (Grupo 1 bajo y estable vs resto de comportamientos)

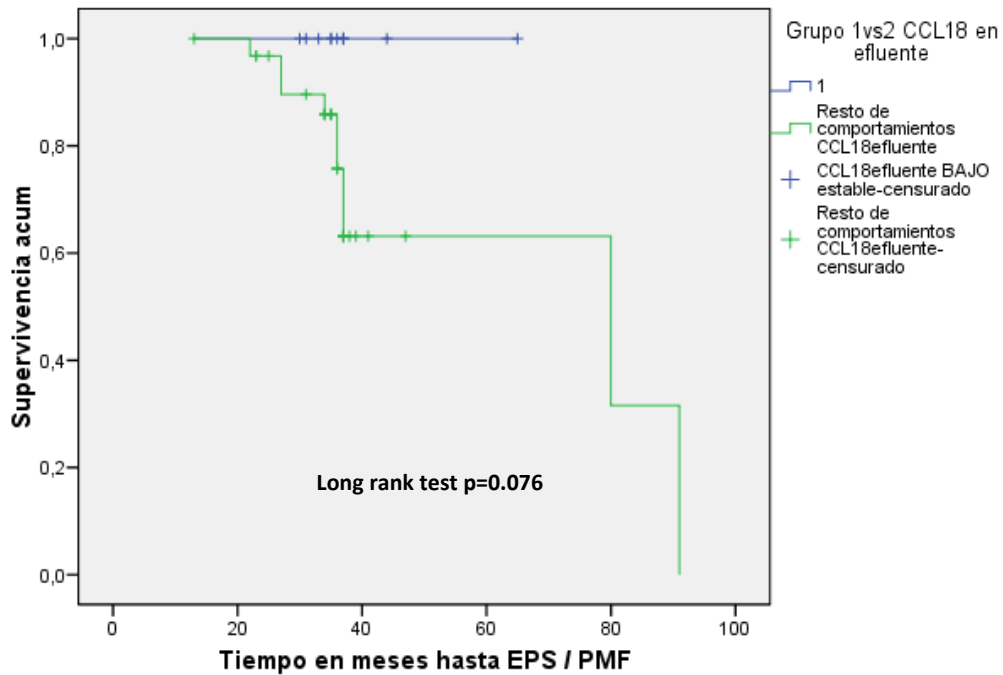
p<.005; *p<.001 (Mann-Whitney U test)



Ninguno de los pacientes incluidos en el Grupo 1 presentó posteriormente desarrollo de EPS o PMF con una diferencia que roza la significación estadística en el análisis de supervivencia y curva de Kaplan-Meier [Figura 19] y que consideramos clínicamente relevante.

Concluimos por tanto que valores bajos y estables de CCL18 en efluente peritoneal (<2ng/ml) parecen proteger del desarrollo posterior de EPS o PMF.

Figura 19. Curva de supervivencia Kaplan-Meier de desarrollo de EPS o PMF en los pacientes del Grupo 1 (niveles bajos y estables de CCL18 en efluente durante el seguimiento) vs los del Grupo 2 (resto de comportamientos de CCL18 durante el seguimiento)



Destacando además que estos valores bajos y estables no parecen deberse a datos de transporte de membrana (como comentamos en el apartado 5.4 y Figura 17).

5.4.2 Un aumento de los valores de CCL18 en efluente predispone a desarrollo de fallo de membrana

Dado que según lo concluido en el apartado anterior niveles bajos y estables de CCL18 en efluente parecían comportarse como protectores frente al fallo de membrana, valoramos si un aumento de los valores de CCL18 en efluente se asociaban con un desarrollo posterior de EPS / PMF.

Para el análisis de esta hipótesis consideramos:

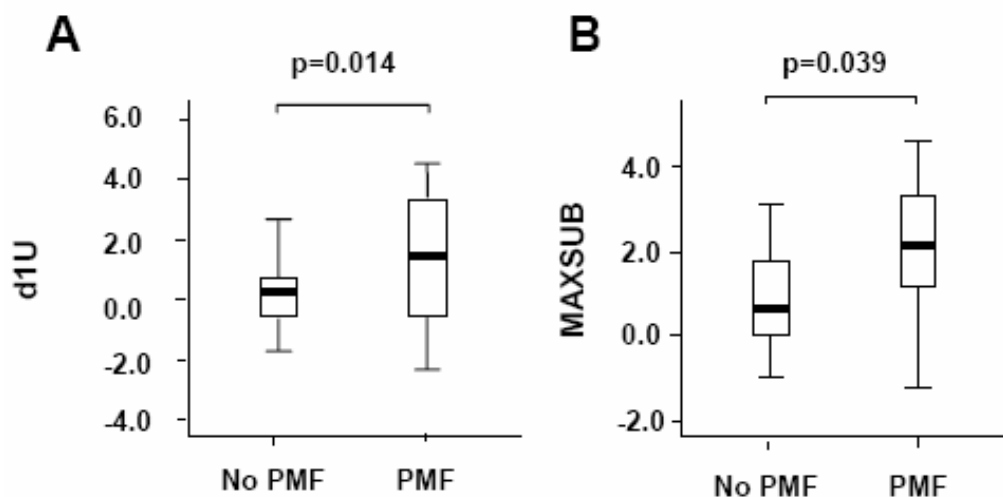
-La utilización de PMF como variable de estudio, puesto que los 2 pacientes que presentaron EPS en el estudio longitudinal habían presentado previamente PMF (10 pacientes)

-La creación de dos nuevas variables que nos aproximarán al tratamiento de los potenciales incrementos de CCL18 en efluente durante el seguimiento:

- **D1U CCL18:** definida como el último valor de CCL18 en efluente registrado durante el seguimiento menos en valor basal de CCL18 en efluente, en cada paciente de estudio.
- **MAXSUB CCL18:** definida como el máximo incremento de CCL18 en efluente durante el seguimiento (es decir, el valor máximo de CCL18 en efluente menos el valor mínimo de CCL18 en efluente durante el seguimiento) de cada paciente del estudio longitudinal.

Llevamos a cabo un análisis de COX sobre las diferencias en cada una de estas nuevas variables de incremento de CCL18 (D1U y MAXSUB) en aquellos pacientes que presentaron PMF (10 pacientes) o no lo hicieron (33 pacientes). Y observamos diferencias significativas en ambas variables (D1U CCL18, $p=0.014$; y MAXSUB CCL18, $p=0.039$), como se expresa en el gráfico de cajas de la Figura 20.A y Figura 20.B

Figura 20. Un aumento en los niveles de CCL18 en efluente medido conforme a las variables D1U y / o MAXSUB CCL18, se asoció de forma significativa con el desarrollo posterior de PMF



De manera que, un incremento en los niveles de CCL18 en efluente (medido como D1U o como MAXSUB) se asoció de forma significativa con el desarrollo posterior de fallo de membrana (PMF).

5.4.3 Valores elevados de CCL18 en efluente se asociaron con desarrollo de fallo de membrana y esclerosis peritoneal encapsulante

Dado que el incremento de los niveles de CCL18 en efluente se asoció de forma significativa con el desarrollo posterior de fallo de membrana (PMF) y valores bajos y estables durante el seguimiento parecían proteger del mismo, llevamos a cabo un análisis de los valores brutos de CCL18 en efluente en cada tiempo del estudio longitudinal y en el corte realizado en pacientes de larga estancia en DP (al menos 3 años) del estudio transversal.

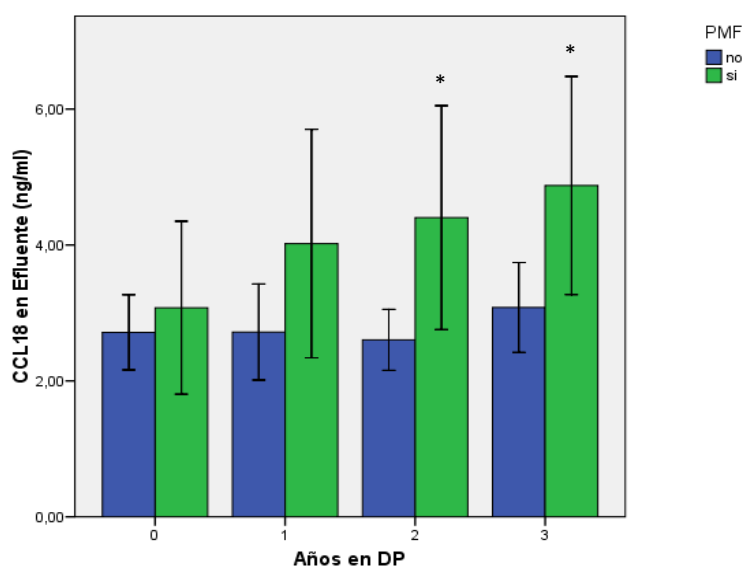
- En el estudio longitudinal observamos valores de CCL18 en efluente más elevados en todos los tiempos de seguimiento en los pacientes que desarrollaron PMF [Tabla 22], siendo sólo significativamente más elevados en el segundo (4.23 vs. 2.68 ng/ml; $p=.024$) y tercer año en DP (4.70 vs. 2.92 ng/ml; $p=.006$). [Figura 21]

Tabla 22. Valores de CCL18 en efluente en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs los que no lo hicieron

CCL18 efluente (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
PMF (n=10)	no	3.20	2.71	3.91	2.91	4.23	2.68	4.70	2.92
Sig		0.397		0.169		0.024		0.006	
EPS (n=2)	no	4.71	2.74	4.65	3.05	3.78	2.89	3.23	3.40
Sig		0.099		0.286		0.496		0.810	

PMF: fallo de membrana peritoneal; EPS: esclerosis peritoneal encapsulante; Sig: significación estadística o p

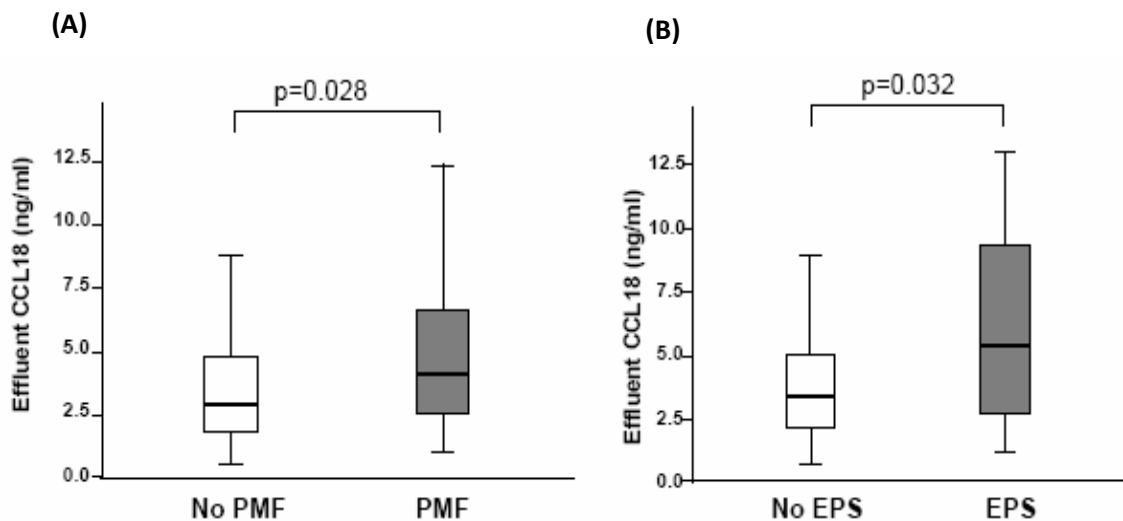
Figura 21. Valores de CCL18 en efluente en cada uno de los tiempos de seguimiento del estudio longitudinal, comparando los de aquellos pacientes que desarrollaron PMF (10 pacientes) con los que no lo hicieron (33 pacientes). *: $p<.05$ (Student's t-test)



Los valores de CCL18 en efluente de los pacientes que desarrollaron posteriormente EPS durante el seguimiento del estudio longitudinal fueron más elevados en todos los tiempos menos en el tercer año de DP, sin diferencias significativas durante el estudio [Tabla 22].

- En el estudio transversal llevado a cabo sobre 61 pacientes de larga estancia en DP (al menos 3 años), objetivamos valores de CCL18 en efluente significativamente superiores en los 22 pacientes que desarrollaron PMF (5.07 vs. 3.31 ng/ml; $p=0.028$) [Figura 22. A] y en los 6 pacientes que desarrollaron EPS (6.08 vs. 3.71 ng/ml; $p=0.032$) [Figura 22. B].

Figura 22. Comparativa de los valores de CCL18 en efluente de los pacientes del estudio transversal que presentaron PMF vs. los que no lo hicieron (A) y de los que presentaron EPS vs los que no lo hicieron (B)



5.5 Capacidad predictiva de CCL18 en efluente. ¿Qué aporta sobre el modelo clásico de detección de riesgo?

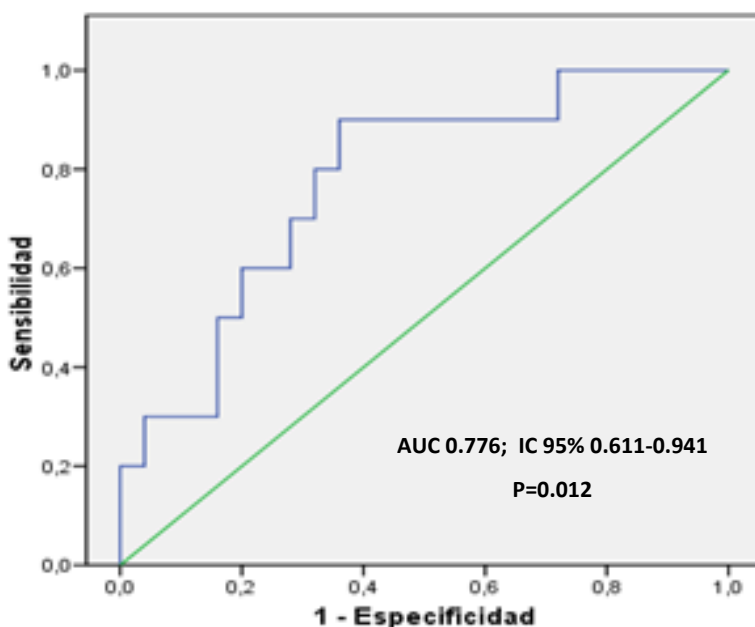
5.5.1 Capacidad predictiva de CCL18 en efluente

Llevamos a cabo un análisis mediante curva ROC para determinar la capacidad diagnóstica de CCL18 en efluente en el tercer año de DP del estudio longitudinal, tratando de identificar un punto de corte de los valores de CCL18 en efluente de sensibilidad y especificidad óptimas, que pudiera predecir riesgo posterior de desarrollo de PMF.

Como se muestra en la Figura 23, la relación de los valores fue significativa ($p=0.012$) y el área bajo la curva (AUC) fue de 0.776 con un intervalo de confianza (IC) del 95% de 0.611–0.941.

El punto de corte de los valores de CCL18 en efluente en el tercer año de DP que optimizara la mayor sensibilidad (80%) y especificidad (68%) para predecir desarrollo posterior de PMF fue de 3.15ng/ml o superior, con un 89.5% de valor predictivo negativo [Figura 23]

Figura 23. Curva ROC realizada para determinar el punto de corte de los niveles de CCL18 en efluente de mayor especificidad y sensibilidad de predicción de riesgo posterior de PMF



Por tanto, de nuevo valores por debajo de este umbral (3.15ng/ml) presentaban un alto valor predictivo negativo, lo que confirma los datos hasta ahora observados en los que valores bajos de CCL18 se asociaron con un menor riesgo de desarrollo de PMF o EPS.

Realizando un análisis de regresión de COX entre los valores de CCL18 en efluente por encima de 3.15ng/ml en el tercer año de DP y el desarrollo posterior de PMF o EPS, observamos que los pacientes con niveles de CCL18 en efluente en el tercer año en DP >3.15ng/ml presentaban un riesgo de desarrollo de PMF /EPS de hasta cuatro veces más que los pacientes cuyos niveles de CCL18 en efluente no superaban este umbral en ese punto del seguimiento, sin asociación estadísticamente significativa (OR 4.33, IC 95%: 0.90–20.89; p=.067).

5.5.2 CCL18 en efluente peritoneal: ¿Qué aporta sobre el modelo actual de detección de riesgo o fallo de membrana?

Hasta el momento, los hallazgos de los estudios realizados se muestran coherentes en cuanto a la conclusión de que valores bajos de CCL18 en efluente parecen asociarse con un menor riesgo de desarrollo de PMF y/o EPS y que valores elevados de CCL18 en efluente incrementan el riesgo de desarrollo de estos eventos. Sin embargo, estos resultados no tendrían tanta relevancia clínica si se presentaran acompañando a datos de transporte de membrana peritoneal ya alterados o de alarma.

Cabe destacar en nuestra serie una marcada estabilidad de los valores medios de los parámetros de transporte y funcionalidad de membrana clásicamente utilizados como detectores de riesgo de fallo de la misma (D/P cr, MTC urea, MTC cr, UFF), como se observa en la Tabla 23.

Por lo tanto, los niveles elevados de CCL18 en efluente en el tercer año en DP objetivados en nuestra serie podrían indicar un dato de alarma en nuestros pacientes, que presentan sin embargo valores estables y en rangos considerados de la normalidad de los datos de transporte y funcionalidad peritoneal clásicamente empleados como detectores de riesgo de fallo de membrana (D/P cr 0.66 ± 0.08 , MTC urea 22.6 ± 5.2 , MTC cr 8.5 ± 3 , UFF presente sólo en 4 pacientes). Podemos afirmar por tanto que, en nuestra serie, CCL18 se adelanta al cambio en el transporte en su capacidad de predecir una futura alteración funcional de la membrana peritoneal. Por otra parte, cabe afirmar que la producción local de CCL18 es la que mayoritariamente condiciona el proceso y no tanto su potencial transporte transperitoneal

desde el plasma, hecho que además no podría ser selectivo de esta molécula cuando no se registran alteraciones de transporte de moléculas más grandes o más pequeñas en nuestra serie.

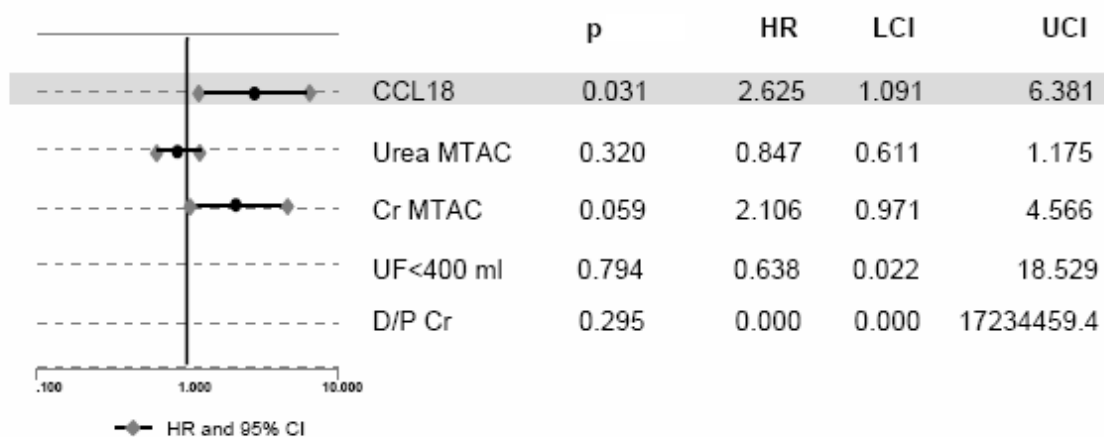
Tabla 23. Datos de la función renal y peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal, en cada tiempo del seguimiento

Función peritoneal	Basal (n=43pts)	1 año en DP (n=43pts)	2 años en DP (n=42pts)	3 años en DP (n=35pts)
MTC UREA (ml/min) media ± SD	24.6 ± 5.9	23.8 ± 5.5	24.1 ± 5.5	22.6 ± 5.2
MTC Cr (ml/min) media ± SD	9.2 ± 3.8	9 ± 2.7	9.6 ± 2.8	8.5 ± 3
Excreción proteica peritoneal (gr/24h) media ± SD	5.9 ± 1.8	6.4 ± 2.1	6.5 ± 2	6.2 ± 2
Sieving Na media ± SD	3.4 ± 2.2	4 ± 2.2	3.3 ± 2.9	4 ± 2.6
D/P Cr (media ± SD)	0.71 ± 0.06	0.70 ± 0.07	0.69 ± 0.07	0.66 ± 0.08
FRR (ml/min) (media ± SD)	6.5 ± 2.4	4.3 ± 2.9	3.3 ± 3	2.5 ± 2.7
UFF	6 (15.4%)	3 (7.3%)	2 (5%)	4 (13.8%)

MTC: coeficiente de transferencia de masas; Cr: creatinina; Na: sodio; FRR: función renal residual; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina, UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%, SD: desviación estandar

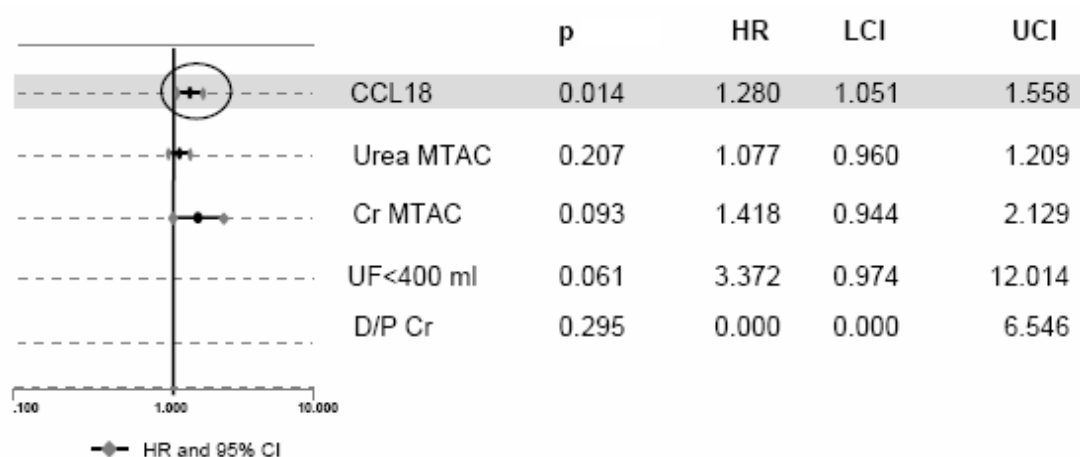
Pero además, llevando a cabo un análisis multivariante, observamos que los valores de CCL18 en efluente en el tercer año de DP se asociaron con riesgo de desarrollo de PMF/EPs de forma independiente y ajustada para los valores de D/P cr, MTC urea, MTC cr y UFF, como se muestra en el análisis y grafica Forest Plot de la Figura 24.

Figura 24. Análisis multivariante de CCL18 en efluente en el tercer año de DP ajustado a los parámetros de transporte y funcionalidad de membrana (D/P cr, MTC cr, MTC urea, UFF)



Y estos datos se confirmaron en el estudio de corte transversal sobre 61 pacientes de larga estancia en DP (al menos 3 años) en los que se objetivó de nuevo en el análisis multivariante que los valores de CCL18 en efluente se asociaron con riesgo de desarrollo de PMF / EPS de forma independiente y ajustada para los valores de D/P cr, MTC urea, MTC cr y UFF, como se muestra en el análisis y grafica Forest Plot de la Figura 25

Figura 25. Análisis multivariante de CCL18 en efluente en el estudio de corte transversal sobre 61 pacientes de larga estancia en DP, ajustado a los parámetros de transporte y funcionalidad de membrana (D/P cr, MTC cr, MTC urea, UFF)



HR: Hazard Ratio; CI: intervalo de confianza 95%; LCI: lower CI ó valor mínimo del intervalo de confianza 95%; UCI: upper CI ó valor máximo del intervalo de confianza 95%; p: valor de la significación estadística

MTAC: coeficiente de transferencia de masas; Cr: creatinina; D/P Cr: cociente Dializado/Plasma de creatinina, UFF: Fallo de ultrafiltración <400cc en cinética de 4 horas con glucosa 3.86-4.25%

5.6 CCL18 y transporte de membrana

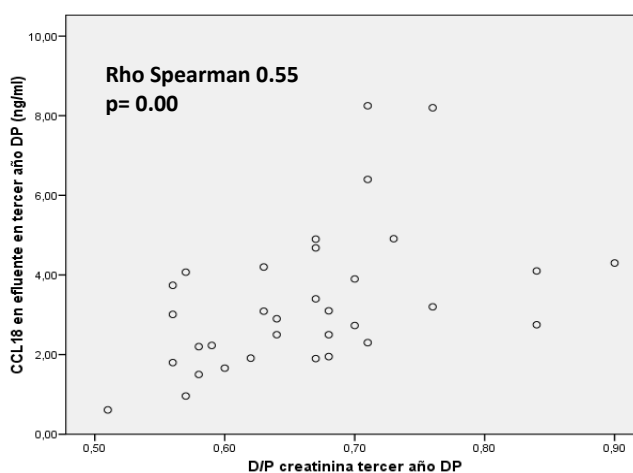
5.6.1 Correlaciones del transporte de CCL18 en efluente respecto de otros datos de transporte de membrana

CCL18 presenta un peso molecular mayor (8-10kDa) que creatinina (113Da) y urea (60Da) y su transporte a través de membrana no ha sido estudiado hasta la fecha.

Ya en el estudio realizado en 2011 sobre 74 pacientes en DP de la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital La Paz (95), se objetivó una correlación positiva entre el transporte de membrana medido por D/P de creatinina y los valores de CCL18 en efluente ($Rho\ Spearman[R]=0.72$, $p<0.0001$), que fue también objetivada en el grupo de West London ($R=0.49$, $p<0.0001$) (96).

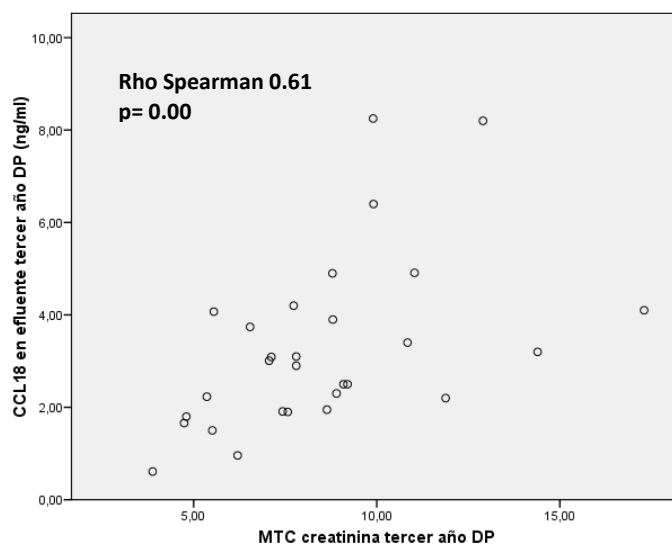
- En el **ESTUDIO LONGITUDINAL** llevado a cabo sobre los 43 pacientes del programa de DP seleccionados, observamos una correlación de CCL18 en efluente con el D/P de creatinina en todos los tiempos [basal $R=0.48$ $p= 0.00$, primer año en DP $R=0.57$ $p= 0.00$, y tercer año en DP $R=0.55$ $p= 0.00$] salvo en el segundo año de DP [$R=0.28$ $p= 0.07$].

Figura 26. Correlación entre CCL18 en efluente y D/P de creatinina en el tercer año de DP (Análisis de correlación Spearman)



De igual manera, objetivamos una correlación positiva entre CCL18 en efluente y MTC de creatinina [basal $R=0.35$ $p= 0.02$, primer año en DP $R=0.55$ $p= 0.00$, segundo año en DP $R=0.34$ $p= 0.03$ y tercer año en DP $R=0.61$ $p= 0.00$], sin que se observara esa correlación con el MTC de urea [basal $R=0.26$ $p= 0.09$, primer año en DP $R=0.24$ $p= 0.13$, segundo año en DP $R=0.27$ $p= 0.09$] salvo en el tercer año de DP [$R=0.41$ $p= 0.03$].

Figura 27. Correlación entre CCL18 en efluente y MTC de creatinina en el tercer año de DP (Análisis de correlación Spearman)



Observamos una correlación positiva entre CCL18 y la excreción proteica peritoneal sólo en el primer [R=0.32 p= 0.04] y tercer año en DP [R=0.44 p= 0.01] y no objetivamos correlación con la función renal residual en ningún tiempo del estudio.

-En el **ESTUDIO TRANSVERSAL** realizado sobre los 61 pacientes de larga estancia en DP (al menos 3 años en DP), objetivamos una correlación positiva de CCL18 en efluente con el D/P cr [R=0.51 p= 0.00], con MTC cr (R=0.48 p= 0.00), MTC urea (R=0.3 p= 0.02) y en negativo con FRR (R= -0.31 p=0.04).

No se observó correlación de CCL18 en efluente con la excreción proteica peritoneal (R=0.21 p= 0.10)

Figura 28. Correlación entre CCL18 en efluente y D/P de creatinina en el estudio transversal de larga estancia en DP (Análisis de correlación Spearman)

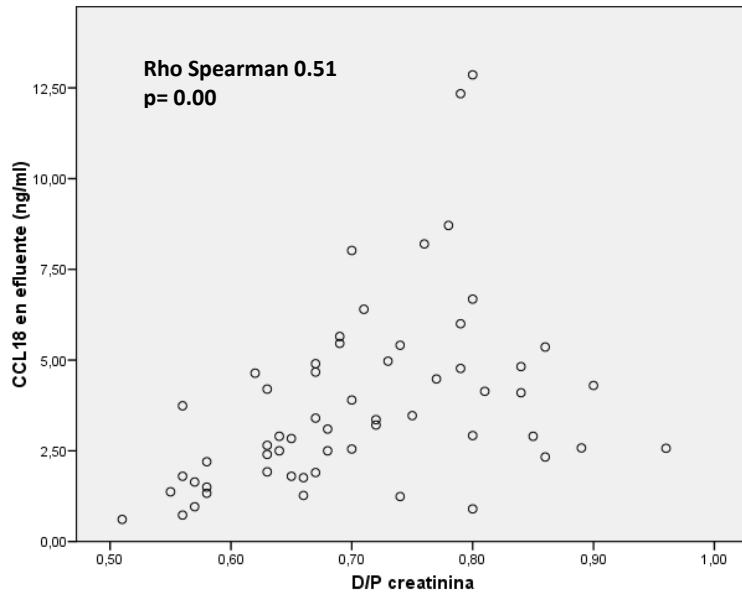
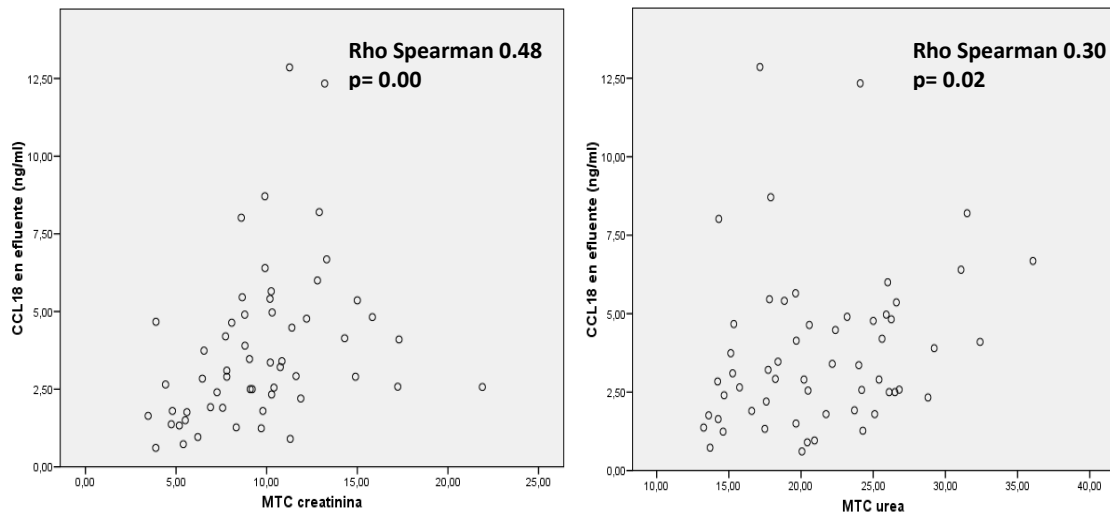


Figura 29. Correlación entre CCL18 en efluente y MTC de creatinina y urea en el estudio transversal de larga estancia en DP (Análisis de correlación Spearman)



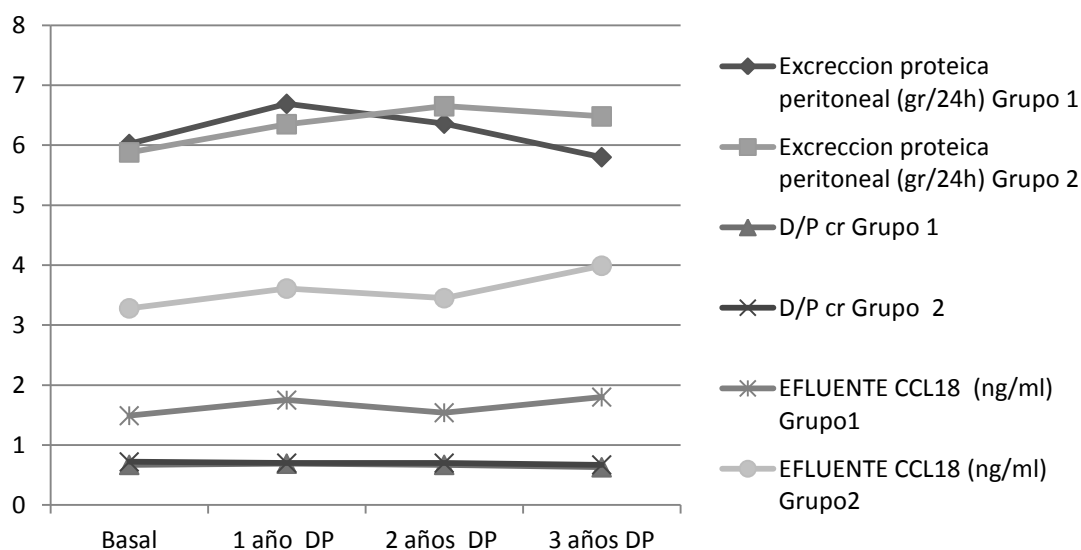
5.6.2 Estabilidad de parámetros de transporte y de datos de alarma peritoneal frente a variabilidad o rangos de alarma de CCL18 en efluente peritoneal

Pese a la correlación observada de CCL18 en efluente con datos de transporte peritoneal no hemos observado que ésta interviniera en el comportamiento de CCL18 en efluente en nuestros pacientes. Cabe destacar que los valores elevados de CCL18 en efluente y los incrementos de estos niveles que se objetivan en los pacientes con posterior desarrollo de FMP o EPS no se han acompañado de datos de alto transporte, ni alteraciones o modificaciones relevantes en el transporte peritoneal de los mismos. De ahí el valor precoz de la determinación de CCL18 en efluente, cuando los parámetros de transporte de membrana han permanecido estables y en valores considerados dentro de rangos de la normalidad en nuestros pacientes.

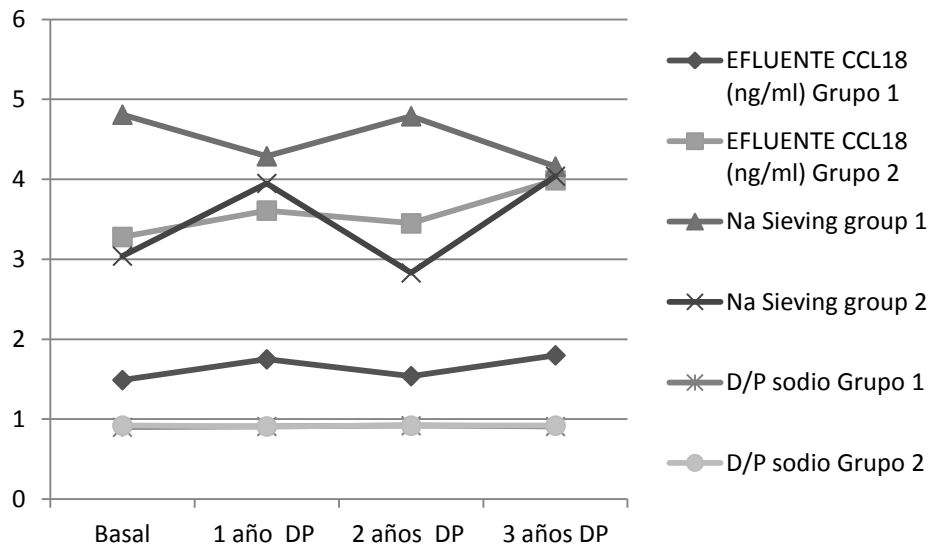
Además, valores elevados de CCL18 en efluente (de los pacientes incluidos en Grupo2) respecto a valores bajos y estables durante el seguimiento (Grupo 1) no se acompañaron de un aumento de los datos de transporte de pequeños solutos (D/P cr) ni de proteínas, como ya comentamos y se mostró en la Figura 17, ni de alteraciones relevantes en el transporte de agua o en datos funcionalidad de membrana, como se detalla en la Figura 30.

Figura 30. Comparativa de la evolución de los valores de CCL18 en efluente respecto de los parámetros de transporte y funcionalidad de la membrana peritoneal

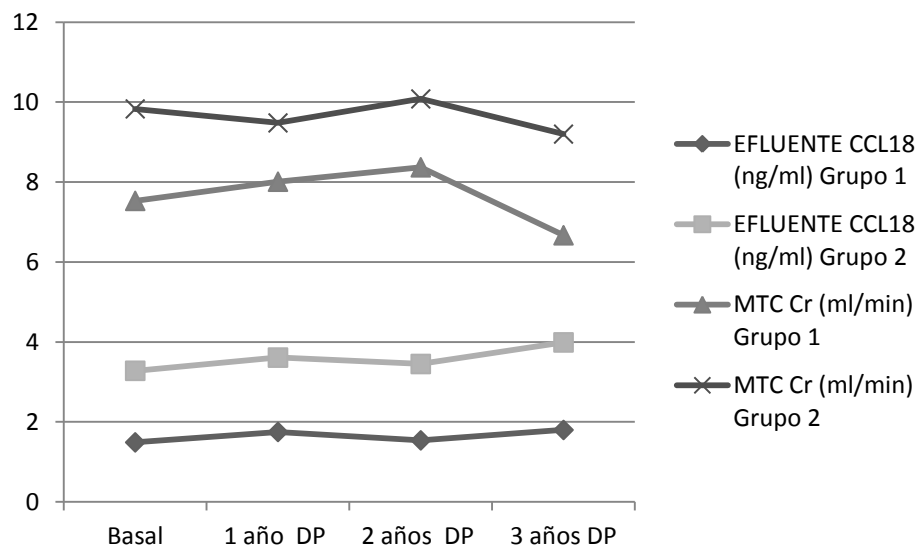
A. Evolución de los valores de CCL18 en efluente comparativamente a la de los datos de transporte de pequeños solutos (D/P cr) y de proteínas a través de la membrana peritoneal según los grupos 1 y 2.

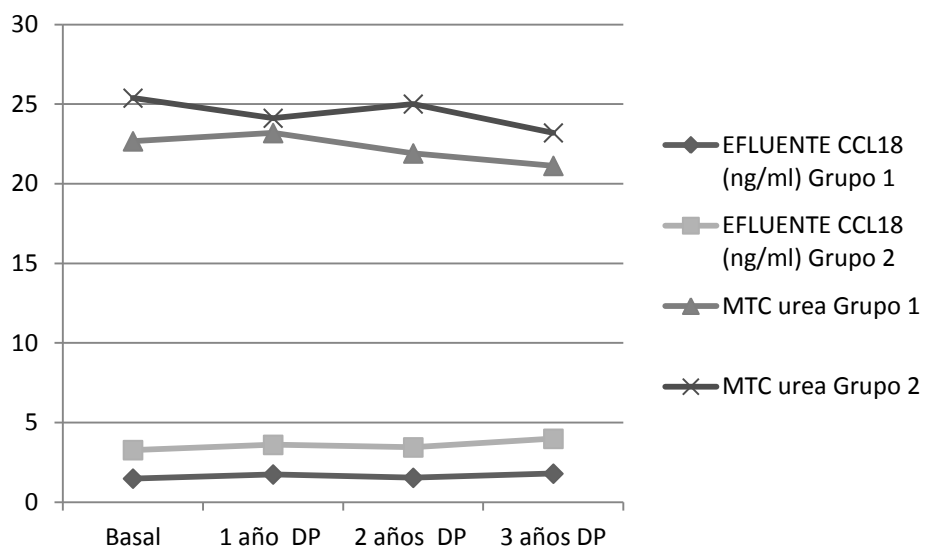


B. Evolución de los valores de CCL18 en efluente comparativamente a la de los datos de transporte de agua (D/P sodio y Sieving de sodio)



C. Evolución de los valores de CCL18 en efluente comparativamente a la de los datos de funcionalidad de membrana (MTC cr y MTC urea)





Se observó una tendencia a menor transporte inicial (D/P cr y MTC cr) en los pacientes pertenecientes al Grupo 1 en valores absolutos, sin relevante significado clínico puesto que ya se objetivó en estudios previos que un alto transporte inicial no se asocia a fallo de membrana posterior (33,36,195), y sin diferencias mantenidas durante el seguimiento salvo un menor MTC de creatinina en el 3 año en DP en aquellos pacientes pertenecientes al Grupo 1 [Datos de valores medios \pm SD expresados en Tabla 21 del apartado 5.4]

5.7 Análisis de PAI-1 en nuestros sujetos de estudio

Dados los recientes hallazgos de valor diagnóstico y pronóstico de los niveles del Inhibidor del plasminógeno activado (PAI-1) en efluente para predecir desarrollo posterior de EPS (92) y la correlación que observamos entre los valores de CCL18 y los de PAI en efluente [Resultados 5.7.1 que se describe a continuación], realizamos un análisis de los valores y asociación en nuestros pacientes de los niveles de PAI en efluente y el posterior desarrollo de PMF y/o EPS

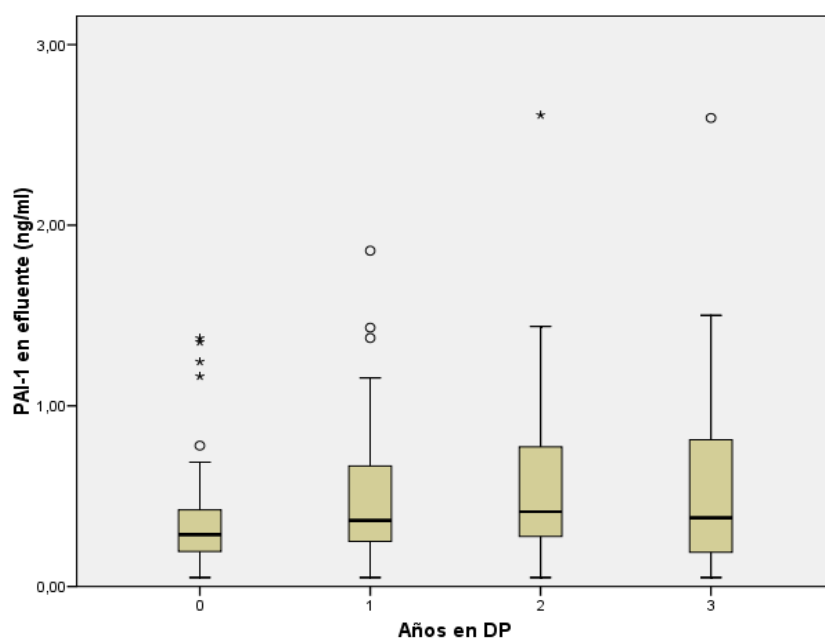
Los valores medios de PAI-1 en efluente a lo largo del seguimiento en el estudio longitudinal se muestran en la Tabla 24 y en la Figura 31:

Tabla 24. Valores medios de PAI-1 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal

PAI-1 en efluente (ng/ml)	Basal	1 año en DP	2 años en DP	3 años en DP
Media ± SD	0.39± 0.34	0.51± 0.42	0.81± 0.49	0.53± 0.49

SD: desviación estándar

Figura 31. Valores medios de PAI-1 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal



-En el **ESTUDIO LONGITUDINAL** no se observaron asociaciones significativas entre los niveles de PAI-1 en efluente y el desarrollo posterior de PMF en los tiempos estudiados. Sin embargo se objetivaron valores de PAI-1 en efluente más elevados en los dos pacientes que presentaron posteriormente EPS en todos los tiempos. [Tabla 25]

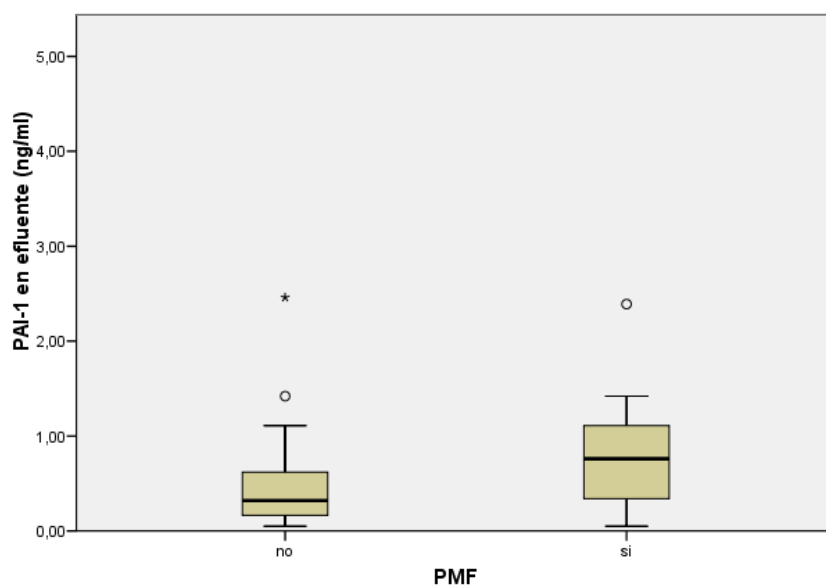
Tabla 25. Valores de PAI-1 en efluente en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs los que no lo hicieron.

PAI-1 en efluente (ng/dl)		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
PMF (n=10)	no	0.58	0.34	0.65	0.47	0.71	0.54	0.65	0.49
	Sig	0.14		0.23		0.33		0.40	
EPS (n=2)		EPS	no	EPS	no	EPS	no	EPS	no
Paciente EPS 1		1.03	0.36	0.92	0.49	0.74	0.56	0.63	0.52
Paciente EPS 2		1.24		0.93		1.04		0.79	

PMF: fallo de membrana peritoneal; EPS: esclerosis peritoneal encapsulante; Sig: significación estadística o p

-En el **ESTUDIO TRANSVERSAL**, realizado sobre pacientes de larga estancia en DP (>3 años), observamos valores significativamente más elevados de PAI-1 en efluente peritoneal en aquellos pacientes que presentaron posteriormente PMF (1.03 vs. 0.45 ng/ml p=0.01) [Figura 32] y valores relevantemente más elevados de PAI en el efluente de pacientes con posterior desarrollo de EPS, pero sin significación estadística (1.65 vs. 0.54 ng/ml p=0.25)

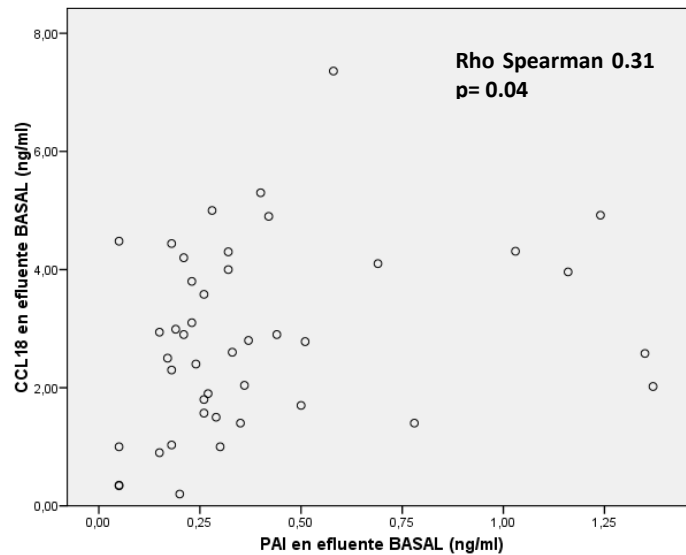
Figura 32. Comparativa de los valores medios de PAI-1 en efluente de los pacientes que desarrollaron PMF o no en el estudio transversal a largo plazo



5.7.1 Correlación de CCL18 en efluente y PAI en efluente

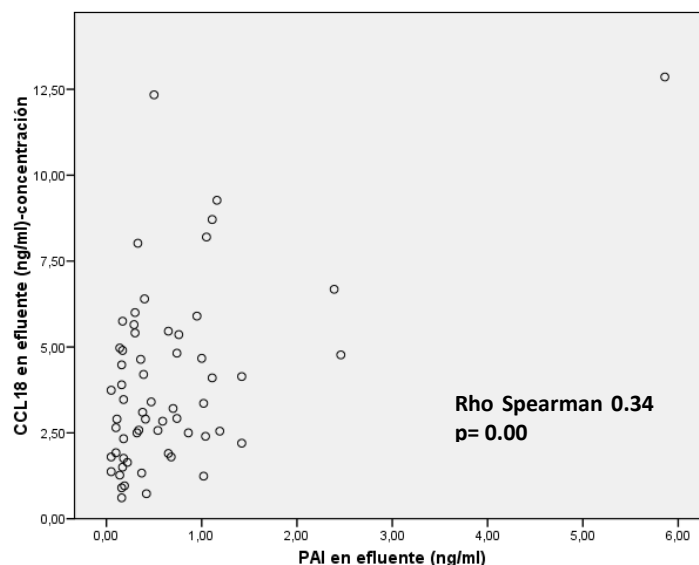
-En el estudio longitudinal observamos una correlación positiva entre los valores de CCL18 en efluente y la concentración de PAI-1 en efluente en el tiempo basal ($R=0.31$ $p= 0.04$) y en el momento de la determinación de 2 años en DP ($R=0.42$ $p= 0.00$). Sin embargo no se objetivó relación de ambos parámetros en efluente en el primer ($R=0.17$ $p= 0.26$) o tercer año de DP ($R=0.27$ $p= 0.11$)

Figura 33. Correlación entre los niveles de CCL18 y PAI-1 en efluente peritoneal en el tiempo basal del estudio longitudinal.



-En el estudio transversal, en el que analizamos el último tiempo de muestra de cada paciente de larga estancia en DP previo a la salida de técnica, objetivamos una correlación positiva entre los valores de CCL18 y PAI-1 en efluente ($R=0.34$ $p= 0.00$)[Figura 34]

Figura 34. Correlación entre CCL18 en efluente y niveles de PAI en efluente peritoneal en el punto de corte del estudio transversal llevado a cabo en pacientes de más de 3 años en DP.



5.7.2 Comportamiento de CCL18 en efluente y valores de PAI

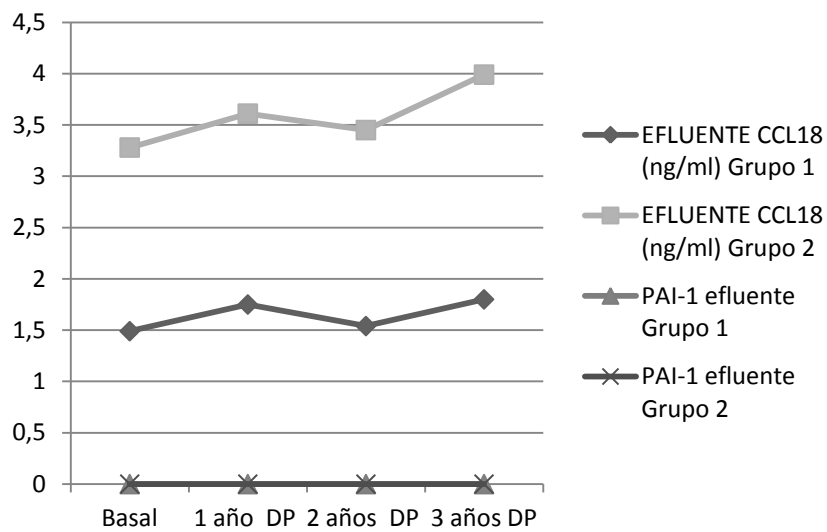
Dados estos hallazgos, consideramos de interés estudiar si el comportamiento de PAI-1 en efluente, seguía los pasos del observado en CCL18.

Los pacientes del estudio longitudinal incluidos en el Grupo 1 (de valores de CCL18 en efluente bajos y estables durante el seguimiento) presentaron un valor medio de PAI-1 en efluente significativamente menor (0.40 vs. 0.55ng/ml p=0.023), sin embargo en el análisis por tiempos aunque se mantuvieron valores de PAI-1 persistentemente más bajos [Figura 35] en los pacientes del Grupo 1, las diferencias no fueron significativas [Tabla 26]

Tabla 26. Valores de PAI-1 en efluente según los grupos establecidos en cuanto a la evolución de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento (Grupo 1 y Grupo 2). Comparativa de medias mediante T-Student.

		Basal		1 año en DP		2 años en DP		3 años en DP	
PAI-1 efluente (ng/ml) Media ± SD	Grupo 1	0.30 ±	0.29	0.43 ±	0.47	0.45 ±	0.31	0.43 ± 0.37	0.48
		0.21		0.31		0.37			
	Grupo 2	0.43 ±		0.54 ±		0.62 ±		0.57 ± 0.52	
		0.37		0.45		0.52			

Figura 35. Comparativa de la evolución de los valores de CCL18 en efluente y de PAI en efluente respecto a la inclusión en los grupos 1 y 2 definidos en base a la evolución de CCL18 en efluente



5.8 Condiciones especiales: CCL18 y peritonitis eosinofílica (PE)

Cercano al periodo de estudio de la tesis que se presenta, se produjo en nuestro centro un caso de peritonitis eosinofílica (PE) tras la infusión accidental de clorhexidina con desarrollo de fallo de UF tipo I, lo que nos brindó la posibilidad de valorar el comportamiento de CCL18 en este modelo. *(Sometido a valoración para publicación)*. El abordaje de este caso adquiere además un especial sentido al reconocer que el modelo animal más clásico de inducción de EPS se basa en la infusión de clorhexidina (61).

Se trata de un caso clínico en el que, tras infusión de 20ml de clorhexidina por error en uno de los lavados peritoneales que siguen a la realización de la maniobra alfa de recolocación de catéter peritoneal en un varón de 75 años con ERC G5 de causa macro-microvascular que presentaba malfuncionamiento del mismo, se objetiva un cuadro de dolor abdominal y efluente peritoneal turbio de recuento celular no concluyente con peritonitis aguda pero si con eosinofilia peritoneal >10%. Ante la sospecha clínica de peritonitis química se procede a la realización de lavados peritoneales continuos con diálisis peritoneal intermitente (40 ciclos, Physioneal 1,36%, 1000cc, permanencia 15min), profilaxis antibiótica con dosis única de cefazolina intraperitoneal y esteroides intraperitoneal (triamcinolone semanal / 2sem) junto con antihistamínicos vía oral (196). Posteriormente, presenta episodios de efluente peritoneal turbio intermitente con eosinofilia peritoneal persistente compatibles con peritonitis eosinofílica no resuelta ante la que se inicia pauta con esteroides orales (prednisona 20mg/día) y antihistamínicos orales durante 2 semanas (197) con buena respuesta. Se asoció al tratamiento pauta de tamoxifeno oral profiláctico (20mg c/12 horas) ante la potencial evolución a fibrosis peritoneal y fue transferido a hemodiálisis por voluntad del paciente 4 meses después del primer episodio de peritonitis eosinofílica.

Los datos de transporte peritoneal mostraron un fallo de membrana en la única cinética realizada en el paciente, 2 meses después de la errónea infusión con clorhexidina, con valores de MTC cr 27.5ml/min, MTC urea 37.7ml/min y UFF con UF 350cc en 4 horas.

Se llevó a cabo un test de estimulación linfocitaria para valorar hipersensibilidad a clorhexidina como agente mediador de la reacción peritoneal producida y la peritonitis eosinofílica secundaria, y se objetivó un índice de transformación linfocitaria ≥ 2 en el paciente afecto respecto del control, lo que efectivamente sugería la confirmación de una reacción de

hipersensibilidad a la clorhexidina como mediador del proceso en nuestro caso. Tal y como se muestra en la Figura 36.

Figura 36. Índices de estimulación leucocitaria en el test de transformación linfocitaria en respuesta a clorhexidina.

	Dosis Clorhexidina		
	0,2 µg/ml	1 µg/ml	5 µg/ml
Caso clínico	2.42	1.22	0.9
DP control	1.02	0.53	ND
Control sano	1.06	1.25	0.03

Índice de transformación linfocitaria en el test de estimulación

Se enfrentaron células mononucleares de sangre periférica con distintas dosis de clorhexidina para valorar transformación linfocitaria

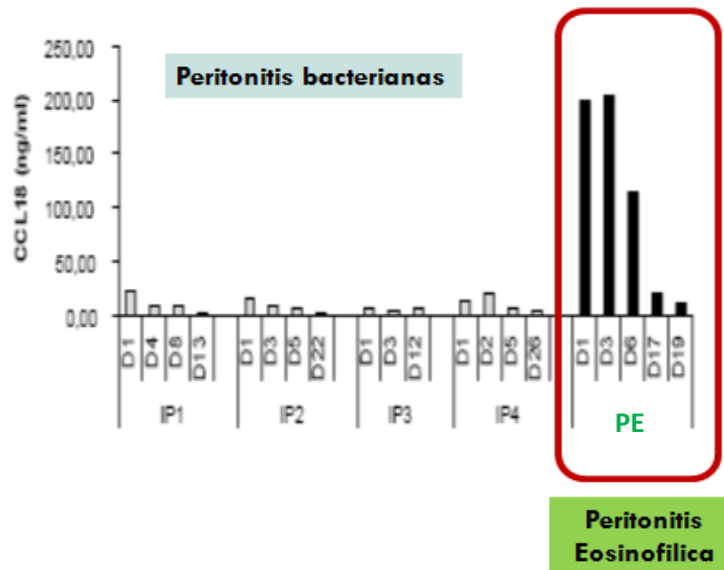
Se presenta por tanto el primer caso de PE secundaria a exposición peritoneal a clorhexidina con rápido desarrollo de fallo de UF tipo I e hipersensibilidad peritoneal mediada por clorhexidina.

Dada la asociación de peritonitis eosinofílicas recurrentes (58) y de clorhexidina (61) al desarrollo posterior de fibrosis peritoneal y la asociación de CCL18 con fibrosis de la membrana peritoneal y posterior desarrollo de UFF y EPS (95); llevamos a cabo el estudio de un potencial mecanismo profibrótico mediado por CCL18, de potencial liberación por eosinófilos peritoneales locales, en nuestro caso de PE.

5.8.1 CCL18, peritonitis eosinofílica y fibrosis peritoneal

Para analizar el potencial papel de CCL18 en el daño peritoneal producido en nuestro caso de peritonitis eosinofílica, se midieron niveles de CCL18 en efluentes de pacientes en DP con peritonitis bacterianas vs PE, observando niveles significativamente mayores de CCL18 en efluente de PE, como se objetiva en la Figura 37.

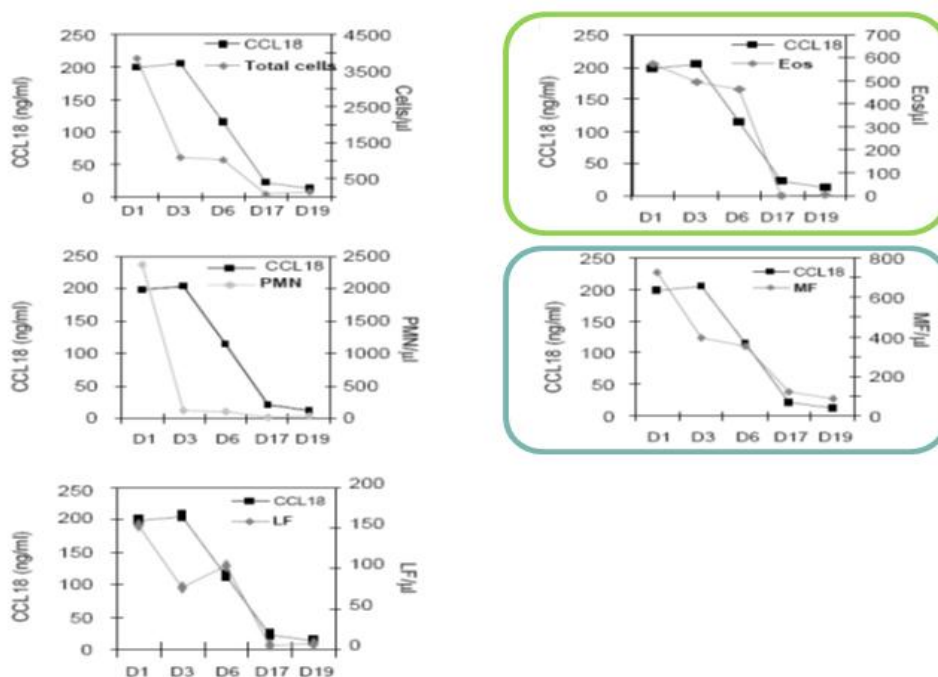
Figura 37. Niveles de CCL18 en cuatro pacientes con peritonitis bacterianas (IP1, IP2, IP3, IP4) frente a los valores del paciente del caso descrito de peritonitis eosinofílica (PE)



Para valorar el origen de estos niveles tan significativamente elevados de CCL18 en el efluente de PE, se trató de establecer la relación entre eosinófilos (predominantes en peritonitis eosinofílicas y estériles) y CCL18.

Observamos que las concentraciones pico de CCL18 fueron encontradas en los efluentes con el recuento de eosinófilos absoluto más alto [Figura 38] y se evidenció una fuerte correlación entre la concentración de CCL18 y el recuento de eosinófilos ($R= 0.94$ $p=0.013$), que también se produjo entre la concentración de CCL18 en efluente y el recuento de macrófagos peritoneales ($R=0.08$ $p=0.043$), como esperábamos.

Figura 38. Evolución de los niveles de CCL18 en efluente peritoneal respecto de la evolución de las diferentes líneas celulares analizadas en dicho efluente peritoneal.

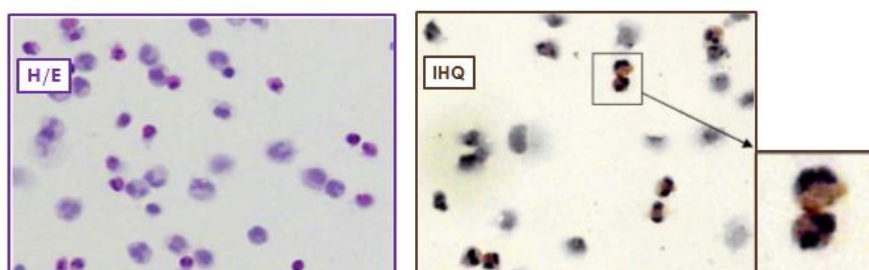


Cell: células; PMN: polimorfonucleares; LF: linfocitos; Eos: eosinófilos; MF: macrófagos

La PE no siempre se acompaña de eosinófilos periféricos (a diferencia del síndrome hipereosinofílico). Niveles de IL-5 y de proteína catiónica de eosinófilos (PCE) en efluente apoyan una activación de eosinófilos peritoneales en la PE, aunque su origen no está totalmente aclarado (ambiente peritoneal rico en IL-3, IL5 +/-transmigración endotelial) (198).

Aunque se cree que CCL 18 principalmente es producido por macrófagos M2 y DC (95,145), también ha sido descrita CCL18 como producto de eosinófilos (199,200), y así lo objetivamos *ex vivo* en nuestro caso, como se muestra en la Figura 39.

Figura 39. Tinción de hematoxilina/eosina (H/E) e inmunohistoquímica con anticuerpo específico marcador de CCL18 (IHQ) realizada sobre muestra de efluente peritoneal del caso descrito tratados por citospin.



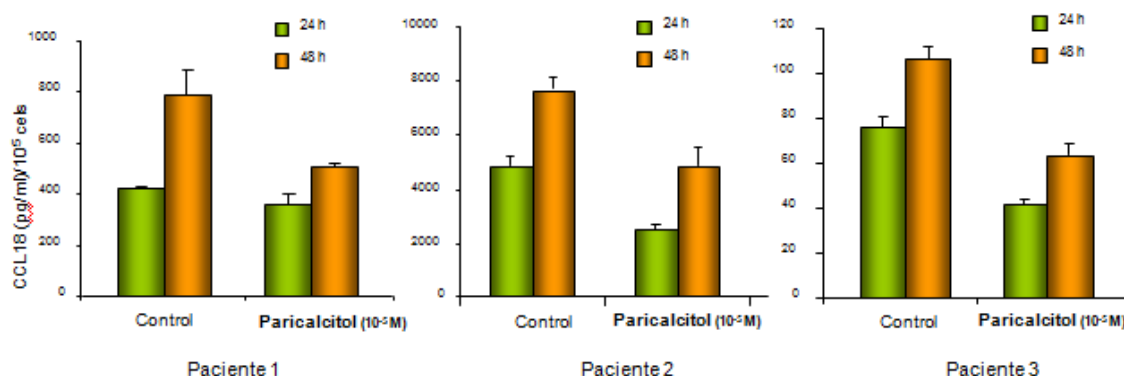
Describimos por tanto el primer caso de PE mediada por clorhexidina con fallo de UF tipo I y potencial fibrosis peritoneal asociada, con evidencia de un mecanismo de hipersensibilidad local peritoneal a clorhexidina como mediador en el proceso y un papel relevante etiopatogénico de las grandes cantidades de eosinófilos peritoneales activados encontrados. Se demuestra la producción de CCL18 por eosinófilos peritoneales mediante su asociación y paralelismo a esta línea celular y tinción específica inmunohistoquímica, y, por tanto, se plantea la producción CCL18 por éstos eosinófilos, como uno de los principales agentes implicados en la fibrosis, daño estructural y funcional derivado de la PE.

5.9 CCL18 en efluente peritoneal: ¿una nueva diana terapéutica? Tratamiento con Paricalcitol

Dados los datos de asociación de niveles elevados de CCL18 en efluente y un mayor riesgo de desarrollo posterior de PMF y/o EPS, exploramos CCL18 como nueva y potencial diana terapéutica. Partiendo de los estudios que avalan la capacidad antifibrótica de paricalcitol y su acción inhibitoria sobre la expresión de TGF- β y MMT secundaria (187–189), y en base al estudio previo realizado con paricalcitol intraperitoneal asociado a un descenso de fibrosis y MMT peritoneal en modelo murino de ratón (190), llevamos a cabo los experimentos que se describen a continuación con paricalcitol como potencial inhibidor o reductor de los niveles de CCL18 en efluente, con resultados prometedores.

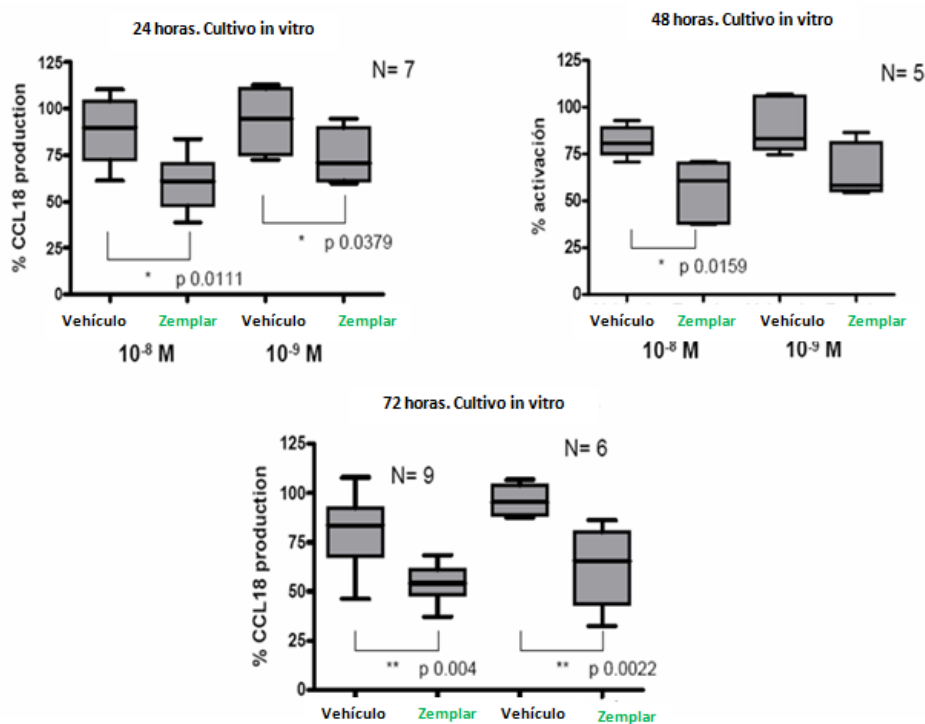
Llevamos a cabo estudios preliminares sobre 3 pacientes que presentaban un episodio agudo de peritonitis bacteriana, dada la elevada concentración de CCL18 observada en estos efluentes peritoneales. *In vitro* y sobre el cultivo de los macrófagos peritoneales aislados de los efluentes de los pacientes descritos, observamos un descenso de la producción de CCL18 por dichos macrófagos al ser tratados con paricalcitol [10^{-5} M] tanto a las 24 como a las 48 horas [Figura 40]

Figura 40. Inhibición de la producción de CCL18 por macrófagos peritoneales aislados de efluentes en el seno de peritonitis bacterianas tras tratamiento con paricalcitol [10^{-5} M] a las 24 y 48 horas



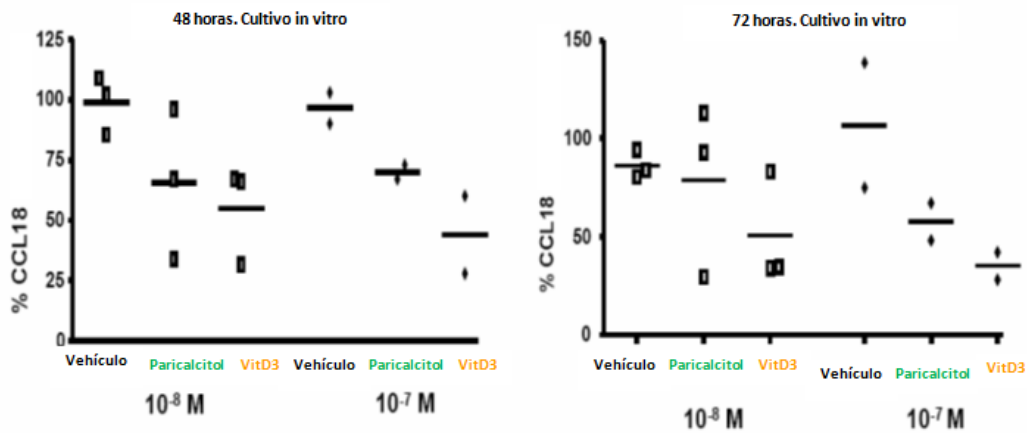
Sin embargo, las concentraciones empleadas en este primer abordaje se consideraron demasiado elevadas, por lo que se llevaron a cabo otros estudios con menores concentraciones de paricalcitol [10^{-8} M y 10^{-9} M] *in vitro*, sobre macrófagos peritoneales aislados de los efluentes de pacientes con peritonitis en resolución. Se observó una reducción significativa de la producción de CCL18 por los macrófagos peritoneales cultivados como se muestra en la Figura 41. Utilizando la presentación comercial Zemplar®, que contiene en su vehículo un 30% de propilen glicol y un 20% de etanol, y el vehículo, se confirmó que los resultados observados se debían al paricalcitol empleado y no a los componentes del vehículo como se observa en la Figura 41.

Figura 41. Reducción de los valores de CCL18 en cultivo de macrófagos peritoneales, aislados de efluentes con peritonitis en resolución, en tratamiento con Zemplar® en dosis equivalentes de paricalcitol de 10^{-8} M o 10^{-9} M.



Otros experimentos realizados utilizando paricalcitol (principio activo) y VitD3 demostraron que ambos inhiben de forma similar la secreción de CCL18 por macrófagos peritoneales aislados de pacientes con peritonitis en resolución, como se muestra en la Figura 42.

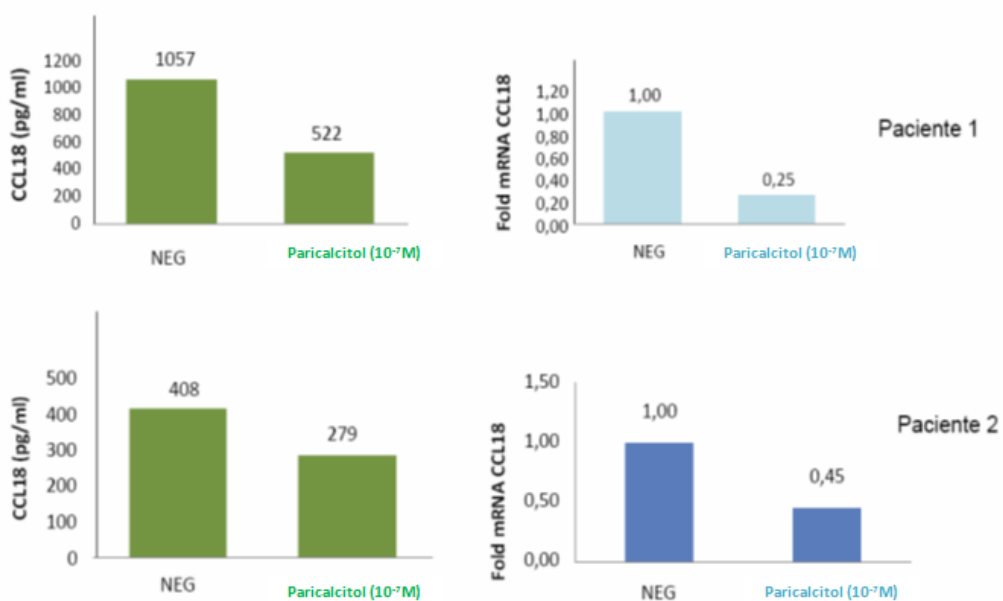
Figura 42. Producción de CCL18 de macrófagos peritoneales procedentes de pacientes con peritonitis en resolución con Paricalcitol distintas dosis (y vehículo)



▪ **EFEECTO TRANSCRIPCIONAL:**

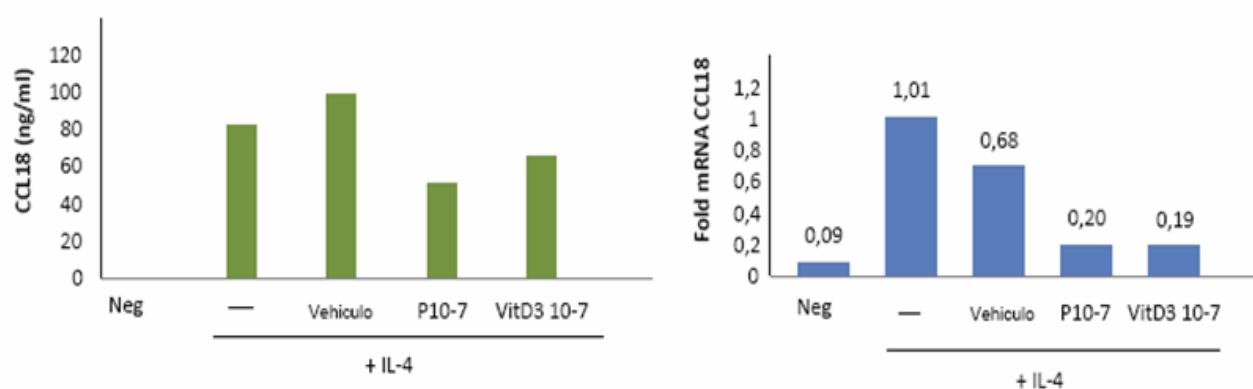
En los siguientes experimentos analizamos la expresión del RNA mensajero de CCL18 mediante PCR cuantitativa en macrófagos peritoneales tras el tratamiento con paricalcitol ($10^{-7}M$) y observamos que paricalcitol inhibe la transcripción del RNA mensajero de CCL18 en macrófagos peritoneales de aquellos pacientes en los que se demuestra una modulación de la producción de proteína [Figura 43]

Figura 43. Expresión de RNA mensajero de CCL18 (PCR cuantitativa) en macrófagos peritoneales tratados con paricalcitol



El pre tratamiento con paricalcitol también fue capaz de inhibir la producción de CCL18 y la transcripción del mRNA en monocitos de sangre periférica estimulados por IL-4 como se demuestra en la Figura 44. El pre tratamiento con vitamina D3 mostró efectos similares al paricalcitol

Figura 44. Pretratamiento con paricalcitol inhibe la producción de CCL18 y la transcripción de mRNA en monocitos de sangre periférica estimulados por IL-4



6 Resumen de resultados

- **Representatividad y potenciales sesgos de la muestra:**

- ✓ Los pacientes incluidos en el estudio longitudinal y transversal suponen una muestra de características extrapolables a la población atendida en la Unidad de Diálisis Peritoneal en nuestro centro, con una baja proporción de agresiones a la membrana (peritonitis, hemoperitoneo, carga de glucosa) que evita sesgos de selección asociados.
- ✓ Las características demográficas de los pacientes incluidos no se han mostrado relevantes en cuanto al desarrollo de EPS o PMF, así como no fueron determinantes sobre los valores de CCL18 en efluente o en suero salvo en el caso de los pacientes diabéticos (como se especifica más adelante).
- ✓ La baja incidencia y prevalencia de tratamientos potencialmente inmunomoduladores en nuestras muestras permite considerar los resultados obtenidos fuera de la influencia de estos fármacos y sus potenciales efectos.
- ✓ La estabilidad general de los parámetros clásicos de transporte de membrana (D/P cr, MTC urea, MTC cr) con valores medios que se sitúan en rangos de lo establecido como normalidad de transporte (MTC urea ± 22 ml/min, MTC cr ± 9 ml/min, D/P cr ± 0.6), permite establecer un estudio de CCL18 en efluente no mediado por éstos.

- **Potencial inclusión de CCL18 en el estudio de la función peritoneal:**

- ✓ La determinación de CCL18 en efluente peritoneal es un método accesible y seguro de medida de una de las potenciales citoquinas implicadas en el remodelado peritoneal, que no precisa además un tratamiento específico del efluente peritoneal recogido (desde cinéticas peritoneales, intercambios peritoneales en seno de peritonitis...)
- ✓ La determinación de CCL18 en suero no requiere de ningún tratamiento añadido a una muestra analítica de sangre y por tanto su accesibilidad supone una importante ventaja.

- ✓ La medida de CCL18 en suero y efluente mediante método de ELISA específico no supone un coste excesivo añadido al estudio de transporte peritoneal, pudiendo por tanto hacerse rutinario en la práctica clínica.

- **CCL18 en suero:**

- ✓ CCL18 en suero presentó un valor medio de 151.59 ± 72.06 ng/ml en el tercer año de tratamiento con DP. Se ha objetivado una alta variabilidad entre sujetos del estudio, sin que se hayan evidenciado cambios evolutivos significativos de sus valores medios durante el seguimiento.
- ✓ No se ha evidenciado asociación de valores de CCL18 en suero con las características demográficas ni de transporte peritoneal de los pacientes implicados, así como no se ha observado una asociación significativa de sus valores y el desarrollo posterior de PMF o EPS en nuestro estudio.

- **CCL18 en EFLUENTE:**

- ✓ CCL18 en efluente presentó un valor medio de 3.43 ± 1.78 ng/ml en el tercer año de tratamiento con DP. Se ha objetivado una alta variabilidad entre sujetos del estudio, sin que se hayan evidenciado cambios evolutivos significativos de sus valores medios durante el seguimiento.
- ✓ Se observaron valores relevantemente superiores de CCL18 en efluente en pacientes diabéticos tipo 1 en el corte transversal y durante el seguimiento longitudinal, con diferencias significativas en el momento basal del estudio longitudinal. No se observaron diferencias significativas en cuanto a otras variables demográficas
- ✓ En tiempo basal del estudio longitudinal además, objetivamos valores de CCL18 en efluente de forma significativamente más elevada en aquellos pacientes con alta carga de glucosa (4.60 vs. 2.54 ng/ml; $p=.027$), peritonitis en el primer año (4.55 vs. 2.64 ng/ml; $p=.038$) y datos de alto transporte (MTC cr >12 : 4.35 vs. 2.64 ng/ml, $p=.019$; D/P Cr >0.8 : 4.61 vs. 2.66 ng/ml, $p=.035$) o de fallo de ultrafiltración (UFF) (3.93 vs. 2.56 ng/ml, $p=0.05$)
- ✓ La asociación con alto transporte se objetivó también en el estudio transversal, pero sólo en el caso del MTC cr >12 ml/min vs <12 ml/min (5.37 vs. 3.35 ng/ml, $p=0.014$). Cabe destacar un incremento significativo de los valores de CCL18 en efluente en los pacientes anúricos del estudio transversal (4.35 vs. 2.99 ng/ml, $p=0.0015$).

- ✓ No se han detectado diferencias significativas en los niveles de CCL18 en efluente en cuanto a exposición a peritonitis, larga estancia en DP (>60 meses), soluciones biocompatibles ni otros tratamientos asociados.

- **CCL18 en efluente como marcador de funcionalidad de membrana:**

- ✓ Valores bajos y estables de CCL18 en efluente peritoneal (<2ng/ml) parecen proteger del desarrollo posterior de PMF y/o EPS. [Curva de supervivencia Kaplan Meier long Rank test 0.076]
- ✓ Un incremento en los valores de CCL18 en efluente durante el seguimiento [medido como la diferencia del último valor respecto del basal D1U, $p=0.014$, o como su incremento máximo durante el seguimiento MAXSUB, $p=0.039$], se asocia significativamente con el desarrollo posterior de PMF y/o EPS.
- ✓ Valores elevados de CCL18 en efluente se asociaron con desarrollo posterior de PMF y/o EPS:
 - En el estudio longitudinal observamos valores de CCL18 en efluente más elevados en todos los tiempos de seguimiento en los pacientes que desarrollaron PMF, siendo sólo significativamente más elevados en el segundo (4.23 vs. 2.68 ng/ml; $p=.024$) y tercer año en DP (4.70 vs. 2.92 ng/ml; $p=.006$). Se observaron también valores de CCL18 en efluente más elevados en aquellos pacientes con desarrollo posterior de EPS, salvo en el tercer año en DP, pero sin diferencias estadísticamente significativas
 - En el estudio transversal objetivamos valores de CCL18 en efluente significativamente superiores en los 22 pacientes que desarrollaron PMF (5.07 vs. 3.31 ng/ml; $p=.028$) y en los 6 pacientes que desarrollaron EPS (6.08 vs. 3.71 ng/ml; $p=.032$)

- **Capacidad predictiva de CCL18 en efluente y su complementariedad a lo detectado por el modelo clásico de medición de transporte de membrana:**

- ✓ El punto de corte de los valores de CCL18 en efluente en el tercer año de DP que optimizara la mayor sensibilidad (80%) y especificidad (68%) para predecir desarrollo posterior de PMF fue en nuestra serie de 3.15ng/ml o superior, con un 89.5% de valor predictivo negativo.
- ✓ Los pacientes con valores de CCL18 en efluente >3.15ng/ml en el tercer año de DP presentaron un riesgo de desarrollo de PMF y/o EPS por análisis de COX de hasta cuatro veces más que los pacientes cuyos niveles de CCL18 en efluente no superaban

este umbral en ese punto del seguimiento, sin asociación estadísticamente significativa (OR 4.33, IC 95%: 0.90–20.89; p=.067).

- ✓ Los valores de CCL18 en efluente se asociaron con riesgo de desarrollo de PMF y/o EPS de forma independiente y ajustada para los valores de D/P cr, MTC urea, MTC cr y UFF en el tercer año de DP (p=0.031) y en el corte transversal sobre pacientes de >3 años de tratamiento con DP (p=0.014)

- **CCL18 en efluente y transporte de membrana:**

- ✓ CCL18 en efluente correlaciona con datos de transporte de membrana como D/P de creatinina y MTC de creatinina, pudiendo considerarse un buen marcador de funcionalidad de membrana
- ✓ Sin embargo, cabe destacar que las modificaciones de CCL18 en efluente no se han acompañado de modificaciones en el transporte peritoneal o datos de funcionalidad de membrana, así como no se asociaron con un aumento del transporte de pequeños (D/P cr) o grandes (proteínas) solutos, ni de alteraciones relevantes en el transporte de agua libre.
- ✓ La estabilidad mantenida de parámetros de transporte y de datos de alarma peritoneal frente a variabilidad o rangos de alarma de CCL18 en efluente peritoneal, además, hacen que en nuestro estudio no se sospechen sesgos asociados al transporte peritoneal, por lo que es posible que predomine una producción y efecto locales sobre la cantidad potencialmente transferida desde el plasma.

- **CCL18 en efluente y otros marcadores de riesgo peritoneal (PAI-1):**

- ✓ Los niveles de CCL18 en efluente se correlacionan con los niveles de PAI en tiempo basal y 2 años en DP en el estudio longitudinal y en el corte transversal realizado en pacientes de más de 3 años de tratamiento con DP (R=0.34 p= 0.00)
- ✓ En el estudio longitudinal no se observaron asociaciones significativas entre los niveles de PAI-1 en efluente y el desarrollo posterior de PMF. Sin embargo se objetivaron valores de PAI-1 en efluente más elevados en los dos pacientes que presentaron posteriormente EPS en todos los tiempos
- ✓ En el estudio transversal realizado sobre pacientes de larga estancia en DP (>3 años) observamos valores significativamente más elevados de PAI en efluente peritoneal en aquellos pacientes que presentaron posteriormente PMF (1.03 vs. 0.45 ng/ml p=0.01) y valores relevantemente más elevados de PAI en el efluente de pacientes con

posterior desarrollo de EPS, pero sin significación estadística (1.65 vs. 0.54 ng/ml p=0.25)

- **CCL18 en efluente y situaciones especiales: peritonitis eosinofílica (PE)**

- ✓ Se describe el primer caso de peritonitis eosinofílica mediada por una reacción de hipersensibilidad a clorhexidina con fallo de UF tipo I y potencial fibrosis peritoneal asociada
- ✓ Se plantea que el mecanismo propuesto de hipersensibilidad local junto con la presencia de grandes cantidades de eosinófilos activados, apunte a los eosinófilos como células implicadas en el daño peritoneal objetivado en las peritonitis eosinofílicas
- ✓ Se confirma en nuestro estudio la producción de CCL18 por eosinófilos peritoneales activados, con concentraciones paralelas al número de eosinófilos peritoneales [correlación con recuento de eosinófilos peritoneales $r = 0,949$, $p = 0,013$]
- ✓ La implicación de los eosinófilos peritoneales en el proceso de fibrosis peritoneal podría basarse en su producción de CCL18.

- **CCL18 en efluente como potencial diana terapéutica: efectos del Paricalcitol**

- ✓ Paricalcitol inhibe la producción de CCL18 (evaluada mediante ELISA en sobrenadantes de cultivo) por los macrófagos peritoneales tomados durante episodios de peritonitis en fase de resolución, tanto en su formato comercial [Zemplar®] como en el uso de su principio activo.
- ✓ Paricalcitol inhibe la transcripción del RNA mensajero de CCL18 en macrófagos peritoneales.
- ✓ El pre tratamiento con paricalcitol también fue capaz de inhibir la producción de CCL18 y la transcripción del mRNA en monocitos de sangre periférica estimulados por IL-4

- **CCL18 como marcador de función de membrana y mecanismo de fibrosis en diálisis peritoneal**

- ✓ Los hallazgos descritos se muestran coherentes y fortalecen las evidencias existentes hasta la fecha que apoyan la relación e implicación fisiopatogénica de CCL18 en efluente en el desarrollo de fibrosis peritoneal.
- ✓ La determinación de los niveles de CCL18 en efluente peritoneal supone un nuevo marcador que predice riesgo de desarrollo de fallo de membrana y complementa la

capacidad diagnóstica de los mecanismos clásicos utilizados hasta la fecha, siendo independiente de éstos y aportando datos precoces de riesgo cuando están en rango.

- ✓ Su implicación fisiopatogénica con la fibrosis peritoneal y posible EPS, hace de CCL18 una nueva y potencial diana terapéutica en el abordaje de esta patología, que permita adelantar estrategias conocidas o plantear nuevos tratamientos (con resultados prometedores en estudios preliminares realizados con paricalcitol)
- ✓ Son necesarios abordajes multicéntricos con un mayor número de pacientes que complementen estos resultados y validen la utilización rutinaria de CCL18 en efluente como marcador predictivo de fallo de membrana y en última instancia de desarrollo de EPS.

7 Discusión

La DP es una técnica dialítica de reconocido papel en el abordaje integral del TRS de los pacientes con ERCA. Su supervivencia es similar a la de HD, siendo la edad y la presencia de DM los principales determinantes de la supervivencia del paciente en ambas (1–3).

Tal y como se observó en un estudio reciente llevado a cabo en la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital La Paz sobre 30 años de experiencia de la técnica (8), la mejor selección de los pacientes, la experiencia y curva de aprendizaje del centro con continuidad del cuidado médico y de enfermería, la consecución de dosis de diálisis más adecuadas, la extensión del uso de la DPA y de las soluciones biocompatibles, son factores determinantes en la mejora de la supervivencia del paciente y técnica.

Sin embargo, la utilización de una membrana biológica que se enfrenta a soluciones de diálisis bioincompatibles e interurrencias inflamatorias asociadas a la técnica (como las peritonitis), sigue condicionando en DP un remodelado profibrótico de la membrana peritoneal que se expresa en cambios estructurales (pérdida de la monocapa mesotelial, aumento de matriz submesotelial y fibrosis submesotelial, vasculopatía y proliferación vascular) y que deriva en un fallo de su funcionalidad, con incapacidad para la adecuada UF y alteraciones del transporte peritoneal que pueden acabar impidiendo su uso como membrana dialítica (9,10). Este remodelado presenta implicaciones directas en la morbi-mortalidad de la técnica y de los pacientes tratados con DP, sobre todo en el caso de que se produzca la progresión desde la fibrosis peritoneal simple (SPS) a la esclerosis peritoneal encapsulante (EPS).

Por tanto, la integridad estructural y funcional de la membrana peritoneal está directamente implicada en la viabilidad y morbi-mortalidad de la DP; y el abordaje diagnóstico y terapéutico del proceso de remodelado profibrótico de la misma proporcionará una menor limitación de la técnica y una mejora en el cuidado de los pacientes en DP con una menor comorbilidad y mortalidad derivadas de su fibrosis, sus alteraciones funcionales asociadas y su máxima complicación: la EPS.

Remodelado peritoneal: inflamación-fibrosis

El proceso de fibrosis de la membrana peritoneal, y sus alteraciones estructurales y funcionales derivadas, resulta principalmente de dos grandes agentes fisiopatogénicos: la inflamación (y sus agudizaciones) y la toxicidad sobre la membrana peritoneal derivada de la exposición a soluciones bioincompatibles y sus PDGs (41). Ambos procesos se retroalimentan y potencian uno a otro, perpetuando el daño peritoneal que deriva en fibrosis.

De entre los principales mecanismos promotores del remodelado profibrótico peritoneal cabe destacar el proceso de MMT, que se postula como uno de los principales implicados y desencadenantes de este remodelado (10,12,13). La MMT induce y participa en la cascada profibrótica a través de mecanismos inflamatorios y profibróticos (14,15), sobreexpresión de VEGF (115) y principalmente vía TGF- β (105,106) y su cascada TGF- β 1/Smad (9,14,107–109), con aumento de matriz extracelular y producción de colágeno tipo 1, fibronectina y CTGF. La inhibición de la capacidad fibrinolítica del plasminógeno activado 1 mediante su inhibidor natural PAI-1 (29,92,117) y la activación del fibroblasto residente y quiescente (CD 34 +) (16), son mecanismos complementarios.

Por otra parte, la interconurrencia de factores inflamatorios como las peritonitis, promueve mecanismos mediados por citoquinas inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α (19,42) y perpetúa el proceso profibrótico. Además, estas citoquinas inflamatorias se acompañan de la producción de PDGF, VEGF y por supuesto TGF- β , potenciando y promoviendo el remodelado profibrótico a través de MMT (11,29). La expresión de moléculas implicadas en la regulación inmune que sucede durante los episodios de peritonitis agudas como el sistema MCP-1/CCR2, encargado del reclutamiento de monocitos en la resolución de las mismas, se ha asociado en modelo murino a la perpetuación de MMT y fibrosis peritoneal con síntesis de matriz extracelular vía TGF- β (41,102), quedando la vía inflamatoria y profibrótica, una vez más, imbricadas.

En los procesos inflamatorios como las peritonitis además, se produce un reclutamiento evolutivo de monocitos-macrófagos desde su funcionalidad defensiva (M1; encargados de la promoción de respuesta Th1 y presentación de antígeno) hasta su acción reparadora mediada por los macrófagos M2, de acción profibrótica.

Por otra parte, recientemente se han descrito estudios que plantean la existencia de macrófagos antifibróticos que juegan un papel en la fibrosis de la MEC. *In vivo*, se ha planteado la expresión de metaloproteasas MMP-9 o MMP-13, quimioquinas CXCL10, CXCL9, PPAR γ o TNF- α (201). Sin embargo estas moléculas no son específicas de los macrófagos en sus diferenciaciones inflamatoria o profibrótica, quedando por tanto por definir mejor las potenciales características y efectos de un posible macrófago antiinflamatorio.

Macrófagos M2: fibrosis y EPS

Diversos estudios apuntan a los macrófagos M2 como elementos clave en el proceso de fibrosis sistémica mediada por inflamación crónica. Los M2 son capaces de estimular la fibrosis a través de su promoción de depósito de MEC (131) y la regulación de la misma a través de algunas MMP (137), a través de su relación con la neoangiogénesis (96) y de sus citoquinas profibróticas, como CCL18 (90,95,133).

La reciente confirmación de la existencia de un infiltrado predominante de células CD4+ y M2 (CD 163+) en el peritoneo de los pacientes con EPS supone la implicación fisiopatológica de estas células en el remodelado peritoneal profibrótico más grave y las separa del proceso de SPS. A partir de este hallazgo es posible proponer esta presencia como uno de los elementos diferenciales de ambos procesos fibróticos peritoneales (SPS y EPS)(90).

La mayoría de los autores coinciden en que el proceso de EPS no parece una continuidad o una simple progresión de la SPS, pero el paso del proceso potencialmente reversible de SPS al irreversible condicionado por EPS (15) no está aún esclarecido. Según la teoría del “*doble golpe*” o “*two hit*” (15,30), el proceso de MMT y su cascada profibrótica supondría un evolutivo y progresivo “primer golpe” sobre el que sobreviene un proceso precipitante (“segundo golpe”), como pudiera ser un proceso inflamatorio agudo y su evolución derivada, en el que los M2 pudieran ser decisivos.

Macrófagos M2: fibrosis peritoneal y CCL18

En 2011, en un estudio llevado a cabo sobre 74 pacientes reclutados del programa de DP del Hospital Universitario La Paz, se demostró la existencia de M2 en peritoneo humano, con y sin episodios de peritonitis asociada e independientemente del tiempo de permanencia o del tipo de líquido de diálisis (95). Mediante análisis *ex vivo* de cultivo de sobrenadante de efluente

peritoneal fue comprobado el fenotipo característico de M2 en efluente peritoneal, con evidencia de la expresión de sus marcadores de membrana (CD206, CD163 y CD209), la producción de quimioquinas propias como CCL18 y la expresión de genes profibrogénicos y angiogénicos como TGF- β y PDGF (95).

La participación de los M2 en los procesos de fibrosis peritoneal se centra en una de las citoquinas profibróticas producidas por éstos, CCL18.

Producida mayoritariamente por macrófagos M2 y DC, a través de estímulo IL-10, IL-4, TGF- β y apoptosis celular (95,145); CCL18 es una citoquina que presenta capacidad constitutiva o profibrótica en la mayoría de las patologías en las que se ve implicada, pudiendo además condicionar un reclutamiento adicional de monocitos, linfocitos y DC que perpetúe su vía reparadora-profibrótica (145).

Se ha descrito la participación de CCL18 en procesos inflamatorios crónicos que conducen a fibrosis secundaria tras la perpetuación de los mismos mediados por la acción de monocito/macrófago y linfocitos como es el caso de la Hepatitis C, la arterioesclerosis derivada de procesos de vasculitis y enfermedades linfocitarias como la enfermedad de Sjögren (145). En la Fibrosis Pulmonar Idiopática su producción se demostró como producto de macrófagos M2 y se validó como marcador en suero de la supervivencia del paciente y de la evolución de los parámetros funcionales de la misma (133), con un umbral patológico en suero por encima de 150ng/ml.

Recientemente, además, la vía M2-CCL18 como participante de MMT cobra un relevante interés diagnóstico y terapéutico en los procesos de fibrosis glomerular e intersticial renal (148–152); con evidencia de altos niveles de CCL18 en la orina de los pacientes con nefropatía diabética (153).

En fibrosis peritoneal, en un estudio llevado a cabo sobre 74 pacientes en DP del Hospital La Paz, ha sido evidenciada la producción de CCL18 por M2 y la activación fibroblástica peritoneal mediada y dependiente de CCL18 (95). En este mismo estudio además, se objetivaron valores significativamente más elevados de CCL18 en efluente peritoneal en aquellos pacientes que posteriormente desarrollaron UFF y EPS; sin que esa asociación se objetivara en el caso de otras quimioquinas como INF- γ (relacionada con el estímulo de diferenciación de los M1) o interleuquinas como IL-10 (implicada en el entorno de la activación alternativa de los M2) (95).

Hallazgos contemporáneos confirmaron esta asociación de CCL18 con posterior desarrollo de EPS (96).

Por tanto, dada la implicación de M2 y CCL18 en el proceso de fibrosis peritoneal, fallo de membrana y/o EPS, se plantea que el estímulo continuado de la DP y de sus intercorrencias inflamatorias (peritonitis) o de técnica (soluciones bioincompatibles, alta carga de glucosa) puedan modificar el entorno peritoneal con un aumento de diferenciación hacia M2 de los macrófagos peritoneales y éstos participar del proceso de fibrosis peritoneal a través de su citoquina CCL18. Partiendo de esta hipótesis y los datos previos que la avalan, llevamos a cabo este estudio, que pretende validar CCL18 como marcador diagnóstico y pronóstico de fibrosis y funcionalidad peritoneal.

Dado el complejo, y a menudo tardío, diagnóstico de EPS hemos pretendido intervenir con un diagnóstico temprano y establecer datos predictivos o de sospecha de alteración funcional de la membrana para lo que se definió una nueva variable de alteración funcional de membrana: PMF y se redefinió el nivel de CCL18 y su relación con PMF como una de las principales variables de estudio. En este sentido, hemos trabajado de forma clínica y en líneas activas de investigación tratando de adelantar el diagnóstico o situación de riesgo que predisponga a EPS. No sólo en el abordaje de pacientes de riesgo, como se llevó a cabo en el reciente estudio realizado en la Unidad de DP del Hospital La Paz con la definición del estadio “EPS-prone” (66); sino también en el abordaje de mecanismos fisiopatogénicos implicados en el desarrollo de EPS y que puedan ser utilizados en la valoración global del riesgo de esta entidad (41,66,95,202).

En el trabajo presentado llevamos a cabo el análisis de CCL18 en suero y efluente peritoneal de pacientes tratados en la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital La Paz durante las últimas dos décadas, tratando de validar esta citoquina como marcador diagnóstico y pronóstico de fibrosis y funcionalidad peritoneal.

Considerando los datos de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal y transversal, creemos que suponen una muestra de características extrapolables a la población atendida en la Unidad de Diálisis Peritoneal en nuestro centro, con una baja proporción de agresiones a la

membrana (peritonitis, hemoperitoneo, carga de glucosa) que evita sesgos de selección asociados. Las características demográficas de los pacientes incluidos no se han mostrado relevantes en cuanto al desarrollo de EPS o PMF, así como no fueron determinantes sobre los valores de CCL18 en efluente o en suero salvo en el caso de los pacientes diabéticos que presentaron valores de CCL18 en efluente notablemente más elevados, sin diferencias destacables en suero. Recientemente, CCL18 ha sido objetivada en la orina de los pacientes con nefropatía diabética y planteado como nuevo agente implicado en la inflamación y fibrosis renales de esta entidad (153). La relación de CCL18 con los AGEs en los pacientes diabéticos pudiera establecer paralelismos con la exposición a glucosa de los pacientes en DP, sin embargo en nuestros pacientes solo se observó una asociación significativa entre alta carga de glucosa y valores de CCL18 en efluente más elevados en el tiempo basal del estudio longitudinal, con valores mantenidos más elevados durante el seguimiento y en el corte transversal, pero sin significación estadística.

Los biomarcadores en efluente peritoneal siempre sufren de una limitación: su dilución por el propio líquido (2 litros habitualmente) que condiciona una concentración por debajo de los límites de cualquier determinación. Sin embargo CCL18, es directamente determinable en suero y efluente peritoneal, lo que la convierte en un método fácil y seguro de medida de una de las potenciales citoquinas implicadas en el remodelado peritoneal. Además no precisa de un tratamiento específico del suero o efluente peritoneal recogido (desde cinéticas peritoneales, intercambios peritoneales en seno de peritonitis...) y es determinada mediante método de ELISA específico que no supone un gasto excesivo de laboratorio al ya utilizado para la monitorización de transporte peritoneal, pudiéndose convertir en rutina para la práctica clínica.

Además todas nuestras determinaciones, tanto en el estudio longitudinal como transversal, se llevaron a cabo en un entorno de estabilidad general de los parámetros clásicos de transporte de membrana (D/P cr, MTC urea, MTC cr) con valores medios que se sitúan en rangos de lo establecido como normalidad de transporte (MTC urea ± 22 ml/min, MTC cr ± 9 ml/min, D/P cr ± 0.6), lo que permite establecer un estudio de CCL18 en efluente no mediado por éstos.

A diferencia de lo objetivado en relación a los valores de CCL18 en suero en otras entidades en las que ha demostrado valor pronóstico (133,145–147), en nuestros estudios (longitudinal y transversal) no hemos evidenciado asociación de valores de CCL18 en suero con las características demográficas ni de transporte peritoneal de los pacientes implicados. Tampoco

hemos observado una asociación significativa de los valores de CCL18 en suero y el desarrollo posterior de PMF o EPS.

En efluente peritoneal, sin embargo, se objetivaron valores de CCL18 significativamente más elevados en el tiempo basal del estudio longitudinal en aquellos pacientes con alta carga de glucosa (4.60 vs. 2.54 ng/ml; $p=.027$), peritonitis en el primer año (4.55 vs. 2.64 ng/ml; $p=.038$) y datos de alto transporte (MTC cr >12 ml/min: 4.35 vs. 2.64 ng/ml, $p=.019$; D/P Cr >0.8 : 4.61 vs. 2.66 ng/ml, $p=.035$) o de fallo de ultrafiltración (UFF) (3.93 vs. 2.56 ng/ml, $p=0.05$). La asociación con alto transporte se objetivó también en el estudio transversal sólo en el caso del MTC cr >12 (5.37 vs. 3.35 ng/ml, $p=0.014$) y cabe destacar un incremento significativo de los valores de CCL18 en efluente en los pacientes anúricos del estudio transversal (4.35 vs. 2.99 ng/ml, $p=0.0015$). No se han detectado diferencias significativas en los niveles de CCL18 en efluente en cuanto a exposición a peritonitis, larga estancia en DP (>60 meses), soluciones biocompatibles ni otros tratamientos asociados.

Como **hallazgo más relevante** de nuestro estudio proponemos los bajos y estables niveles de CCL18 en efluente (<2 ng/ml) como indicador de protección frente al desarrollo posterior de PMF y/o EPS, por tanto como un marcador de estabilidad funcional de la membrana. De hecho, ningún paciente con valores inferiores y mantenidos por debajo de esa media durante el seguimiento (lo que en el estudio se define como Grupo 1) presentó posteriormente PMF o EPS. Estos hallazgos apoyan no sólo una asociación de CCL18 con el desarrollo posterior de PMF o EPS sino una implicación fisiopatogénica en el desarrollo de las mismas; como ya se sugiere de los estudios comentados previamente que proponen M2 como uno de los principales agentes implicados en la fibrosis peritoneal y EPS (15,90,95), y a su citoquina, CCL18 con la fibrosis sistémica (133,145), renal (148–152) y peritoneal (95,96).

De manera coherente con estos hallazgos, un incremento en los valores de CCL18 en efluente durante el seguimiento, medido como la diferencia del último valor respecto del basal (D1U), o como su incremento máximo durante el seguimiento (MAXSUB), se asoció significativamente ($p=0.014$ y $p=0.039$, respectivamente) con el desarrollo posterior de PMF o EPS en nuestro estudio longitudinal. En el mismo sentido valores medios más elevados de CCL18 en efluente se asociaron con un mayor riesgo de desarrollo de EPS o PMF. En el estudio longitudinal observamos valores de CCL18 en efluente más elevados en todos los tiempos de seguimiento en los pacientes que desarrollaron PMF, siendo sólo significativamente más elevados en el segundo (4.23 vs. 2.68 ng/ml; $p=.024$) y tercer año en DP (4.70 vs. 2.92 ng/ml; $p=.006$).

Además, también se detectaron valores de CCL18 en efluente más elevados en aquellos pacientes con desarrollo posterior de EPS, salvo en el tercer año en DP, pero sin diferencias estadísticamente significativas. En el estudio transversal objetivamos valores de CCL18 en efluente significativamente superiores en los 22 pacientes que desarrollaron PMF (5.07 vs. 3.31 ng/ml; $p=.028$) y en los 6 pacientes que desarrollaron EPS (6.08 vs. 3.71 ng/ml; $p=.032$).

Importancia del tercer año de DP como punto de medida

El objetivo de nuestro trabajo fue validar CCL18 como marcador de funcionalidad y alteraciones estructurales de la membrana. Sin embargo en muchas ocasiones es posible que sea complejo realizar suficientes determinaciones seriadas como para plantear un análisis evolutivo del marcador, o puede que analizarlo en el último momento de control peritoneal antes de salida de técnica en pacientes con larga estancia en DP suponga una determinación demasiado tardía de cara a la prevención del proceso. En este contexto valoramos estudiar la posibilidad de detectar un umbral diagnóstico o pronóstico de CCL18 en el tercer año en DP, cuando el riesgo de daño de membrana es todavía inferior.

Además, el tercer año de DP tiene una relevancia añadida en nuestro grupo de pacientes dados los recientes hallazgos del estudio llevado a cabo en el mismo centro (66), en los que los datos de función peritoneal son claves en el tercer y cuarto año de DP, donde se objetivan cambios significativos en la evolución de la función peritoneal y la progresión de un porcentaje relevante de pacientes (20%) hacia fallo de UF tipo I adquirido (66).

El punto de corte de los valores de CCL18 en efluente en el tercer año de DP que optimizara la mayor sensibilidad (80%) y especificidad (68%) para predecir desarrollo posterior de PMF en nuestra serie fue de 3.15ng/ml o superior, con un 89.5% de valor predictivo negativo. Los pacientes con valores de CCL18 en efluente >3.15 ng/ml en el tercer año de DP presentaron un riesgo de desarrollo de PMF o EPS por análisis de COX de hasta cuatro veces más que los pacientes cuyos niveles de CCL18 en efluente no superaban este umbral en ese punto del seguimiento, aunque sin asociación estadísticamente significativa (OR 4.33, IC 95%: 0.90–20.89; $p=.067$).

Importancia del diagnóstico precoz y complementariedad con los datos de transporte de membrana clásicos

Además, la asociación de estos valores de CCL18 en el efluente en el tercer año de DP con el desarrollo posterior de PMF o EPS se produce de forma independiente y ajustada para los valores de D/P cr, MTC urea, MTC cr y UFF en el tercer año de DP ($p=0.031$), lo que se confirma también en la última determinación previa a salida de técnica de los pacientes de más de 3 años en DP incluidos en el estudio transversal ($p=0.014$). Por todo esto, creemos que CCL18 puede superar a los marcadores funcionales actuales en su capacidad de predicción del daño de membrana. Cuando todavía no se ha alcanzado un incremento del transporte de solutos o una disminución del de agua, la producción de CCL18 empieza a aumentar localmente y ello se refleja en el efluente peritoneal.

Esta independencia de los parámetros tradicionalmente empleados en la monitorización del transporte y funcionalidad de membrana peritoneal (D/P cr, MTC urea, MTC cr y UFF), se ve reforzada en nuestros estudios por una evidente y mantenida estabilidad de los parámetros de transporte de membrana durante todo el seguimiento en el caso del estudio longitudinal y en valores de media en rango de la normalidad tanto en el abordaje longitudinal como en el corte transversal.

Esto, según nuestro punto de vista y a diferencia de los autores que sostienen que la determinación de citoquinas de efluente peritoneal no aporta un beneficio al modelo actual de riesgo de desarrollo de EPS (154), confiere a CCL18 un valor añadido a la determinación clásica de riesgo de membrana peritoneal que complementarí­a los datos de riesgo y que, en nuestras series, se destaca de los parámetros clásicos marcando riesgo peritoneal cuando éstos se encuentran dentro de los valores considerados normales y no de riesgo, pudiendo por tanto adelantar la sospecha de posterior desarrollo de PMF y EPS.

CCL18 y transporte de membrana

Es complejo desligar CCL18 de su potencial transporte a través de la membrana peritoneal en una molécula de la que se desconoce el cociente D/P. CCL18 tiene un peso molecular de aproximadamente 18000 daltons y por ello se transporta de manera limitada a través de la membrana peritoneal, como cualquier proteína o la $\beta 2$ microglobulina).

Es cierto que CCL18 en efluente se correlaciona directamente con los valores de transporte de membrana como D/P y MTC de creatinina. Sin embargo, queremos destacar que en nuestra serie las modificaciones de CCL18 en efluente no se han acompañado de modificaciones en el transporte peritoneal de pequeños solutos como la creatinina (cuyo D/P permaneció estable) ni de grandes solutos (albúmina), ni se asociaron a alteraciones relevantes en el transporte de agua libre. Todo ello nos hace señalar discrepancias entre transportes que deben reflejar hechos diferenciales. Es posible que exista un componente de transporte peritoneal desde el plasma (para cuya determinación serían necesarios más estudios dirigidos), pero el incremento de los valores de CCL18 en efluente asociado a riesgo de alteración funcional de la membrana no se acompaña de cambios en el transporte asociado, sugiriendo una producción local; que además parece determinante en las consecuencias funcionales de esta citoquina.

Cabe comentar una tendencia a menor transporte inicial (D/P cr y MTC cr) en valores absolutos en los pacientes con valores bajos y estables de CCL18 en efluente durante el seguimiento longitudinal (pertenecientes al Grupo 1), sin relevante significado clínico puesto que ya se objetivó en estudios previos que un alto transporte inicial no se asocia a fallo de membrana posterior (33,36,195), y sin diferencias mantenidas durante el seguimiento. En las fases iniciales de DP el sistema CCL18 peritoneal no parece estar activado.

Por ello, concluimos en este sentido que la estabilidad mantenida de parámetros de transporte y de datos de alarma peritoneal frente a la variabilidad o rangos de alarma de CCL18 en efluente peritoneal, hacen que en nuestro estudio no se sospechen sesgos asociados al transporte peritoneal y que sea posible una predominancia de la producción y efecto locales. Y que, además, los datos obtenidos parecen indicar que en nuestra serie CCL18 pudiera tener el valor añadido de asociarse con el posterior desarrollo de PMF o EPS en un momento temprano cuando aún no se han observado alteraciones en los datos clásicos de transporte de membrana.

Otras citoquinas: Correlación de CCL18 con PAI-1 en efluente

Tratando de encuadrar CCL18 en el abanico de citoquinas recientemente en auge y estudiadas en relación con del desarrollo posterior de EPS, como PAI-1 (92), analizamos el comportamiento de ambas citoquinas en nuestras muestras. Observamos una correlación

positiva entre los niveles de CCL18 y PAI-1 en efluente peritoneal en tiempo basal y 2 años en DP en el estudio longitudinal y en el corte transversal realizado en pacientes de más de 3 años de tratamiento con DP ($R=0.34$ $p=0.00$).

En nuestro estudio longitudinal no se observaron asociaciones significativas entre los niveles de PAI-1 en efluente y el desarrollo posterior de PMF, sin embargo se objetivaron valores de PAI-1 en efluente más elevados en los dos pacientes que presentaron posteriormente EPS en todos los tiempos. En el estudio transversal realizado sobre pacientes de larga estancia en DP (>3 años), observamos valores significativamente más elevados de PAI en efluente peritoneal en aquellos pacientes que presentaron posteriormente PMF (1.03 vs. 0.45 ng/ml $p=0.01$) y valores relevantemente más elevados de PAI en el efluente de pacientes con posterior desarrollo de EPS, pero sin significación estadística (1.65 vs. 0.54 ng/ml $p=0.25$).

Por ello, con respecto a los niveles de PAI-1 en efluente tenemos que concluir que nuestros datos apoyan su significación para definir riesgo de EPS, como ha sido propuesto. Sin embargo su capacidad para predecir estadios anteriores y menos graves de daño de membrana no es tan buena como la de CCL18.

Estabilidad de los hallazgos fisiopatológicos y extrapolación a otros modelos de agresión a la membrana peritoneal (Peritonitis eosinofílica)

En sentido fisiopatogénico evaluamos la potencial implicación de CCL18 en otros procesos de agresión inflamatoria y profibrótica de la membrana peritoneal como la peritonitis eosinofílica (PE), tratando de confirmar la consistencia de los hallazgos fisiopatológicos y extrapolar lo detectado a otros modelos de agresión a la membrana peritoneal.

La PE forma parte de las potenciales etiologías de una peritonitis estéril. Caracterizada por la presencia de al menos 40 eosinófilos /mm³ o más del 10% de eosinófilos del recuento peritoneal, cumpliendo los criterios de peritonitis (más de 100leucocitos/mm³), supone una de las causas de eosinofilia peritoneal (57), que puede observarse en patologías no inflamatorias-infecciosas, tales como exposición química. Se ha descrito eosinofilia peritoneal como respuesta a hipersensibilidad a fármacos (59) y casos de hipersensibilidad en contexto de clorhexidina (60), pero hasta la fecha no hay descritos casos de eosinofilia peritoneal en contexto de hipersensibilidad a clorhexidina como fue el caso clínico que nos permitió abordar el papel de CCL18 en este mecanismo de agresión peritoneal.

En nuestro caso, y por vez primera, mediante el test de estimulación linfocitaria se confirmó un mecanismo de hipersensibilidad a clorhexidina que derivó en un cuadro de PE con desarrollo de fallo de UF tipo I y potencial fibrosis peritoneal asociada.

Dada la asociación de peritonitis eosinofílicas recurrentes (58) y de clorhexidina (61) al desarrollo posterior de fibrosis peritoneal y la asociación de CCL18 con fibrosis de la membrana peritoneal y desarrollo posterior de UFF y EPS (95), investigamos un potencial mecanismo fibrótico en la PE mediado por CCL18 liberada por eosinófilos peritoneales.

Planteamos que el mecanismo propuesto de hipersensibilidad local junto con la presencia de grandes cantidades de eosinófilos activados, apunte a los eosinófilos como células implicadas en el daño peritoneal objetivado en las peritonitis eosinofílicas.

Aunque se ha descrito que CCL 18 principalmente es producido por M2 y células dendríticas (95,145), CCL18 también ha sido descrita como producto de eosinófilos (199,200), y así lo objetivamos *ex vivo* en nuestro caso, confirmando la producción de CCL18 por eosinófilos peritoneales activados, con concentraciones paralelas al número de eosinófilos peritoneales [correlación con recuento de eosinófilos peritoneales, $r = 0,949$, $p = 0,013$].

Por tanto, los datos apuntan a la participación de esta línea celular (eosinófilos) en el proceso de fibrosis peritoneal, que pudiera ser llevada a cabo a través de la citoquina profibrótica CCL18, en coherencia con los resultados presentados por este y otros estudios previos realizados (95,96).

Potencial instrumento para la propuesta de estrategias terapéuticas. Inhibición por paricalcitol de la producción de CCL18.

Dada la coherencia de los hallazgos fisiopatogénicos y su validación en diferentes modelos de agresión peritoneal, se plantea la validación de CCL18 como marcador de riesgo de fallo de membrana peritoneal que pudiera adelantar una sospecha clínica, y permitiera introducir estrategias ya conocidas o plantear este sistema como una nueva diana terapéutica.

En nuestro trabajo no se ha explorado la inhibición de la producción de CCL18 con agentes terapéuticos empleados en la práctica clínica como el descanso peritoneal, que ya se aplica en los pacientes con elevado riesgo de desarrollo de EPS o EPS-prone(66). Tampoco hemos observado en nuestras series, longitudinal y transversal, una asociación de valores significativamente más bajos de CCL18 en suero o en efluente de los pacientes tratados con

tamoxifeno, reconocido agente terapéutico para la EPS (66,79,174), inmunosupresores, ni con otros fármacos potencialmente antifibróticos como los bloqueantes del SRAA (175–179).

Sin embargo, y partiendo de los estudios que abalan la capacidad antifibrótica de paricalcitol y su acción inhibitoria sobre la expresión de TGF- β y MMT secundaria (187–189), así como la evidencia del descenso de fibrosis y MMT peritoneal observada con su administración intraperitoneal en modelo murino (190), llevamos a cabo experimentos *in vitro* con paricalcitol como potencial inhibidor o reductor de los niveles de CCL18 en efluente, con resultados prometedores.

Observamos que Paricalcitol inhibe la producción de CCL18 (evaluada mediante ELISA en sobrenadantes de cultivo) por los macrófagos peritoneales tomados durante episodios de peritonitis en fase de resolución de pacientes en DP; tanto en su formato comercial [Zemplar®] como usando su principio activo puro. Además, paricalcitol inhibe la transcripción del RNA mensajero de CCL18 en macrófagos peritoneales y el pre-tratamiento con paricalcitol es capaz también de inhibir la producción de CCL18 y la transcripción del mRNA en monocitos de sangre periférica estimulados por IL-4 (que simula la transformación de monocito a M2).

Sin embargo, se precisan de más estudios para poder concluir sobre la potencial eficacia de paricalcitol sobre esta nueva diana terapéutica, CCL18, y su potencial implicación en la reducción de la fibrosis peritoneal a través de la inhibición de la vía M2-CCL18.

La principal limitación de nuestro estudio es el pequeño tamaño muestral y la selección no multicéntrica del mismo, sin embargo como una de sus fortalezas cabe destacar la coherencia interna y externa de los datos presentados en los diferentes abordajes estadísticos y situaciones de agresión peritoneal estudiados, así como la baja incidencia de evento inflamatorios o agentes inmunomoduladores de nuestras muestras, que avala los resultados obtenidos fuera de la influencia de éstos.

En resumen, nuestro estudio evidencia CCL18 en efluente como marcador y agente fisiopatogénico implicado en el proceso de fibrosis peritoneal, y es capaz de predecir la disfunción de la membrana peritoneal. La validación de este modelo en otras agresiones de la membrana como la Peritonitis Eosinofílica y el abordaje de CCL18 como nueva diana terapéutica para Paricalcitol, completan el abordaje de una quimioquina con coherente y demostrada implicación patogénica en el proceso de fibrosis de membrana, que pudiera ser además determinante y diferenciador del proceso de EPS .

Son necesarios abordajes multicéntricos con un mayor número de pacientes para complementar estos resultados y validar la utilización rutinaria de CCL18 en efluente como marcador predictivo de fallo de membrana y en última instancia de desarrollo de EPS.

8 Fortalezas y limitaciones del estudio

Fortalezas

- ✓ La novedad del estudio de CCL18 en DP en múltiples situaciones del tratamiento dialítico (situación basal y seguimiento longitudinal, infección peritoneal y peritonitis eosinofílica) con la posibilidad además del estudio longitudinal que permite apuntar las bases de la historia natural de CCL18 en DP y sus implicaciones.
- ✓ La coherencia de los datos obtenidos y el soporte fisiopatogénico de la implicación de CCL18 en los procesos de fibrosis y fibrosis peritoneal evidenciado en situación no infecciosa, de infección peritoneal y peritonitis eosinofílica.
- ✓ La estabilidad de parámetros de funcionalidad de membrana que acompaña a todo el estudio, así como la baja incidencia de eventos asociados o fármacos inmunomoduladores, que evitan sesgos y dan consistencia a los resultados obtenidos.

Limitaciones

- El escaso número de pacientes implicados (n) hace que sus diferencias demográficas puedan haberse visto enmascaradas dada variabilidad y prevalencia de las mismas (sólo 2 pacientes eran diabéticos tipo 1), y los datos sobre los niveles de CCL18 en suero y en efluente tener relaciones no significativas o tendencias que pudieran confirmarse en una selección de mayor tamaño muestral.
- La realización del análisis y selección de la muestra de forma no multicéntrica proporciona la menor N mencionada y pudiera favorecer mayores sesgos de selección de los pacientes incluidos en cuanto a tratamientos y planteamientos dialíticos recibidos.

9 Implicaciones clínicas y perspectivas futuras derivadas

Esperamos que los resultados de este proyecto proporcionen nuevas líneas de investigación sobre la vía M2-CCL18 y la fibrosis peritoneal que contribuyan a una completa validación de CCL18 en efluente peritoneal como marcador y mediador del proceso de fibrosis peritoneal y fallo de membrana derivado, así como de EPS.

Creemos que la confirmación fisiopatogénica de esta vía de fibrosis peritoneal puede convertir a CCL18 en una nueva diana terapéutica para terapias ya previamente empleadas en el tratamiento y prevención de EPS (descanso peritoneal, tamoxifeno, esteroides, rapamicina), así como posibilitar nuevas intervenciones terapéuticas que inhiban CCL18 o su receptor (dados los hallazgos prometedores de paricalcitol).

10 Conclusiones

- ✓ Niveles bajos y estables de CCL18 en efluente (<2ng/ml) son un indicador de protección frente al desarrollo posterior de PMF y/o EPS, y se proponen por tanto como un marcador de estabilidad funcional de la membrana.
- ✓ Un incremento en los valores de CCL18 en efluente durante el seguimiento se asoció significativamente con el desarrollo posterior de PMF o EPS. Y valores de CCL18 en efluente >3.15ng/ml en el tercer año de DP presentaron un mayor riesgo de desarrollo de PMF o EPS.
- ✓ Los incrementos de CCL18 en efluente se revelan independientes de alteraciones en el transporte peritoneal.
- ✓ La capacidad de CCL18 de predecir daño peritoneal se muestra independiente de los parámetros de transporte clásicos. Ello le confiere un valor pronóstico temprano y sugiere la producción local de CCL18 como producto clave con efectos fisiopatogénicos estructurales y funcionales.
- ✓ Los hallazgos fisiopatogénicos sugieren una fuerte relación entre M2-CCL18 y EPS.
- ✓ CCL18 y PAI-1 en efluente se correlacionaron entre sí, y aunque PAI-1 se asoció con posterior desarrollo de PMF, en nuestra serie CCL18 en efluente fue un marcador de riesgo más precoz y sensible que PAI-1.
- ✓ Se confirma en nuestro estudio el modelo profibrótico peritoneal M2-CCL18 en el caso abordado de peritonitis eosinofílica secundaria a hipersensibilidad por clorhexidina con UFF tipo I derivado.

- ✓ Paricalcitol inhibe la producción de CCL18 por los macrófagos peritoneales y la transcripción del RNA mensajero de CCL18, suponiendo una nueva estrategia terapéutica y confirmando su acción antifibrótica peritoneal a través de la vía M2-CCL18.

- ✓ CCL18 en suero no se asoció con datos de riesgo, transporte peritoneal ni desarrollo posterior de daño peritoneal

- ✓ Los hallazgos descritos se muestran coherentes y respaldan la relación e implicación fisiopatogénica de CCL18 en efluente en el desarrollo de fibrosis peritoneal.

- ✓ CCL18 en efluente peritoneal supone un marcador y mediador fisiopatogénico en el proceso de fibrosis peritoneal capaz de predecir la disfunción de la membrana peritoneal.

Índice de tablas

Tabla 1. Estadios evolutivos de la clasificación de EPS [Modificado Nakamoto et a. 2005 (69)]	23
Tabla 2. Características clínicas de los 43 pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal	66
Tabla 3. Factores de riesgo de la membrana peritoneal durante el seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal.....	67
Tabla 4. Datos de la función renal y peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal, en cada tiempo del seguimiento.	68
Tabla 5. Características clínicas de los 61 pacientes incluidos en el estudio transversal de más de tres años en DP	70
Tabla 6. Datos de función peritoneal y de factores de riesgo de la membrana peritoneal de los 61 pacientes incluidos en el estudio transversal de larga estancia en DP.....	71
Tabla 7. Valores medios de CCL18 en suero a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal.	72
Tabla 8. Comparación de los valores de CCL18 en suero respecto de las características clínicas y tratamientos de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo.....	73
Tabla 9. Valores de CCL18 en suero de los dos pacientes diabéticos tipo 1 (DM1) incluidos en el estudio longitudinal	74
Tabla 10. Comparación de los valores de CCL18 en suero respecto de los factores de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo... ..	74
Tabla 11. Valores de CCL18 en suero en el estudio transversal de corte según las características clínicas, de riesgo y funcionalidad de membrana	75
Tabla 12. Valores de CCL18 en suero en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs. los que no lo hicieron.....	76
Tabla 13. Valores medios de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal	77
Tabla 14. Comparación de los valores de CCL18 en efluente respecto de las características clínicas y tratamientos de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo.....	78

Tabla 15. Valores de CCL18 en suero y efluente de los dos pacientes diabéticos tipo 1 (DM1) incluidos en el estudio longitudinal	79
Tabla 16. Comparativa de los parámetros de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes diabéticos tipo 1 y los no DM1 en cada uno de los tiempos analizados del estudio longitudinal	80
Tabla 17. Comparación de los valores de CCL18 en efluente respecto de los factores de riesgo de la membrana peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio longitudinal retrospectivo	81
Tabla 18. Valores de CCL18 en efluente en el estudio transversal de corte según las características clínicas, de riesgo y funcionalidad de membrana	82
Tabla 19. Valores de CCL18 en suero y efluente según los grupos establecidos en cuanto a la evolución de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento (Grupo 1 y Grupo 2). Comparativa de medias mediante T-Student.	85
Tabla 20. Comparativa de las variables clínicas de los pacientes del estudio longitudinal incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 establecidos en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.....	87
Tabla 21. Comparativa de las variables de riesgo de membrana y función peritoneal de los pacientes del estudio longitudinal incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 establecidos en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento.....	88
Tabla 22. Valores de CCL18 en efluente en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs los que no lo hicieron.....	93
Tabla 23. Datos de la función renal y peritoneal de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo longitudinal, en cada tiempo del seguimiento	97
Tabla 24. Valores medios de PAI-1 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal	105
Tabla 25. Valores de PAI-1 en efluente en cada tiempo de los pacientes del estudio longitudinal retrospectivo que desarrollaron PMF / EPS vs los que no lo hicieron.....	106
Tabla 26. Valores de PAI-1 en efluente según los grupos establecidos en cuanto a la evolución de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento (Grupo 1 y Grupo 2). Comparativa de medias mediante T-Student.....	108

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de la diálisis peritoneal	9
Figura 2. Tinción de PASM de biopsia peritoneal tomada de un paciente con diagnóstico de EPS. A) Evidencia de la pérdida de monocapa mesotelial con evidencia de fibrina en la superficie peritoneal y evidencia de fibrosis submesotelial. B) Detalle de la intensa fibrosis submesotelial con desierto celular de paciente con EPS.....	14
Figura 3. Esquema del proceso inflamatorio desencadenado por un episodio de peritonitis [Modificado desde Devuyst et al. 2010 (9)]	18
Figura 4. Esquema de potenciales etiologías de eosinofilia en efluente peritoneal. Modificado para destacar etiologías químicas o farmacológicas.....	19
Figura 5. Esquema de las modificaciones funcionales y estructurales de la transformación de la membrana peritoneal	21
Figura 6. Esquema de la teoría del segundo golpe: fisiopatología probable de la EPS.....	28
Figura 7. Esquema de desarrollo del proceso profibrótico de la membrana peritoneal y agentes, vías de acción y potenciales biomarcadores implicados.....	34
Figura 8. Esquema de la potencial diferenciación de los macrófagos peritoneales según el estímulo recibido [Modificado de T.Bellón et al 2011 (95)].	36
Figura 9. Esquema de síntesis y potenciales acciones de CCL18 [Modificado de Schutyser et al 2005 (145)]	41
Figura 10. A) Tinción con ac. antiCCL18 específico sobre células del efluente peritoneal de un paciente con peritonitis bacteriana, procesadas en citospin. Detección de CCL18 en células mononucleares B) El estímulo de proliferación fibroblástica mediado por macrófagos se correlaciona con los niveles de mRNA de CCL18 [Modificados de T.Bellón et al 2011 (95)].....	43
Figura 11. Niveles de CCL18 en efluente se asociaron de forma significativa con un posterior desarrollo de UFF y EPS [Modificados de T.Bellón et al 2011 (95)]	44
Figura 12. Valores y evolución de los niveles de CCL18 en suero a lo largo del seguimiento durante el estudio longitudinal transversal llevado a cabo sobre 43 pacientes.....	72

Figura 13. Valores y evolución de los niveles de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento durante el estudio longitudinal transversal llevado a cabo sobre 43 pacientes.....	77
Figura 14. Distribución individual de los pacientes según el comportamiento de CCL18 en efluente a lo largo del seguimiento del estudio longitudinal (incluido un seguimiento posterior de los mismos más allá del final del estudio longitudinal).....	83
Figura 15. Pacientes del estudio longitudinal que desarrollan o no EPS / PMF clasificados según los grupos realizados en base al comportamiento de CCL18 en efluente peritoneal a lo largo del seguimiento (incluido un seguimiento posterior de los mismos más allá del final del estudio longitudinal)	84
Figura 16. Tiempos de recogida de la muestra de CCL18 en suero y en efluente en los pacientes incluidos en Grupo 1 y Grupo 2 en base al comportamiento de los niveles de CCL18 en efluente durante el seguimiento.	86
Figura 17. Evolución de los valores de CCL18 en efluente comparativamente a la de los datos de transporte de pequeños solutos (D/P cr) y de proteínas a través de la membrana peritoneal según los grupos 1 y 2.	89
Figura 18. Evolución de los niveles de CCL18 en el estudio longitudinal de acuerdo a los grupos establecidos según su comportamiento (Grupo 1 bajo y estable vs resto de comportamientos)	90
Figura 19. Curva de supervivencia Kaplan-Meier de desarrollo de EPS o PMF en los pacientes del Grupo 1 (niveles bajos y estables de CCL18 en efluente durante el seguimiento) vs los del Grupo 2 (resto de comportamientos de CCL18 durante el seguimiento).....	91
Figura 20. Un aumento en los niveles de CCL18 en efluente medido conforme a las variables D1U y / o MAXSUB CCL18, se asoció de forma significativa con el desarrollo posterior de PMF	92
Figura 21. Valores de CCL18 en efluente en cada uno de los tiempos de seguimiento del estudio longitudinal, comparando los de aquellos pacientes que desarrollaron PMF (10 pacientes) con los que no lo hicieron (33 pacientes). *: p<.05 (Student's t-test)	93
Figura 22. Comparativa de los valores de CCL18 en efluente de los pacientes del estudio transversal que presentaron PMF vs. los que no lo hicieron (A) y de los que presentaron EPS vs los que no lo hicieron (B)	94
Figura 23. Curva ROC realizada para determinar el punto de corte de los niveles de CCL18 en efluente de mayor especificidad y sensibilidad de predicción de riesgo posterior de PMF.....	95
Figura 24. Análisis multivariante de CCL18 en efluente en el tercer año de DP ajustado a los parámetros de transporte y funcionalidad de membrana (D/P cr, MTC cr, MTC urea, UFF)	98

Figura 25. Análisis multivariante de CCL18 en efluente en el estudio de corte transversal sobre 61 pacientes de larga estancia en DP, ajustado a los parámetros de transporte y funcionalidad de membrana (D/P cr, MTC cr, MTC urea, UFF).....	98
Figura 26. Correlación entre CCL18 en efluente y D/P de creatinina en el tercer año de DP (Análisis de correlación Spearman).....	99
Figura 27. Correlación entre CCL18 en efluente y MTC de creatinina en el tercer año de DP (Análisis de correlación Spearman).....	100
Figura 28. Correlación entre CCL18 en efluente y D/P de creatinina en el estudio transversal de larga estancia en DP (Análisis de correlación Spearman)	101
Figura 29. Correlación entre CCL18 en efluente y MTC de creatinina y urea en el estudio transversal de larga estancia en DP (Análisis de correlación Spearman)	101
Figura 30. Comparativa de la evolución de los valores de CCL18 en efluente respecto de los parámetros de transporte y funcionalidad de la membrana peritoneal	102
Figura 31. Valores medios de PAI-1 en efluente a lo largo del seguimiento realizado en el estudio longitudinal	105
Figura 32. Comparativa de los valores medios de PAI-1 en efluente de los pacientes que desarrollaron PMF o no en el estudio transversal a largo plazo.....	106
Figura 33. Correlación entre los niveles de CCL18 y PAI-1 en efluente peritoneal en el tiempo basal del estudio longitudinal.	107
Figura 34. Correlación entre CCL18 en efluente y niveles de PAI en efluente peritoneal en el punto de corte del estudio transversal llevado a cabo en pacientes de más de 3 años en DP.	108
Figura 35. Comparativa de la evolución de los valores de CCL18 en efluente y de PAI en efluente respecto a la inclusión en los grupos 1 y 2 definidos en base a la evolución de CCL18 en efluente	109
Figura 36. Índices de estimulación leucocitaria en el test de transformación linfocitaria en respuesta a clorhexidina.	111
Figura 37. Niveles de CCL18 en cuatro pacientes con peritonitis bacterianas (IP1, IP2, IP3, IP4) frente a los valores del paciente del caso descrito de peritonitis eosinofílica (PE).....	112
Figura 38. Evolución de los niveles de CCL18 en efluente peritoneal respecto de la evolución de las diferentes líneas celulares analizadas en dicho efluente peritoneal.....	113
Figura 39. Tinción de hematoxilina/eosina (H/E) e inmunohistoquímica con anticuerpo específico marcador de CCL18 (IHQ) realizada sobre muestra de efluente peritoneal del caso descrito tratados por citospin.....	113

Figura 40. Inhibición de la producción de CCL18 por macrófagos peritoneales aislados de efluentes en el seno de peritonitis bacterianas tras tratamiento con paricalcitol [10^{-5} M] a las 24 y 48 horas	115
Figura 41. Reducción de los valores de CCL18 en cultivo de macrófagos peritoneales, aislados de efluentes con peritonitis en resolución, en tratamiento con Zemplar [®] en dosis equivalentes de paricalcitol de 10^{-8} M o 10^{-9} M.	116
Figura 42. Producción de CCL18 de macrófagos peritoneales procedentes de pacientes con peritonitis en resolución con Paricalcitol distintas dosis (y vehículo).....	117
Figura 43. Expresión de RNA mensajero de CCL18 (PCR cuantitativa) en macrófagos peritoneales tratados con paricalcitol	117
Figura 44. Pretratamiento con paricalcitol inhibe la producción de CCL18 y la transcripción de mRNA en monocitos de sangre periférica estimulados por IL-4.....	118

Abreviaturas

- **ACVA:** accidente cerebrovascular agudo
- **AGEs:** productos de glicosilación avanzada de la glucosa
- **AKT:** quinasa activadora de serina/treonina
- **α -SMA:** alfa actina de músculo liso
- **AMAC-1:** CC quimioquina asociada a macrófago alternativamente activado
- **ARA II:** antagonistas del receptor de la angiotensina II
- **BMPs:** proteínas morfogénicas óseas
- **BMPs:** proteínas morfogénicas óseas
- **Ca-125:** antígeno de cáncer 125
- **CCL18:** CC quimioquina ligando 18
- **Cr:** creatinina
- **CTGF:** factor de crecimiento del tejido conectivo
- **D/P:** cociente dializado/plasma
- **DC:** células dendríticas
- **DC-SIGN/CD209:** molécula de adhesión intercelular específica dendrítica
- **DM1:** diabetes mellitus tipo 1
- **DM2:** diabetes mellitus tipo 2
- **DP:** diálisis peritoneal
- **DPA:** diálisis peritoneal automática
- **DPCA:** diálisis peritoneal continua ambulatoria
- **EPS:** esclerosis peritoneal encapsulante (en inglés: encapsulating peritoneal sclerosis)
- **ERCA:** enfermedad renal crónica avanzada
- **ERK:** quinasa reguladora extracelular
- **FPI:** fibrosis Pulmonar Idiopática
- **FRR:** función renal residual

- **FSP-1:** proteína específica del fibroblasto
- **GI:** gastrointestinales
- **HA:** ácido hialurónico
- **HD:** hemodiálisis
- **IAM:** infarto agudo de miocardio
- **IECA:** inhibidores de la enzima convertasa de la angiotensina
- **IL:** interleuquina
- **IL-6:** interleuquina 6
- **INF- γ :** interferón gamma
- **JNK:** quinasa Jun N-terminal
- **LPS:** lipopolisacáridos bacterianos
- **M1:** macrófagos clásicamente activados
- **M2:** macrófagos alternativamente activados
- **MCH II:** moléculas de histocompatibilidad clase II
- **MCP-1:** proteína quimiotáctica de monocitos
- **MEC:** matriz extracelular
- **miRNA:** microRNA
- **MMP-2:** metaloproteasa 2
- **MMT:** transición mesotelio-mesenquimal
- **MR/CD206:** receptor de manosa CD206
- **MTC:** coeficiente de transferencia de masas
- **NFAT5:** factor nuclear de transcripción de células T activadas
- **NFkB:** factor nuclear kappa de la célula B
- **NOS:** óxido nítrico sintetasa
- **P:** significación estadística
- **PAI-1:** inhibidor del plasminógeno activado 1
- **PARC:** citoquina pulmonar activadora reguladora
- **PCR:** proteína C reactiva
- **PDGF:** factor de crecimiento derivado de las plaquetas
- **PDGs:** productos de degradación de la glucosa
- **PE:** peritonitis eosinofílica
- **PI3K:** fosfatidil inositol quinasa 3
- **PKC:** protein quinasa-C
- **PMF:** fallo de membrana peritoneal

- **PMN:** neutrófilos polimorfonucleares
- **PPAR- γ :** receptor gamma activado de proliferación de la perixosoma
- **R:** Rho Spearman
- **RNA:** acido ribonucleico
- **sIL-6R:** receptor soluble de IL-6
- **SPS:** fibrosis o esclerosis peritoneal simple
- **SRRA:** sistema renina-angiotensina-aldosterona
- **TC:** tomografía computerizada
- **TEM:** transición epitelio-mesenquimal
- **TGF- β :** factor de crecimiento transformante beta
- **TNF- α :** factor de necrosis tumoral alfa
- **tPA:** activador tisular del plasminógeno
- **TRS:** tratamiento renal sustitutivo
- **UF:** ultrafiltración
- **UFF:** fallo de ultrafiltración (en inglés: ultrafiltration failure)
- **US:** ultrasonografía
- **VDR:** receptor de la vitamina D
- **VEGF:** factor de crecimiento endotelial vascular

Bibliografía

1. Mehrotra R, Chiu Y-W, Kalantar-Zadeh K, Bargman J, Vonesh E. Similar outcomes with hemodialysis and peritoneal dialysis in patients with end-stage renal disease. *Arch Intern Med*. 2011 Jan 24;171 (2):110–8.
2. Liem YS, Wong JB, Hunink MGM, de Charro FT, Winkelmayer WC. Comparison of hemodialysis and peritoneal dialysis survival in The Netherlands. *Kidney Int*. 2007 Jan; 71(2):153–8.
3. Otero González A, Iglesias Forneiro A, Camba Caride MJ, Pérez Melón C, Borrajo Prol MP, Novoa Fernández E, et al. Supervivencia en hemodiálisis vs. diálisis peritoneal y por transferencia de técnica. Experiencia en Ourense 1976-2012. *Nefrología*. 2015;35(6):562–6.
4. Blake PG. Integrated end-stage renal disease care: the role of peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transpl*. 2001; 16 Suppl 5(Suppl 5):61–6.
5. Han SH, Lee SC, Ahn SV, Lee JE, Choi HY, Kim BS, et al. Improving outcome of CAPD: Twenty-five years' experience in a single Korean center. *Perit Dial Int*. 2007; 27(4):432–40.
6. Cueto-Manzano AM, Quintana-Piña E, Correa-Rotter R. Long-term CAPD survival and analysis of mortality risk factors: 12-Year experience of a single Mexican center. *Perit Dial Int*. 2001; 21(2):148–53.
7. Mujais S, Story K. Peritoneal dialysis in the US: evaluation of outcomes in contemporary cohorts. *Kidney Int Suppl*. 2006 Nov (103):S21–6.
8. Sousa-Amorim E De, Bajo-Rubio MA, Peso-Gilsanz G Del, Castro MJ, Celadilla O, Selgas-Gutiérrez R. Experiencia de 30 años en una unidad de diálisis peritoneal: Supervivencia a largo plazo. *Nefrología*. 2013; 33(4):546–51.

9. Devuyst O, Margetts PJ, Topley N. The Pathophysiology of the Peritoneal Membrane. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Jul 1; 21(7):1077–85.
10. Jesús Montenegro, Ricardo Correa-Rotter MCR. *Tratado de Diálisis Peritoneal*. 2009.
11. Schilte MN, Celie JWAM, Wee PM ter, Beelen RHJ, van den Born J. Factors contributing to peritoneal tissue remodeling in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2009; 29(6):605–17.
12. Yáñez-Mó M, Lara-Pezzi E, Selgas R, Ramírez-Huesca M, Domínguez-Jiménez C, Jiménez-Heffernan JA, et al. Peritoneal Dialysis and Epithelial-to-Mesenchymal Transition of Mesothelial Cells. *N Engl J Med*. 2003 Jan 30; 348(5):403–13.
13. Korte MR, Sampimon DE, Lingsma HF, Fieren MW, Looman CWN, Zietse R, et al. Risk factors associated with encapsulating peritoneal sclerosis in DUTCH EPS STUDY. *Perit Dial Int*. 2011 May 1; 31(3):269–78.
14. Aroeira LS, Aguilera A, Selgas R, Ramírez-Huesca M, Pérez-Lozano ML, Cirugeda A, et al. Mesenchymal Conversion of Mesothelial Cells as a Mechanism Responsible for High Solute Transport Rate in Peritoneal Dialysis: Role of Vascular Endothelial Growth Factor. *Am J Kidney Dis*. 2005;46(5):938–48.
15. Loureiro J, González-Mateo G, Jimenez-Heffernan J, Selgas R, López-Cabrera M, Aguilera Peralta A. Are the Mesothelial-to-Mesenchymal Transition, Sclerotic Peritonitis Syndromes, and Encapsulating Peritoneal Sclerosis Part of the Same Process? *Int J Nephrol*. 2013; 2013:263285.
16. Del Peso G, Jimenez-Heffernan JA, Selgas R, Remon C, Ossorio M, Fernandez-Perpen A, et al. Biocompatible Dialysis Solutions Preserve Peritoneal Mesothelial Cell and Vessel Wall Integrity. A Case-Control Study on Human Biopsies. *Perit Dial Int*. 2016 Mar 1; 36(2):129–34.
17. Del Peso G, Jiménez-Heffernan JA, Bajo MA et al (Selgas R). Epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells is an early event during peritoneal dialysis and is associated with high peritoneal transport. *Kidney Int Suppl*. 2008;Apr;(108):S26–33.
18. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, et al. Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Feb; 13(2):470–9.
19. Krediet RT. The peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis. *Kidney Int*.

- 1999;55(1):341–56.
20. Selgas R, Bajo MA, Paiva A et al (Del PG. Stability of the peritoneal membrane in long-term peritoneal dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther.* 1998;Jul;5(3):168–78.
 21. Selgas R, del Peso G, Bajo MA, Molina S, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in peritoneal dialysis effluent. *J Nephrol.* 2000; 14(4):270–4.
 22. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Goffin E, Devuyst O, et al. Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2000 Apr; 11(4):717–28.
 23. Mateijsen MA, van der Wal AC, Hendriks PM, Zweers MM, Mulder J, Struijk DG, et al. Vascular and interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 1999; 19(6):517–25.
 24. Pérez-Lozano ML, Sandoval P, Rynne-Vidal Á, Aguilera A, Jiménez-Heffernan JA, Albar-Vizcaíno P, et al. Functional Relevance of the Switch of VEGF Receptors/Co-Receptors during Peritoneal Dialysis-Induced Mesothelial to Mesenchymal Transition. Eberl M, editor. *PLoS One. Public Library of Science;* 2013 Apr 9; 8(4):e60776.
 25. Jiménez-Heffernan JA, Perna C, Auxiliadora Bajo M, Luz Picazo M, del Peso G, Aroeira L, et al. Tissue distribution of hyalinizing vasculopathy lesions in peritoneal dialysis patients: An autopsy study. *Pathol - Res Pract.* 2008;204(8):563–7.
 26. Jiménez-Heffernan JA, Aguilera A, Aroeira LS, Lara-Pezzi E, Bajo MA, del Peso G, et al. Immunohistochemical characterization of fibroblast subpopulations in normal peritoneal tissue and in peritoneal dialysis-induced fibrosis. *Virchows Arch.* 2004 Mar; 444(3):247–56.
 27. Di Paolo N SG. Atlas of peritoneal histology. *Perit Dial Int.* 2000;20(Suppl 3):S5–96.
 28. Garosi G DPN. Peritoneal Sclerosis-An Overview. *Adv Perit Dial.* 1999;15:185–92.
 29. Moinuddin Z, Summers A, van Dellen D, Augustine T, Herrick SE. Encapsulating peritoneal sclerosis-a rare but devastating peritoneal disease. Vol. 6, *Frontiers in Physiology.* 2015. p. 470.

30. Honda K, Oda H. Pathology of encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 2005 Apr; 25 Suppl 4(Suppl 4):S19–29.
31. Braun N, Fritz P, Ulmer C, Latus J, Kimmel M, Biegger D, Ott G, Reimold F, Thon KP, Dippon J, Segerer S AM. Histological criteria for encapsulating peritoneal sclerosis - a standardized approach. *PLoS One.* 2012;7(11):e48647.
32. Rumpsfeld M, McDonald SP, Purdie DM, Collins J, Johnson DW. Predictors of baseline peritoneal transport status in Australian and New Zealand peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2004;43(3):492–501.
33. del Peso G, Fernández-Reyes MJ, Hevia C, Bajo MA, Castro MJ, Cirugeda A, et al. Factors influencing peritoneal transport parameters during the first year on peritoneal dialysis: peritonitis is the main factor. *Nephrol Dial Transplant.* 2005 Jun; 20(6):1201–6.
34. Davies SJ. Assessment of Comorbidity in Peritoneal Dialysis Patients. In: *Peritoneal Dialysis Today.* Basel: KARGER; 2003. p. 98–103.
35. Gillerot G, Goffin E, Michel C, Evenepoel P, Biesen WIMVAN, Tintillier M, et al. Genetic and clinical factors influence the baseline permeability of the peritoneal membrane. *Kidney Int.* 2005;67(6):2477–87.
36. Fernandez-Reyes MJ, Bajo MA, Del Peso G, Ossorio M, Diaz R, Carretero B, et al. The Influence of Initial Peritoneal Transport Characteristics, Inflammation, and High Glucose Exposure on Prognosis for Peritoneal Membrane Function. *Perit Dial Int.* 2012 Nov 1; 32(6):636–44.
37. Sherif AM, Nakayama M, Maruyama Y, Yoshida H, Yamamoto H, Yokoyama K, et al. Quantitative assessment of the peritoneal vessel density and vasculopathy in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Jun; 21(6):1675–81.
38. Ates K, Koç R, Nergizoglu G, Ertürk S, Keven K, Sen A, et al. The longitudinal effect of a single peritonitis episode on peritoneal membrane transport in CAPD patients. *Perit Dial Int.* 2000; 20(2):220–6.
39. Selgas R, Paiva A, Bajo MA, Cirugeda A, Aguilera A DC et al. Consequences of peritonitis episodes appearing late during peritoneal dialysis (PD) in patients able to continue PD. *Adv Perit Dial.* 1998;14:168–72.
40. Davies SJ, Phillips L, Naish PF, Russell GI. Peritoneal glucose exposure and changes in

- membrane solute transport with time on peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2001 May; 12(5):1046–51.
41. Qin Zhou, M-Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso, Xueqing Yu RS. Preventing peritoneal membrane fibrosis in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int*. 2016;Jun 7.:pii: S0085–2538(16)30138–7.
 42. Johnson DW, Cho Y, Livingston BER, Hawley CM, McDonald SP, Brown FG, et al. Encapsulating peritoneal sclerosis: incidence, predictors, and outcomes. *Kidney Int*. 2010;77(10):904–12.
 43. Korte MR, Sampimon DE, Betjes MGH, Krediet RT. Encapsulating peritoneal sclerosis: the state of affairs. *Nat Rev Nephrol*. Nature Publishing Group; 2011 Aug 2; 7(9):528.
 44. Van Biesen W, Vanholder R, Lameire N et al. Recent developments in osmotic agents for peritoneal dialysis. *Adv Ren Replace Ther*. 1998;Jul;5(3):218–31.
 45. Ishikawa N, Miyata T, Ueda Y, Inagi R, Izuhara Y, Yuzawa H, et al. Affinity adsorption of glucose degradation products improves the biocompatibility of conventional peritoneal dialysis fluid. *Kidney Int*. 2003;63(1):331–9.
 46. Zeier M, Schwenger V, Deppisch R et al. Glucose degradation products in PD fluids: do they disappear from the peritoneal cavity and enter the systemic circulation?. *Kidney Int*. 2003;Jan;63(1):298–305.
 47. Kim Y-L, Cho J-H, Choi J-Y, Kim C-D, Park S-H. Systemic and Local Impact of Glucose and Glucose Degradation Products in Peritoneal Dialysis Solution. *J Ren Nutr*. 2013;23(3):218–22.
 48. Selgas R, Bajo A, Jiménez-Heffernan JA, Sánchez-Tomero JA, Del Peso G, Aguilera A, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition of the mesothelial cell--its role in the response of the peritoneum to dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Jul; 21 Suppl 2(suppl 2):ii2–7.
 49. Loureiro J, Aguilera A, Selgas R, Sandoval P, Albar-Vizcaino P, Perez-Lozano ML, et al. Blocking TGF- 1 Protects the Peritoneal Membrane from Dialysate-Induced Damage. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Sep 1;22(9):1682–95.
 50. Siddique I, Curran SP, Ghayur A, Liu L, Shi W, Hoff CM, et al. Gremlin Promotes Peritoneal Membrane Injury in an Experimental Mouse Model and Is Associated with

- Increased Solute Transport in Peritoneal Dialysis Patients. *Am J Pathol.* 2014;184(11):2976–84.
51. Jörres A, Bender TO, Finn A et al. Biocompatibility and buffers: effect of bicarbonate-buffered peritoneal dialysis fluids on peritoneal cell function. *Kidney Int.* 1998;Dec;54(6):2184–93.
 52. Fernandez-Perpen A, Perez-Lozano ML, Bajo M-AMA, Albar-Vizcaino P, Correa PS, del Peso G, et al. Influence of bicarbonate/low-GDP peritoneal dialysis fluid (Bicavera) on in vitro and ex vivo epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *Perit Dial Int.* 2012 May 1; 32(3):292–304.
 53. Bajo MA, Pérez-Lozano ML, Albar-Vizcaino P, del Peso G, Castro M-J, Gonzalez-Mateo G, et al. Low-GDP peritoneal dialysis fluid ('balance') has less impact in vitro and ex vivo on epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of mesothelial cells than a standard fluid. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Jan;26(1):282–91.
 54. Cho Y, Johnson DW, Vesey DA, Hawley CM, Pascoe EM, Clarke M, et al. Dialysate interleukin-6 predicts increasing peritoneal solute transport rate in incident peritoneal dialysis patients. *BMC Nephrol. BioMed Central;* 2014; 15(1):8.
 55. Selgas R, Fernandez-Reyes M-J, Bosque E, Bajo M-A, Borrego F, Jimenez C, et al. 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.* W.B. Saunders; 1994 Jan; 23(1):64–73.
 56. de Freitas DG, Gokal R. Sterile peritonitis in the peritoneal dialysis patient. Vol. 25, *Peritoneal Dialysis International.* 2005. p. 146–51.
 57. Fontán MP, Rodríguez-Carmona A, Galed I, Iglesias P, Villaverde P, García-Ureta E. Incidence and significance of peritoneal eosinophilia during peritoneal dialysis-related peritonitis. *Perit Dial Int.* 2003; 23(5):460–4.
 58. Nakamura Y, Okada H, Yasui A, Koh T, Yamane T. Sclerosing encapsulating peritonitis associated with recurrent eosinophilic peritonitis. *Nephrol Dial Transplant.* 1999 Mar; 14(3):768–70.
 59. Rosner MH, Chhatkuli B. Vancomycin-related eosinophilic peritonitis. *Perit Dial Int.*; 30(6):650–2.

60. Garvey LH, Krøigaard M, Poulsen LK, Skov PS, Mosbech H, Venemalm L, et al. IgE-mediated allergy to chlorhexidine. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Aug; 120(2):409–15.
61. Ishii Y, Sawada T, Shimizu A, Tojimbara T, Nakajima I, Fuchinoue S, et al. An experimental sclerosing encapsulating peritonitis model in mice. *Nephrol Dial Transplant*. 2001 Jun; 16(6):1262–6.
62. Tse K-C, Yip P-S, Lam M-F, Li F-K, Choy B-Y, Chan T-M, et al. Recurrent hemoperitoneum complicating continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2002; 22(4):488–91.
63. María Pau valenzuela Mújica, E. Ponz, JC. Martínez Ocaña, C. Blasco. Significado pronóstico del hemoperitoneo en diálisis peritoneal. *Nefrología*. 2008;28:73–6.
64. Blasco Cabañas C, Ponz Clemente E, Marquina Parra D, Mañe Buixó N, Carlos Martínez Ocaña J, Pau Valenzuela M, et al. Hemoperitoneo como complicación de la diálisis peritoneal. Experiencia de un centro y revisión de la literatura. *Nefrología*. 2008.
65. Gandhi VC, Humayun HM, Ing TS, Daugirdas JT, Jablockow VR, Iwatsuki S, et al. Sclerotic Thickening of the Peritoneal Membrane in Maintenance Peritoneal Dialysis Patients. *Arch Intern Med*. American Medical Association; 1980 Sep 1; 140(9):1201.
66. De Sousa-Amorim E, Del Peso G, Bajo MA, Alvarez L, Ossorio M, Gil F, et al. Can EPS Development Be Avoided with Early Interventions? The Potential Role of Tamoxifen--A Single-Center Study. *Perit Dial Int*. 2014 Sep 1; 34(6):582–93.
67. Habid SM, Betjes MG FM et al. Management of encapsulating peritoneal sclerosis: a guideline on optimal and uniform treatment. *Neth J Med*. 2011;69:500–7.
68. Brown EA, Van Biesen W, Finkelstein FO, Hurst H, Johnson DW, Kawanishi H, et al. Length of time on peritoneal dialysis and encapsulating peritoneal sclerosis: position paper for ISPD. *Perit Dial Int*. 2009; 29(6):595–600.
69. Nakamoto H. Encapsulating peritoneal sclerosis--a clinician's approach to diagnosis and medical treatment. *Perit Dial Int*. 2005 Apr; 25 Suppl 4(Suppl 4):S30–8.
70. Goodlad C, Tarzi R, Gedroyc W, Lim A, Moser S BE. Screening for encapsulating peritoneal sclerosis in patients on peritoneal dialysis: role of CT scanning. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;Apr(26(4)):1374–9.

71. Wright B, Summers A, Fenner J, Gillott R, Hutchinson CE, Spencer PA, Wilkie M, Hurst H, Herrick S, Brenchley P, Augustine T BK. Initial observations using a novel “cine” magnetic resonance imaging technique to detect changes in abdominal motion caused by encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 2011;May-Jun(31(3)):287–90.
72. Kawanishi H, Moriishi M. Epidemiology of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan. *Perit Dial Int.* 2005 Apr ;25 Suppl 4:S14–8.
73. Augustine T, Brown PW, Davies SD, Summers AM WM. Encapsulating peritoneal sclerosis: clinical significance and implications. *Nephron Clin Pr.* 2009;111(2):c149–54; discussion c154.
74. Kawanishi H, Kawaguchi Y, Fukui H, Hara S, Imada A, Kubo H, et al. Encapsulating peritoneal sclerosis in Japan: A prospective, controlled, multicenter study. *Am J Kidney Dis.* 2004;44(4):729–37.
75. Rigby RJ, Hawley CM. Sclerosing peritonitis: the experience in Australia. *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Jan 1; 13(1):154–9.
76. Yiannoullou P, Kanesalingam K, van Dellen D, Augustine T. Encapsulating peritoneal sclerosis: presentation without preceding symptoms. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2015 Mar; 26(2):329–34.
77. Kawanishi H, Shintaku S, Banshodani M, Hashimoto S. Past and Present Perspectives on Encapsulating Peritoneal Sclerosis. *Contrib Nephrol.* Karger Publishers; 2015;185:87–97.
78. Imai H, Nakamoto H, Fucshima R, Yamanouchi Y, Ishida Y, Suzuki H. Glucocorticoid protects against the development of encapsulating peritoneal sclerosis on peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial.* 2002; 18:124–30.
79. Korte MR, Fieren MW, Sampimon DE, Lingsma HF, Weimar W, Betjes MGH, et al. Tamoxifen is associated with lower mortality of encapsulating peritoneal sclerosis: results of the Dutch Multicentre EPS Study. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Feb; 26(2):691–7.
80. Evrenkaya TR, Atasoyu EM, Unver S, Basekim C, Baloglu H TM. Corticosteroid and tamoxifen therapy in sclerosing encapsulating peritonitis in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transpl.* 2004;19:2423–4.
81. Kawanishi H, Watanabe H, Moriishi M, Tsuchiya S. Successful surgical management of

- encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 2005 Apr; 25 Suppl 4(Suppl 4):S39–47.
82. Kawanishi H, Shintaku S, Moriishi M, Dohi K TS. Seventeen years' experience of surgical options for encapsulating peritoneal sclerosis. *Adv Perit Dial.* 2011;27:53–8.
 83. Kawanishi H, Ide K, Yamashita M, Shimomura M, Moriishi M, Tsuchiya S et al. Surgical techniques for prevention of recurrence after total enterolysis in encapsulating peritoneal sclerosis. *Adv Perit Dial.* 2008;24:51–5.
 84. Sampimon DE, Korte MR, Barreto DL, Vlijm A, de Waart R, Struijk DG, et al. Early diagnostic markers for encapsulating peritoneal sclerosis: a case-control study. *Perit Dial Int.* 2010 Mar 1; 30(2):163–9.
 85. Yamamoto T, Nagasue K, Okuno S YT. The role of peritoneal lavage and the prognostic significance of mesothelial cell area in preventing encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 2010;May-Jun; 3:343–52.
 86. Khanna A, Plummer M, Bromberek C, Bresnahan B HS. Expression of TGF-beta and fibrogenic genes in transplant recipients with tacrolimus and cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 2002;Dec; 62(6):2257–63.
 87. Van Westrhenen R, Aten J, Hajji N, de Boer OJ, Kunne C, de Waart DR KR. Cyclosporin A induces peritoneal fibrosis and angiogenesis during chronic peritoneal exposure to a glucose-based, lactate-buffered dialysis solution in the rat. *Blood Purif.* 2007;25(5-6):466–72.
 88. Lopes Barreto D, Krediet RT. Current Status and Practical Use of Effluent Biomarkers in Peritoneal Dialysis Patients. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(4):823–33.
 89. Garosi G, Di Paolo N, Sacchi G GE. Sclerosing peritonitis: a nosological entity. *Perit Dial Int.* 2005;Feb; 25 Su:S110–2.
 90. Habib SM, Abrahams AC, Korte MR, Zietse R, de Vogel LL, Boer WH, et al. CD4-Positive T Cells and M2 Macrophages Dominate the Peritoneal Infiltrate of Patients with Encapsulating Peritoneal Sclerosis. *PLoS One.* 2015; 10(4):e0120174.
 91. M-Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso IT. Peritoneal membrane preservation. In Press.
 92. Lopes Barreto D, Struijk DG, Krediet RT. Peritoneal Effluent MMP-2 and PAI-1 in Encapsulating Peritoneal Sclerosis. *Am J Kidney Dis.* 2015;65(5):748–53.

93. Davies SJ. Peritoneal Solute Transport and Inflammation. *Am J Kidney Dis.* 2014;64(6):978–86.
94. Fielding CA, Jones GW MR. Interleukin-6 signaling drives fibrosis in unresolved inflammation. *Immunity.* 2014;40:40–50.
95. Bellón T, Martínez V, Lucendo B, del Peso G, Castro MJ, Aroeira LS, et al. Alternative activation of macrophages in human peritoneum: implications for peritoneal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Sep; 26(9):2995–3005.
96. Ahmad S, North B V., Qureshi A, Malik A, Bhangal G, Tarzi RM, et al. CCL18 in peritoneal dialysis patients and encapsulating peritoneal sclerosis. *Eur J Clin Invest.* Blackwell Publishing Ltd; 2010 Dec; 40(12):1067–73.
97. Sanz AB, Aroeira LS, Bellon T, del Peso G, Jimenez-Heffernan J, Santamaria B, et al. TWEAK Promotes Peritoneal Inflammation. Ryffel B, editor. *PLoS One.* Public Library of Science; 2014 Mar 5; 9(3):e90399.
98. Isailovic N, Daigo K MA et al. Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation. *J Autoimmun.* 2015;60:1–11.
99. Rodrigues-Díez R, Aroeira LS, Orejudo M, Bajo M-A, Heffernan JJ, Rodrigues-Díez RR, et al. IL-17A is a novel player in dialysis-induced peritoneal damage. *Kidney Int.* 2014;86(2):303–15.
100. Liappas G, Gonzalez-Mateo GT, Sanchez-Diaz R, Lazcano JJ, Lasarte S, Matesanz-Marin A, et al. Immune-Regulatory Molecule CD69 Controls Peritoneal Fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2016 May 5; ASN.2015080909.
101. Tawada M, Ito Y, Hamada C, Honda K, Mizuno M, Suzuki Y, et al. Vascular Endothelial Cell Injury Is an Important Factor in the Development of Encapsulating Peritoneal Sclerosis in Long-Term Peritoneal Dialysis Patients. *PLoS One.* 2016; 11(4):e0154644.
102. Lee SH, Kang HY KK et al. The monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCR2 system is involved in peritoneal dialysis-related epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells. *Lab Invest.* 2012;92:1698–711.
103. Barreto DL, Hoekstra T, Halbesma N, Leegte M, Boeschoten EW, Dekker FW KRNSG. The association of effluent CA 125 with peritoneal dialysis technique failure. *Perit Dial Int.* 2015;25:1964–73.

104. Ditsawanon P, Supasyndh O AP. Dialysate cancer antigen 125 in long-term peritoneal dialysis patients. *Clin Exp Nephrol*. 2014;18:10–5.
105. Hung KY, Huang JW, Chen CT, Lee PH TT. Pentoxifylline modulates intracellular signalling of TGF-beta in cultured human peritoneal mesothelial cells: implications for prevention of encapsulating peritoneal sclerosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;Apr; 18(4):670–6.
106. Margetts PJ, Bonniaud P, Liu L, Hoff CM, Holmes CJ, West-Mays JA KM. Transient overexpression of TGF- β 1 induces epithelial mesenchymal transition in the rodent peritoneum. *J Am Soc Nephrol*. 2005;Feb; 16(2):425–36.
107. Meng X, Huang XR CA et al. Smad2 protects against TGF-beta/Smad3-mediated renal fibrosis. *J. Am Soc Nephrol*. 2010;21:1477–87.
108. Duan WJ, Yu X HX et al. Opposing roles for Smad2 and Smad3 in peritoneal fibrosis in vivo and in vitro. *Am J. Pathol*. 2014;184:2275–84.
109. Zhu HJ, Iaria J SA. Smad7 differentially regulates transforming growth factor beta-mediated signaling pathways. *J Biol Chem*. 1999;274:32258–64.
110. Nie J, Hao W DX et al. Effects of Smad7 overexpression on peritoneal inflammation in a rat peritoneal dialysis model. *Perit Dial Int*. 2007;27:580–8.
111. Sun Y, Zhu F YX et al. Treatment of established peritoneal fibrosis by gene transfer of Smad7 in a rat model of peritoneal dialysis. *Am J Nephrol*. 2009;30:84–94.
112. Peng W, Dou X HW et al. Smad7 gene transfer attenuates angiogenesis in peritoneal dialysis rats. *Nephrology*. 2013;18:138–47.
113. Wang X, Li X YL et al. Smad7 inhibits TGF-beta1-induced MCP-1 upregulation through a MAPK/p38 pathway in rat peritoneal mesothelial cells. *Int Urol Nephrol*. 2013;45:899–907.
114. Liu Q, Zhang Y MH et al. A crosstalk between the Smad and JNK signaling in the TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition in rat peritoneal mesothelial cells. *PLoS One*. 2012;7(e32009).
115. Ito H, Hamada C, Ro Y, Ito Y, Hirahara I TY. Morphologic changes of peritoneum and expression of VEGF in encapsulated peritoneal sclerosis rat models. *Kidney Int*.

2004;May; 65(5):1927–36.

116. Nessim SJ, Perl J BJ. The renin-angiotensin-aldosterone system in peritoneal dialysis: is what is good for the kidney also good for the peritoneum? *Kidney Int.* 2010;78:23–8.
117. Holmdahl L, Kotseos K, Bergström M, Falk P, Ivarsson ML CN. Overproduction of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) is associated with adhesion formation and peritoneal fibrinolytic impairment. *Surgery.* 2001;May; 129(5):626–32.
118. Selgas R, Cuesta M V, Riñon C, Romero JR, de Alvaro F, Bajo MA, et al. Tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) levels in plasma and peritoneal effluent in patients on CAPD. *Adv Perit Dial.* 1992; 8:160–5.
119. Reimold FR, Braun N, Zsengellér ZK, Stillman IE, Karumanchi SA, Toka HR, et al. Transcriptional Patterns in Peritoneal Tissue of Encapsulating Peritoneal Sclerosis, a Complication of Chronic Peritoneal Dialysis. Van Wijnen A, editor. *PLoS One. Public Library of Science;* 2013 Feb 13; 8(2):e56389.
120. Morelle J, Sow A HN et al. Interstitial Fibrosis Restricts Osmotic Water Transport in Encapsulating Peritoneal Sclerosis. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:2521–33.
121. DP B. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116:281–97.
122. Zhou Q, Yang M LH et al. miR-30a negatively regulates TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition and peritoneal fibrosis by targeting Snai1. *Am J Pathol.* 2013;183:808–19.
123. Yu JW, Duan WJ HX et al. MicroRNA-29b inhibits peritoneal fibrosis in a mouse model of peritoneal dialysis. *Lab Invest.* 2014;94:978–90.
124. Liu Y, Guo R HG et al. The expression profiling and ontology analysis of noncoding RNAs in peritoneal fibrosis induced by peritoneal dialysis fluid. *Gene.* 2015;564:210–9.
125. Selgas R, Fernández de Castro M, Jiménez C, Cárcamo C, Contreras T, Bajo MA, et al. Immunomodulation of peritoneal macrophages by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in humans. *Kidney Int.* 1996 Dec; 50(6):2070–8.
126. Carcamo C, Fernandez-Castro M, Selgas R, Jimenez C, Molina S, Vara F. Long-term continuous ambulatory peritoneal dialysis reduces the expression of CD11B, CD14,

- CD16, and CD64 on peritoneal macrophages. *Perit Dial Int.* 1996; 16(6):581–8.
127. Mantovani A, Sica A, Locati M. New vistas on macrophage differentiation and activation. *Eur J Immunol.* WILEY-VCH Verlag; 2007 Jan; 37(1):14–6.
 128. Mosser DM. The many faces of macrophage activation. *J Leukoc Biol.* 2003 Feb 1; 73(2):209–12.
 129. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003 Jan; 3(1):23–35.
 130. Stout RD, Jiang C, Matta B, Tietzel I, Watkins SK, Suttles J. Macrophages Sequentially Change Their Functional Phenotype in Response to Changes in Microenvironmental Influences. *J Immunol.* 2005 Jul 1; 175(1):342–9.
 131. Puig-Kröger A, Pello OM, Muñoz-Pello O, Selgas R, Criado G, Bajo M-A, et al. Peritoneal dialysis solutions inhibit the differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells: effect of lactate and glucose-degradation products. *J Leukoc Biol.* 2003 Apr; 73(4):482–92.
 132. Atamas SP, White B. Cytokine regulation of pulmonary fibrosis in scleroderma. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Dec; 14(6):537–50.
 133. Prasse A, Probst C, Bargagli E, Zissel G, Toews GB, Flaherty KR, et al. Serum CC-Chemokine Ligand 18 Concentration Predicts Outcome in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Apr 15; 179(8):717–23.
 134. Prokop S, Heppner FL, Goebel HH, Stenzel W. M2 polarized macrophages and giant cells contribute to myofibrosis in neuromuscular sarcoidosis. *Am J Pathol.* 2011 Mar; 178(3):1279–86.
 135. Noël W, Raes G, Hassanzadeh Ghassabeh G, De Baetselier P, Beschin A. Alternatively activated macrophages during parasite infections. *Trends Parasitol.* 2004 Mar; 20(3):126–33.
 136. Takahashi H, Tsuda Y, Takeuchi D, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F. Influence of systemic inflammatory response syndrome on host resistance against bacterial infections. *Crit Care Med.* 2004 Sep; 32(9):1879–85.
 137. Wynn T, Barron L. Macrophages: Master Regulators of Inflammation and Fibrosis.

Semin Liver Dis. © Thieme Medical Publishers; 2010 Aug 21; 30(03):245–57.

138. Kodelja V, Müller C, Tenorio S, Schebesch C, Orfanos CE, Goerdts S. Differences in angiogenic potential of classically vs alternatively activated macrophages. *Immunobiology*. 1997 Nov; 197(5):478–93.
139. Yokoyama T, Nitta K, Futatsuyama K et al. Identification of T helper cell subsets in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Nephron*. 2001;89:215–8.
140. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol*. 2004;Aug;4(8):583–94.
141. Mlambo NC, Hylander B BA. Increased levels of transforming growth factor beta 1 and basic fibroblast growth factor in patients on CAPD: a study during non-infected steady state and peritonitis. *Inflammation*. 1999;23:131–9.
142. Wahl SM, Allen JB, Weeks BS et al. Transforming growth factor beta enhances integrin expression and type IV collagenase secretion in human monocytes. *Proc. Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:4577–81.
143. Yu Q Si. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev*. 2000;14:163–76.
144. Song E, Ouyang N, Horbelt M et al. Influence of alternatively and classically activated macrophages on fibrogenic activities of human fibroblasts. *Cell Immunol*. 2000;204:19–28.
145. Schutyser E, Richmond A, Van Damme J. Involvement of CC chemokine ligand 18 (CCL18) in normal and pathological processes. *J Leukoc Biol*. 2005 Apr 13; 78(1):14–26.
146. Leung, S. Y., Yuen, S. T., Chu, K-M., Mathy, J. A., Li, R., Chan, A. S., Law, S., Wong, J., Chen, X., So S. Expression profiling identifies chemokine (C-C motif) ligand 18 as an independent prognostic indicator in gastric cancer. *Gastroenterology*. 2004;127:457–69.
147. Luzina IG, Tsybalyuk N, Choi J, Hasday JD, Atamas SP. CCL18-stimulated upregulation of collagen production in lung fibroblasts requires Sp1 signaling and basal Smad3 activity. *J Cell Physiol*. 2006 Jan; 206(1):221–8.
148. Nikolic-Paterson DJ, Wang S, Lan HY. Macrophages promote renal fibrosis through

- direct and indirect mechanisms. *Kidney Int Suppl.* 2014 Nov; 4(1):34–8.
149. Campanholle G, Ligresti G, Gharib SA, Duffield JS, Allison S, Allt G, et al. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 3. Novel mechanisms of kidney fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* American Physiological Society; 2013 Apr 1; 304(7):C591–603.
 150. Ma FY, Ikezumi Y N-PD. Macrophage signaling pathways: a novel target in renal disease. *Semin Nephrol.* 2010;30:334–44.
 151. de Vries, I. J., Eggert, A. A., Scharenborg, N. M., Vissers, J. L., Lesterhuis, W. J., Boerman, O. C., Punt, C. J., Adema, G. J., Figdor CG. Phenotypical and functional characterization of clinical grade dendritic cells. *J Immunother.* 2002;25:429–38.
 152. V. Y. Melnikov, S. Faubel, B. Siegmund, M. Scott Lucia, D. Ljubanovic and CLE. “Neutrophil-independent mechanisms of caspase-1- and IL-18-mediated ischemic acute tubular necrosis in mice,.” *J Clin Invest.* 2002;110(8):1083–91.
 153. Qureshi, A., Pusey, C., Ahmad, S., Frankel, A., & Tam FW. CCL18/PARC, a novel cytokine present in urine of diabetic patients, may be involved in regulation of inflammation and fibrosis in diabetic nephropathy. *Am Soc Nephrol.* 2007;18, 325A.
 154. Goodlad C, Tam FWK, Ahmad S, Bhargal G, North B V., Brown EA. Dialysate Cytokine Levels Do Not Predict Encapsulating Peritoneal Sclerosis. *Perit Dial Int.* 2014 Sep 1; 34(6):594–604.
 155. Chen J, Yao Y, Gong C, Yu F, Su S, Chen J, et al. CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via PITPNM3. *Cancer Cell.* 2011 Apr 12; 19(4):541–55.
 156. Ikehara O, Nishimura H, Naito T, Higuchi C ST. Effects of neutral pH and reduced glucose degradation products in a new peritoneal dialysis solution on morphology of peritoneal membrane in rats. *Nephron Exp Nephrol.* 2005;100:e30–9.
 157. Do JY, Kim YL, Park JW, Cho KH, Kim TW YK et al. The effect of low glucose degradation product dialysis solution on epithelial-to-mesenchymal transition in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.* 2005;25(Suppl 3):S22–5.
 158. Kawanishi K, Honda K TM et al. Neutral solution low in glucose degradation products is associated with less peritoneal fibrosis and vascular sclerosis in patients receiving peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2013;33:242–51.

159. Yung S, Lui SL, Ng CKF, Yim A, Ma MKM, Lo KY, et al. Impact of a Low-Glucose Peritoneal Dialysis Regimen on Fibrosis and Inflammation Biomarkers. *Perit Dial Int.* 2015 Mar 1; 35(2):147–58.
160. Le Poole CY, Welten AG, Weijmer MC, Valentijn RM, van Ittersum FJ ter WP. Initiating CAPD with a regimen low in glucose and glucose degradation products, with icodextrin and amino acids (NEPP) is safe and efficacious. *Perit Dial Int.* 2005;25(Suppl 3):S64–8.
161. Bender TO, Witowski J, Ksiazek K JA. Comparison of icodextrin- and glucose-based peritoneal dialysis fluids in their acute and chronic effects on human peritoneal mesothelial cells. *Int J Artif Organs.* 2007;30:1075–82.
162. Bajo MA, Selgas R, Castro MA, del Peso G, Diaz C, Sánchez-Tomero JA et al. Icodextrin effluent leads to a greater proliferation than glucose effluent of human mesothelial cells studied ex vivo. *Perit Dial Int.* 2000;20:742–7.
163. Davies SJ, Brown EA, Frandsen NE, Rodrigues AS, Rodriguez-Carmona A, Vychytil A et al. . EG. Longitudinal membrane function in functionally anuric patients treated with APD: data from EAPOS on the effects of glucose and icodextrin prescription. *Kidney Int.* 2005;67:1609–15.
164. Gaggiotti E, Arduini A, Bonomini M, Valentini G, Sacchi G SE et al. Prevention of peritoneal sclerosis: a new proposal to substitute glucose with carnitine dialysis solution (biocompatibility testing in vitro and in rabbits). *Int J Artif Organs.* 2005;28:177–87.
165. Bonomini M, Pandolfi A, Di Liberato L, Di Silvestre S, Cnops Y DTP et al. L-carnitine is an osmotic agent suitable for peritoneal dialysis. *Kidney Int.* 2011;80:645–54.
166. Nishimura H, Ikehara O, Naito T, Higuchi C ST. Evaluation of taurine as an osmotic agent for peritoneal dialysis solution. *Perit Dial Int.* 2009;29:204–16.
167. De Alvaro F, Castro MJ, Dapena F, Bajo MA, Fernández-Reyes MJ, Romero JR et al. Peritoneal resting is beneficial in peritoneal hyperpermeability and ultrafiltration failure. *Adv Perit Dial.* 1993;9:56–61.
168. De Sousa E, Del Peso G, Alvarez L, Ros S, Mateus A AA et al. Peritoneal resting with heparinized lavage reverses peritoneal type I membrane failure. A comparative study of the resting effects on normal membranes. *Perit Dial Int.* 2014;34:698–705.

169. Zareie M, Keuning ED, ter Wee PM, Beelen RH van den BJ. Peritoneal dialysis fluid-induced changes of the peritoneal membrane are reversible after peritoneal rest in rats. *Nephrol Dial Transpl.* 2005;20:189–93.
170. Aroeira LS, Lara-Pezzi E, Loureiro J, Aguilera A, Ramírez-Huesca M G-MG et al. Cyclooxygenase-2 mediates dialysate-induced alterations of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:582–92.
171. Baeten D, Sieper J BJ et al. Secukinumab, an Interleukin-17A Inhibitor, in Ankylosing Spondylitis. *N Engl J Med.* 2015;373:2534–48.
172. Yu MA, Shin KS, Kim JH, Kim YI, Chung SS PS et al. HGF and BMP-7 ameliorate high glucose-induced epithelial-to-mesenchymal transition of peritoneal mesothelium. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:567–81.
173. Loureiro J, Schilte M, Aguilera A, Albar-Vizcaíno P, Ramírez-Huesca M, Pérez-Lozano ML, et al. BMP-7 blocks mesenchymal conversion of mesothelial cells and prevents peritoneal damage induced by dialysis fluid exposure. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 Apr; 25(4):1098–108.
174. Loureiro J, Sandoval P, del Peso G, González-Mateo G, Fernández-Millara V, Santamaria B, et al. Tamoxifen Ameliorates Peritoneal Membrane Damage by Blocking Mesothelial to Mesenchymal Transition in Peritoneal Dialysis. Sen U, editor. *PLoS One. Public Library of Science*; 2013 Apr 23; 8(4):e61165.
175. Noh H, Ha H, Yu MR, Kim YO, Kim JH LH. Angiotensin II mediates high glucose-induced TGF-beta1 and fibronectin upregulation in HPMC through reactive oxygen species. *Perit Dial Int.* 2005;25:38–47.
176. Sauter M1, Cohen CD, Wörnle M, Mussack T, Ladurner R ST. ACE inhibitor and AT1-receptorblocker attenuate the production of VEGF in mesothelial cells. *Perit Dial Int.* 2007;27:167–72.
177. Nakamoto H, Imai H, Fukushima R, Ishida Y, Yamanouchi Y SH. Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of peritoneal fibrosis. *Perit Dial Int.* 2008;28(Suppl 3):S83–7.
178. Kolesnyk I, Dekker FW, Noordzij M, le Cessie S, Struijk DG KR. Impact of ACE inhibitors and All receptor blockers on peritoneal membrane transport characteristics in long-

- term peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.* 2007;27:446–53.
179. Kolesnyk I, Noordzij M, Dekker FW, Boeschoten EW KR. A positive effect of ACE inhibitors on peritoneal membrane function in long-term PD patients. *Nephrol Dial Transpl.* 2009;24:272–7.
 180. Ludwig RJ. Therapeutic use of heparin beyond anticoagulation. *Curr Drug Discov Technol.* 2009;6:281–9.
 181. Połubinska A, Pawlaczyk K, Kuzlan-Pawlaczyk M, Wieczorowska-Tobis K, Chen C, Moberly JB, Martis L, Breborowicz A OD. Dialysis solution containing hyaluronan: effect on peritoneal permeability and inflammation in rats. *Kidney Int.* 2000;57:1182–9.
 182. Chang TI, Kang HY, Kim KS, Lee SH, Nam BY, Paeng J KS et al. The effect of statin on epithelial-mesenchymal transition in peritoneal mesothelial cells. *PLoS One.* 2014; 9:e109628.
 183. Haslinger B, Kleemann R, Toet KH KT. Simvastatin suppresses tissue factor expression and increases fibrinolytic activity in tumor necrosis factor-alpha-activated human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int.* 2003;63:2065–74.
 184. Sandoval P, Loureiro J, González-Mateo G, Pérez-Lozano ML, Maldonado-Rodríguez A S-TJ et al. PPAR-gamma agonist rosiglitazone protects peritoneal membrane from dialysis fluid-induced damage. *Lab Invest.* 2010;90:1517–32.
 185. Dusso AS, Brown AJ SE. Vitamin D. *Am J Physiol Ren Physiol.* 2005;289:F8–28.
 186. Rojas-Rivera J, De La Piedra C, Ramos A, Ortiz A EJ. The expanding spectrum of biological actions of vitamin D. *Nephrol Dial Transpl.* 2010;25:2850–65.
 187. Tan X, Li Y, Liu Y. Paricalcitol Attenuates Renal Interstitial Fibrosis in Obstructive Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Nov 15; 17(12):3382–93.
 188. Tan X, He W, Liu Y. Combination therapy with paricalcitol and trandolapril reduces renal fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 2009 Dec;76(12):1248–57.
 189. Park JW, Bae EH, Kim IJ, Ma SK, Choi C, Lee J, et al. Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin-induced kidney injury in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* American Physiological Society; 2010 Feb; 298(2):F301–13.
 190. González-Mateo GT, Fernández-Míllara V, Bellón T, Liappas G, Ruiz-Ortega M, López-

- Cabrera M, et al. Paricalcitol Reduces Peritoneal Fibrosis in Mice through the Activation of Regulatory T Cells and Reduction in IL-17 Production. Makishima M, editor. PLoS One. Public Library of Science; 2014 Oct 3; 9(10):e108477.
191. González-Mateo GT, Bajo A, Del Peso G, López-Cabrera M, Selgas R. Intervenciones farmacológicas en el marco de la diálisis peritoneal: Protegiendo el peritoneo. Vol. 34, Dialisis y Trasplante. 2013. p. 120–5.
 192. Coronel F, Cigarran S, Gomis A, Rodríguez-Cubillo B, Herrero JA DP et al. Changes in peritoneal membrane permeability and proteinuria in patients on peritoneal dialysis after treatment with paricalcitol – a preliminary study. Clin Nephrol. 2012;78:93–9.
 193. F. Texeira, J.R. Romero MAB y RS. Cálculo del coeficiente de transferencia peritoneal de masas por la fórmula simplificada de Garred. Su relación con el modelo matemático complejo. Nefrología. 1991;11(3):249–52.
 194. Pichler W Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. Allergy. 2004;vol: 59 (8):pp: 809–20.
 195. Selgas R, Bajo MA, Cirugeda A, del Peso G, Valdés J, Castro MJ, et al. Ultrafiltration and small solute transport at initiation of PD: questioning the paradigm of peritoneal function. Perit Dial Int. 2005; 25(1):68–76.
 196. Thakur SS, Unikowsky B, Prichard S. Eosinophilic peritonitis in CAPD: Treatment with prednisone and diphenhydramine [1]. Vol. 17, Peritoneal Dialysis International. 1997 p. 402–3.
 197. Asghar R, Woodrow G, Turney JH. A case of eosinophilic peritonitis treated with oral corticosteroids [4]. Vol. 20, Peritoneal Dialysis International. 2000. p. 579–80.
 198. Braun RK, Foerster M, Workalemahu G, Haefner D, Kroegel C, Walker C. Differential regulation of aminopeptidase N (CD13) by transendothelial migration and cytokines on human eosinophils. Exp Lung Res. 2003 Mar; 29(2):59–77.
 199. Schraufstatter I, Takamori H, Sikora L, Sriramarao P, DiScipio RG. Eosinophils and monocytes produce pulmonary and activation-regulated chemokine, which activates cultured monocytes/macrophages. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004 Mar; 286(3):L494–501.
 200. Günther C, Carballido-Perrig N, Kopp T, Carballido JM, Pfeiffer C. CCL18 is expressed in

patients with bullous pemphigoid and parallels disease course. *Br J Dermatol.* 2009 Apr; 160(4):747–55.

201. Adhyatmika Adhyatmika, Kurnia S. S. Putri, Leonie Beljaars and BNM. The Elusive Antifibrotic Macrophage. *Front Med.* 2015;13 November.
202. De Sousa E, del Peso-Gilsanz G, Bajo-Rubio MA, Ossorio-González M, Selgas-Gutiérrez R. Encapsulating peritoneal sclerosis in peritoneal dialysis. A review and European initiative for approaching a serious and rare disease. Vol. 32, *Nefrologia.* 2012. p. 707–14.

Anexo 1

Publicaciones y comunicaciones derivadas de esta tesis

-Resultados parciales de los presentados en esta tesis están sometidos a valoración para publicación.

-Los resultados presentados en esta tesis han sido parcialmente presentados en congresos científicos que se detallan

- IX Reunión Nacional de Diálisis Peritoneal, Cáceres Enero 2016: Comunicación oral
- XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología, Valencia Octubre 2015: Comunicación oral
- XI Reunión de la Sociedad Madrileña de Nefrología, Segovia Junio 2015: Comunicación oral
- Reunión Grupo Centro de Diálisis Peritoneal, Madrid 2014: Comunicación oral