



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR. IGNACIO CHÁVEZ”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

**ASOCIACIÓN DE COPEPTINA CON LA DECLINACIÓN DE LA
FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2**

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD
PRESENTA
QFB. MARÍA DE LA LUZ VILLELA TORRES¹

DIRECTOR DE TESIS:

D. en C. Ana Edith Higareda Mendoza²

CO-DIRECTOR

M en C. Cleto Álvarez Aguilar³

² División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
“Dr. Ignacio Chávez”, UMSNH. .

³ Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”

Morelia, Michoacán Julio; 2012.

REALIZACIÓN:

Este trabajo de investigación fue realizado en el laboratorio de Biología Celular y Molecular Humana de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, así como en la Unidad de Epidemiología Clínica del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán del Instituto Mexicano del Seguro Social. Parte de este estudio se llevó a cabo en la División de Baxter Novum y Medicina Renal del Departamento de Ciencia Clínica, Intervención y Tecnología del Instituto Karolinska de Suecia.

COMITÉ SINODAL:

D en C. Martha Eva Viveros Sandoval

D en C. Sergio Gutiérrez Castellanos

M en C. Luz Elena Ortega Pierres

A mi papá: Dr. Martín Villela

Por su amor incondicional, por sus palabras siempre sabias, por ser un “rinoceronte”, por ser mi gran motivación para ir siempre *¡Pa’ adelante!*
... simplemente, por ser un excelente padre.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Cleto por darme la oportunidad de trabajar con él en este gran proyecto, por confiar en mi, por compartir conmigo sus conocimientos y guiarme incondicionalmente en este reto.

A la Dra. Ana Edith por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por sus enseñanzas y por darme siempre su gran apoyo.

A mi mamá: QFB. Martha Torres por ser un pilar importantísimo para la realización de este trabajo, por estar conmigo día, a día, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencia, por sus palabras de aliento cuando me sentí débil, por su amor incondicional y por darme la vida.

A la Dra. Anel Gómez por su apoyo incondicional, por darme de su tiempo y por sus enseñanzas.

A mi comité tutorial por sus importantes observaciones y sugerencias durante la realización de este trabajo.

A mi amigo Gil por ser un pilar para la culminación de este trabajo y por darme siempre su apoyo.

A los Químicos: Chayito y Octavio Barrera por el enorme apoyo que me brindaron en la realización de este trabajo.

Al QFB. Manuel Meza Coria por ser un excelente profesional y persona, por siempre darme su apoyo incondicional y confianza.

A la QFB. Alma Tafolla por su apoyo y disposición.

Al Dr. Alfonso Mariscal por su gran apoyo y por compartir conmigo sus conocimientos.

A las MIP Magdis y Kari por su gran apoyo y cariño en la realización de este trabajo.

A mis hermanos: Liliana, Géminis y Jorge por su amor y apoyo.

A mi "hermana" Bere porque a pesar de todo, siempre está conmigo hombro a hombro.

A **Dios** por darme una vida plena...

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	9
4. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	10
5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	10
5.1 Objetivo General	10
5.2 Objetivos específicos.....	10
6. MATERIAL Y MÉTODOS	10
6.1. <i>Tipo de estudio:</i>	10
6.2. <i>Población de estudio</i>	10
6.3. Tamaño de muestra	11
6.4. Criterios de Selección	11
6.4.1. Criterios de Inclusión	11
6.4.2. Criterios de Exclusión	12
6.4.3. Criterios de Eliminación.....	12
6.5. Metodología	12
6.5.1. Realización de historia clínica	12
6.5.2. Evaluación antropométrica	13
6.5.2.1. Peso Corporal	13
6.5.2.2. Circunferencia abdominal y circunferencia de cadera	13
6.5.3. Medición de la presión arterial.....	13
6.5.4. Toma de muestra sanguínea	13
6.5.4.1. Muestra adicional.....	14
6.5.4.2. Recepción de muestra de orina	14
6.5.5. Análisis Bioquímicos	14
6.5.5.1. Química sanguínea, perfil de lípidos y electrolitos	14
6.5.5.2. Microalbuminuria	14
6.5.5.3. Copeptina plasmática	15
6.5.5.3.1. Técnica de ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>).....	15
6.5.5.3.2. Material.....	16
6.5.5.3.3. Metodología	16
6.5.6. Parámetros calculados	17

6.5.6.1.	Tasa de filtración glomerular (TFGe)	17
6.5.6.2.	Osmolaridad plasmática efectiva (OPE)	17
6.6.	Análisis estadístico	17
6.7.	Consideraciones éticas	18
6.7.1.	Buenas Prácticas Clínicas.....	18
6.7.2.	Comité de Ética en Investigación	18
6.7.3.	Consentimiento informado	19
7.	RESULTADOS	19
8.	DISCUSIÓN.....	28
9.	CONCLUSIÓN:	31
10.	PERSPECTIVAS	32
11.	ANEXOS	33
12.	REFERENCIAS	39

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1. PRECURSOR DE LA ARGININA VASOPRESINA (AVP).	3
FIGURA 2. TÉCNICA DE ELISA TIPO COMPETITIVO	16
FIGURA 3. CONCENTRACIÓN DE COPEPTINA POR ESTADIO DE ERC	22
FIGURA 4. CONCENTRACIÓN DE COPEPTINA PRE Y POSHEMODIÁLISIS	23
FIGURA 5. CORRELACIÓN ENTRE COPEPTINA Y TFG	24
FIGURA 6. CORRELACIÓN ENTRE CREATININA Y TFG	24
FIGURA 7. CORRELACIÓN ENTRE COPEPTINA Y CREATININA	25
FIGURA 8. CORRELACIÓN ENTRE COPEPTINA Y EDAD	25
FIGURA 9. GEL DE AGAROSA 1%. DNA GENÓMICO	27
TABLA 1. PARÁMETROS CLÍNICOS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.....	19
TABLA 2. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.....	20
TABLA 3. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE LA FUNCIÓN RENAL Y TFG	21
TABLA 4. ASOCIACIÓN ENTRE COPEPTINA, TFG, EDAD, SEXO, IMC, GLUCOSA Y TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO Y DIURÉTICOS.....	26

RESUMEN

La Copeptina es el fragmento carboxilo terminal del precursor de la vasopresina (pre-pro-vasopresina), es un marcador sustituto del nivel plasmático de vasopresina. La Copeptina es considerado marcador pronóstico de morbimortalidad en insuficiencia cardiaca crónica, se ha asociado con microalbuminuria y con la función renal.

El objetivo de este estudio es determinar la asociación entre la concentración plasmática de copeptina con la declinación de la función renal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Es un estudio transversal de asociación. Se clasificaron 643 pacientes en seis grupos: sin daño renal y en los 5 estadios de la Enfermedad Renal Crónica (ERC). Después de firmar la carta de consentimiento informado, se realizó historia clínica, antropometría, presión arterial, glucosa, creatinina, perfil de lípidos, microalbuminuria y copeptina plasmática (pre y post-hemodiálisis) y la tasa de filtración glomerular (TFG) se estimó con la ecuación Cockcroft-Gault. La distribución de la población estudiada fue 234 hombres y 409 mujeres, con edad promedio de 58 ± 9.5 años. Se encontró correlación negativa entre copeptina y TFG ($r = -0.445$, $p < 0.0001$) y correlación positiva entre copeptina y creatinina ($r = 0.449$, $p = 0.0001$). Las concentraciones más altas de copeptina se presentaron en el estadio 5 ERC (2.51 ± 1.33 ng/mL), hubo diferencia entre los grupos 0-3 versus 5 ($p < 0.001$). No se encontró diferencia en copeptina entre pre y post-hemodiálisis (2.08 ± 1.04 vs 2.00 ± 0.09 ; $p = 0.536$). La concentración plasmática de Copeptina se asocia con la declinación de la función renal en pacientes con DM2 ($R = 0.314$; $p = 0.001$).

Se requieren estudios adicionales para identificar qué mecanismos se encuentran involucrados

1. Introducción

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es un problema de salud creciente en todo el mundo. La incidencia y prevalencia de la ERC terminal (ERCT) han crecido en las últimas tres décadas y por tanto, la necesidad de terapia de reemplazo de la función renal en cualquiera de sus modalidades también se ha incrementado, así como los gastos originados por la atención de estos pacientes (1). La principal causa de la ERCT es la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) seguida de la hipertensión arterial (HTA) y de las glomerulopatías (2). En Estados Unidos 25.6 millones de personas tienen diabetes y 202, 290 personas viven con ERCT secundaria a la diabetes (3). México no es la excepción y quedó demostrado en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (4) donde se encontró una prevalencia para DM2 del 14.42 % en población adulta. Esta prevalencia se incrementó aún más en los pacientes que sufrían de daño renal. En un estudio realizado en población mexicana, se determinó que la prevalencia de ERCT (TFG < 15 mL/min) fue de 1,142 por millón de habitantes (pmh), en tanto que para los estadios 3 y 4 (TFG < 60 mL/min y > de 15 mL/min) fue de 80,788 pmh. Al igual que en otras poblaciones la principal causa fue la DM2, aunque también algunos factores socioeconómicos y genéticos pueden repercutir (5).

La principal causa de morbimortalidad en pacientes con diabetes tipo 2 es la enfermedad cardiovascular (ECV); dos de cada tres pacientes desarrollan insuficiencia cardíaca (IC) o han muerto por infarto agudo de miocardio (IAM) o evento vascular cerebral (EVC) (6). La nefropatía diabética es un factor de riesgo para ECV y para EVC ya que se asocia con el desarrollo temprano de daño endotelial, aunque factores neurohumorales también contribuyen como riesgo adicional (7). El incremento del riesgo cardiovascular en diabetes tipo 2 ha sido relacionado con disfunción endotelial y renal; lo anterior fue demostrado en un estudio prospectivo, donde encontraron que cuatro precursores de péptidos vasoactivos y natriuréticos: pro-adrenomedulina (MR-proADM), péptido proatrial natriurético (MR-proANP), proendotelina-1 (CT-proET-1) y provasopresina o copeptina (CT-proAVP) mantienen una estrecha relación con la función renal y

eventos cardiovasculares; lo cual vincula dos de las principales complicaciones de la diabetes: la nefropatía diabética y la enfermedad cardiovascular (ECV) (8).

La arginina-vasopresina (AVP) también conocida como hormona antidiurética o vasopresina es crucial para el equilibrio hídrico y homeostasis cardiovascular. Su secreción es estimulada principalmente en respuesta a un incremento en la osmolaridad plasmática o un decremento en el volumen o presión sanguínea. (9)

La AVP es un nanopéptido con un puente disulfuro entre dos cisteínas. El gen que codifica para la síntesis de AVP está constituido por tres exones y en el humano se localiza en el cromosoma 20. (10). Se sintetiza en las neuronas magnocelulares de los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo como pre-prohormona la cual está constituida por un péptido señal, AVP, neurofisiina II y un glicopéptido: copeptina (figura 1.) (11-13). Tras su síntesis en el citosol de la célula, se separa el péptido señal en el retículo endoplásmico, lo que permite la formación de dímeros de la molécula restante (pro-hormona) que, en el aparato de Golgi, es empaquetada en gránulos de secreción; en ellos la molécula se escinde nuevamente dando como resultado AVP, neurofisiina II y copeptina, dichos péptidos viajan por los axones y se almacenan en las terminaciones nerviosas de la neurohipófisis hasta su liberación por exocitosis mediada por diferentes estímulos. (13-15)

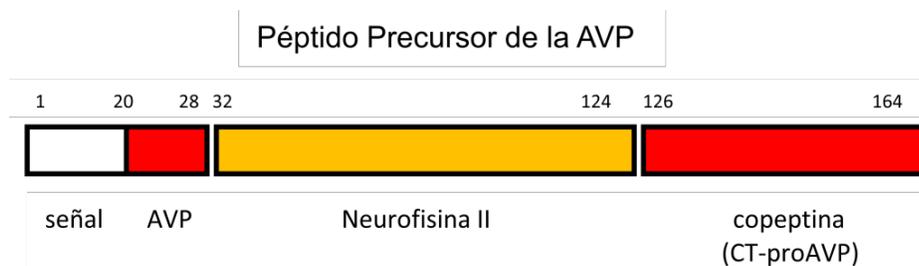


Figura 1. Precursor de la Arginina Vasopresina (AVP).

Los números indican la posición de los aminoácidos de la pre-prohormona.

La ausencia de AVP que resulta en la diabetes insípida, sugiere un papel crítico en el proceso de plegamiento de la hormona precursora. Después de escindirse la *pro*-vasopresina solamente la AVP y la neurofisiina II ejercen efectos biológicos periféricos conocidos (16).

La AVP se distribuye de forma libre y alrededor del 25% se filtra en el glomérulo y el resto se degrada, probablemente en el hígado. (14,15)

El efecto principal de la AVP es reducir el volumen de diuresis incrementando la reabsorción de agua libre de solutos, filtrada en los túbulos distal y colector del riñón (17). Este efecto lo lleva a cabo mediante su unión a receptores V2 en el túbulo colector, acoplado a proteínas G mediante la vía de AMPc (18); induciendo la inserción de canales agua aquaporina-2 en la membrana luminal de las células principales (9). En ausencia de AVP los receptores V2 permanecen inactivos y el túbulo colector es impermeable al agua (17).

Existen otros dos receptores para AVP: V1a, el cual es ampliamente expresado (19) y V1b, expresado específicamente en la hipófisis y en el páncreas (20). El efecto vasoconstrictor (incrementando el calcio intracelular vía inositol trifosfato) de la AVP es mediado principalmente por los receptores V1a y la secreción de corticotrofina por los receptores V1b (21).

La medición de la arginina-vasopresina, está sujeta a varios retos metodológicos, ya que el 90% de la AVP plasmática está unida a plaquetas, tiene un tiempo de vida media corto (aproximadamente de 20 a 30 minutos) y es inestable *in vitro*. En contraste con la AVP, la coceptina es extremadamente estable *in vivo e in vitro* en plasma o suero y por tanto, puede ser confiablemente medida; la coceptina se secreta simultáneamente y en concentración equimolar a la AVP, por lo que es un confiable marcador sustituto de la concentración plasmática de la AVP (22).

La COPEPTINA se describió por primera vez en 1972 (23) y recientemente cobró interés después de haberse desarrollado el inmunoensayo para su medición; es el fragmento carboxilo terminal de la *pro*-vasopresina; es un glucopéptido constituido por 39 aminoácidos con masa molecular de 5 kDa, cuya función en la circulación es desconocida, pero se utiliza como marcador sustituto de la concentración plasmática de AVP (16). La coceptina es muy robusta para su medición *ex vivo* y se comporta de forma similar a la AVP en la circulación; los dos marcadores están muy correlacionados (22). La concentración promedio de coceptina en individuos sanos es 5.2 pmol/L (0.02ng/mL). El sexo masculino

muestra ligeramente valores más altos que el femenino, aproximadamente 1pmol/L. (22, 24 25).

Mientras que el intervalo normal de copeptina refleja la secreción AVP fisiológica necesaria para mantener la osmolaridad plasmática, en las enfermedades graves o estados, como: choque, sépsis, evento vascular cerebral o enfermedad cardiovascular, la liberación no osmótica de la AVP se representa por un brusco aumento de la copeptina plasmática, el cual tiene valor diagnóstico y pronóstico (26).

COPEPTINA Y FUNCIÓN RENAL

Varios efectos desfavorables de la AVP han sido reportados afectando la hemodinamia renal; en la enfermedad renal, la albuminuria es un poderoso predictor de progresión de daño cardiovascular y renal (27). Estudios experimentales han mostrado que la estimulación sostenida de receptores V2 resulta en un incremento del flujo plasmático renal y particularmente en un incremento en la tasa de filtración glomerular (28). Esta hiperfiltración puede tener consecuencias deletéreas resultando hipertrofia renal, proteinuria (29) y una acelerada declinación de la función renal (30). Estos mecanismos propuestos son sustentados mediante estudios en ratas con ERC, mostrando que un incremento en la ingesta de agua, o la infusión crónica de un antagonista del receptor-V2 de AVP reduce la albuminuria y previene la glomerulosclerosis (31). De igual forma, la infusión crónica de un antagonista del receptor-V2 de AVP reduce la proteinuria y el peso del riñón en ratas diabéticas (32). La administración de agonistas del receptor-V2 AVP en ratas y humanos induce albuminuria (28,33). Aún no es claro si esto es debido a un efecto directo de la AVP sobre la excreción de albúmina o si es secundario al efecto de la AVP sobre el volumen y la presión sanguínea.

En el estudio PREVEND (Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease) realizado en población adulta con y sin enfermedad renal, Meijer y Gansevoort reportan una asociación entre copeptina y microalbuminuria, lo cual sugiere un efecto directo de la AVP sobre la excreción urinaria de albúmina (34). Los individuos con concentración plasmática elevada de copeptina en el quintil más alto (>10.5 pmol/L) tuvieron dos veces más prevalencia de microalbuminuria comparado con los individuos con niveles de copeptina en los dos quintiles más bajos (<5.3

pmol/L) (32). Esta asociación fue independiente de la edad y de otros potenciales factores de confusión.

El mismo grupo investigador también examinó una cohorte de 548 receptores de trasplante renal, donde la elevada concentración de copeptina (9.1 pmol/L) fue asociada con una acelerada declinación de la función renal, mediante la disminución de la tasa de filtración glomerular durante un seguimiento de 3.6 años. Nuevamente esta asociación parece ser independiente de otros factores de riesgo para la declinación de la función renal en pacientes receptores de trasplante renal (35). Estudios de intervención con antagonistas del receptor- V2 AVP parecen ser justificados y copeptina puede servir como un biomarcador para identificar pacientes con trasplante renal que pueden ser beneficiados con este tipo de tratamiento (35).

En un estudio reciente, Fenske reporta que concentraciones altas de copeptina son fuertemente asociadas con accidente vascular cerebral, muerte súbita, en conjunto con eventos cardiovasculares y mortalidad en pacientes con diabetes tipo 2 en hemodiálisis (37).

COPEPTINA EN CHOQUE SÉPTICO Y CARDIOVASCULAR

Alta concentración de copeptina en pacientes en choque cardiovascular han sido descritas y la AVP exógena es considerada terapéutica en arresto cardíaco y en diferentes estados de choque (38-42).

Debido a que la fase temprana de choque séptico es dominada por alteraciones graves del sistema cardiovascular, el valor predictivo de copeptina y pro-adrenomedulina (dos pro-hormonas vasoactivas) para mortalidad fueron estudiadas en 99 pacientes y se determinó que ambos son biomarcadores de predicción de muerte en 28 días después de presentar choque séptico (43).

COPEPTINA EN INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO (IAM)

Los primeros resultados fueron reportados en el estudio LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide), donde concluyen que el sistema de la vasopresina es activado después de un IAM y que la copeptina es un nuevo marcador pronóstico de muerte o falla cardíaca en pacientes con IAM, independiente de los factores de riesgo convencionales. La copeptina puede predecir resultados

adversos, especialmente en aquellos con NTproBNP elevado (más de 900 pmol/L) (44).

Posteriormente Reichilin y Mueller estudian el incremento de la concentración plasmática de coceptina, para la rápida exclusión diagnóstica de IAM en 487 pacientes con síntomas sugestivos de IAM; donde el diagnóstico final fue 81 pacientes con IAM. Los niveles de coceptina fueron significativamente altos en pacientes con IAM en comparación con los pacientes que tuvieron otro diagnóstico (M=20.8 pmol/L vs. 6.0 pmol/L; p=0.001). Por lo que la coceptina parece permitir una rápida y segura exclusión de IAM y poder así obviar la necesidad de un monitoreo prolongado con muestras de sangre seriadas (45).

COPEPTINA EN FALLA CARDIACA

Neuhold y Pacher reportan que la Copeptina es un marcador predictivo en falla cardiaca sistólica no solo en estadio avanzado, sino también en estadios menos graves. La coceptina fue superior al BNP en este estudio, pero los dos marcadores parecen estar muy relacionados (46).

El estudio OPTIMAAL muestra que la coceptina es un fuerte marcador pronóstico de morbimortalidad en pacientes con falla cardiaca después de un IAM, en esta población el valor predictivo de coceptina fue incluso más fuerte que el BNP y NT-proBNP (47).

COPEPTINA EN EVENTO VASCULAR CEREBRAL (EVC)

Un estudio reciente muestra que la coceptina se eleva en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico (48).

La coceptina es asociada con la severidad del evento vascular cerebral como lo define The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score. La coceptina predice el estado funcional de los pacientes, desfavorable (19.4 pmol/L) comparado con los pacientes de resultado favorable (8.2 pmol/L) (48).

La coceptina también es un marcador predictivo de muerte en 90 días en esta población, la media de la concentración fue tres veces más alta en los pacientes que fallecieron (35.6 pmol/L) en comparación con los que sobrevivieron (9.5 pmol/L). La

información pronóstica fue independiente después de ajustarse por los diversos factores de riesgo y otros predictores (48).

FARMACOTERAPIA CON ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR DE AVP

Antagonistas del receptor para AVP han sido empleados exitosa y ampliamente de forma experimental en falla cardiaca congestiva e hiponatremia, pero los primeros ensayos clínicos reportan resultados cruzados en la terapia de falla cardiaca y sin efecto sobre la mortalidad (49,50).

2. Planteamiento del problema

La DM2, HTA y la ERC son tres problemas de salud pública que por su relación, tienen altos costos económicos y sociales para todos los sistemas públicos de salud de todos los países y de México. Por lo anterior, han recibido mucha atención por parte de las autoridades sanitarias y de todo el equipo de salud, con el propósito de establecer un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno para evitar o retardar las complicaciones crónicas de estas patologías. Sin embargo, por la magnitud y trascendencia del problema que representan, los resultados no se han visto reflejados del todo y además no existe un presupuesto suficiente para su atención. Como ya se ha establecido previamente, la DM2 es la principal causa de ERCT seguida de la HTA y de las glomerulopatías; además la ERCT se asocia como un factor de riesgo para morbimortalidad por ECV. Por lo anterior, en los últimos años una gran cantidad de estudios dirigidos a la identificación de igual número de biomarcadores de riesgo para el desarrollo y progresión del daño renal y para morbilidad y mortalidad por ECV han sido publicados, pero la información generada aún sigue siendo insuficiente. Por tal motivo, con el presente estudio, se pretende demostrar si el nivel plasmático de copeptina se asocia con daño renal en esta población. Por lo anterior, se hace el siguiente cuestionamiento:

¿La concentración plasmática de copeptina se asocia con la declinación de la función renal en pacientes con DM2?

3. Justificación del estudio

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de mortalidad en pacientes con ERCT. Acorde al reporte del National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease, pacientes con ERCT tienen 10 a 30 veces mayor riesgo de mortalidad cardiovascular comparado con la población general, aleatorizada por edad, género y raza (51); por otro lado, la enfermedad renal se ha considerado como un factor de riesgo para ECV lo que hace más complejo el problema (52). Varios son los mecanismos que llevan a la declinación de la función renal; entre ellos, la diabetes y la HTA; mecanismos genéticos también participan; recientemente fue demostrado que algunos polimorfismos de los genes que codifican para el sistema renina angiotensina se relacionan con el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética y con el síndrome metabólico. (53,54).

Los biomarcadores son parámetros medibles que proporcionan estimación de la función biológica. En medicina clínica, los biomarcadores son usados para estimar procesos funcionales, establecer un diagnóstico, determinar la eficacia de un tratamiento, y estimar o predecir riesgo de un evento adverso y para que un tratamiento pueda ser dirigido para reducir el riesgo (55).

Nuevos péptidos están siendo identificados como marcadores para complementar las herramientas actuales, para mejorar la precisión diagnóstica y pronóstica de la enfermedad clínica. Recientemente, se han realizado algunos estudios que identifican al BNP, proteína C reactiva y el proBNP, como marcadores diagnósticos y pronósticos de morbimortalidad por ECV en diversas poblaciones (56-58).

Copeptina es la fracción C-terminal del precursor de la AVP. La AVP u hormona antidiurética es secretada en respuesta a la hiperosmolaridad plasmática o hipovolemia, ejerciendo un efecto antidiurético; contribuyendo a la regulación del volumen y homeostasis cardiovascular (59). La copeptina recientemente ha demostrado ser comparable con los péptidos natriuréticos en el diagnóstico y pronóstico de la insuficiencia cardíaca (60), sin embargo, poco se ha estudiado en relación con la función renal por lo que en este estudio se pretende establecer si el nivel plasmático de copeptina se relaciona con la declinación de la función renal en pacientes con DM2.

4. Hipótesis de investigación

La copeptina es un marcador que se asocia con daño renal en pacientes con DM2.

5. Objetivos del estudio

5.1 Objetivo General

- Determinar la asociación entre el nivel plasmático de copeptina con la declinación de la función renal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

5.2 Objetivos específicos

- Conocer la concentración plasmática de copeptina en pacientes con DM2 con y sin enfermedad renal crónica.
- Determinar la relación entre la concentración plasmática de copeptina y los diferentes estadios de la enfermedad renal crónica.
- Conocer la concentración plasmática de copeptina pre y post-hemodiálisis en un grupo de 62 pacientes.

6. Material y métodos

6.1. Tipo de estudio:

Estudio transversal de asociación.

6.2. Población de estudio

Pacientes con DM2 con una evolución mínima de tres años, de ambos sexos, adscritos a la Unidad de Medicina Familiar No. 75; pacientes con las mismas características mencionadas y en estadio 3, 4 y 5 de la ERC adscritos a la Unidad de Medicina Ambulatoria del Hospital General Regional No. 1 del Instituto Mexicano del Seguro social.

Se clasificaron los pacientes en 6 grupos, de acuerdo con los estadios de la enfermedad renal crónica (ERC) según las guías K/DOQI 2002 (61). (Anexo1)

Grupo 0: Pacientes con DM2 sin daño renal

Grupo 1: Pacientes con DM2 en estadio 1 de la ERC

Grupo 2: Pacientes con DM2 en estadio 2 de la ERC

Grupo 3: Pacientes con DM2 en estadio 3 de la ERC

Grupo 4: Pacientes con DM2 en estadio 4 de la ERC

Grupo 5: Pacientes con DM2 en estadio 5 de la ERC

6.3. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra (N) se calculó con la ecuación de tamaño de muestra para estimar la proporción de la población.

$$N = \frac{n (Z_{\alpha/2})^2 P (1-P)}{(n-1) e^2 + (Z_{\alpha/2})^2 P (1-P)}; N=528$$

Donde:

$Z_{\alpha/2}$: Valor de Z que corresponde al nivel de confianza del 95% = 1.96

P: Proporción estimada de pacientes con DM-2 y daño renal = 10%

e: error máximo del 25.0% = 0.0025

n: tamaño de la población de los pacientes de la UMF No. 75 con DM2 = 11475

6.4. Criterios de Selección

6.4.1. Criterios de Inclusión

- Pacientes entre 18 y 75 años de edad.
- Pacientes con DM2 con una evolución mínima de 3 años.
- Pacientes con DM2 con función renal normal.
- Pacientes con DM2 en estadios 1-5 de la ERC acorde con la clasificación de las Guías K/DOQI.
- Pacientes con o sin manifestaciones clínicas y/o por radiografía, electrocardiografía y ecocardiografía de ECV.

6.4.2. Criterios de Exclusión

- Pacientes con daño renal de causa diferente a la DM2.
- Pacientes con enfermedad hepática conocida.
- Pacientes con enfermedad tiroidea conocida
- Pacientes con síndrome nefrótico y nefrítico.
- Pacientes con hipo e hipercorticismo

6.4.3. Criterios de Eliminación

- Pacientes que no tengan historia clínica completa

6.5. Metodología

A cada paciente que reunió los criterios de inclusión, que aceptó participar en el estudio y otorgó su consentimiento informado por escrito (anexo), se le dio cita en la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del HGR No.1 del IMSS a las 6:30 a. m. con las siguientes indicaciones: presentarse en ayuno de 12 horas, con su primer orina de la mañana (volumen total de una micción), con ropa ligera, recetas y/o medicamentos que esté tomando y estudios de laboratorio recientes; para realizarle una valoración que incluyó los siguientes puntos:

6.5.1. Realización de historia clínica

Incluyó antecedentes heredofamiliares de obesidad y/o enfermedades concomitantes; antecedentes personales patológicos, y una exploración física completa.

6.5.2. Evaluación antropométrica

Incluyó las mediciones de peso, talla, circunferencia abdominal y circunferencia de cadera bajo los lineamientos establecidos.

6.5.2.1. Peso Corporal

Para la medición del peso corporal (kg), se colocó al paciente en una báscula con estadímetro en bipedestación, con la menor ropa posible y sin zapatos. La medición de la talla (m) en posición erecta, con talones juntos y los pies separados en un ángulo de 60°, con la cabeza en un plano horizontal de Frankfort (línea imaginaria que une el borde superior del conducto auditivo con la órbita); brazos libres a los costados y las palmas hacia las caderas. También se calculó el IMC (peso kg/ talla m²) de los pacientes.

6.5.2.2. Circunferencia abdominal y circunferencia de cadera

La circunferencia abdominal se midió con cinta métrica, trazando una línea imaginaria del hueco de la axila hasta la cresta iliaca; sobre de ésta se identificó el punto medio entre la última costilla y la parte superior de la cresta iliaca y en ese punto se tomó el perímetro abdominal y estando el paciente de pie. La circunferencia de la cadera se midió a la altura de la cresta iliaca.

6.5.3. Medición de la presión arterial

La presión arterial se midió con un esfigmomanómetro de mercurio, previamente calibrado (Mercurial sfigmomanometer) sin que el paciente hubiera tomado bebidas cafeinadas o hubiera fumado por lo menos 30 minutos antes de la toma. El paciente debió estar en reposo y en posición de sentado por al menos cinco minutos previos a la medición.

6.5.4. Toma de muestra sanguínea

De cada paciente se colectaron 5 ml de sangre venosa en tubo vacutainer sin anticoagulante para la cuantificación sérica de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, perfil de lípidos (colesterol, triglicéridos, HDL y LDL), electrolitos séricos (sodio, calcio

y fósforo). En tubo vacutainer con anticoagulante EDTA (ácido dietilén-amino-tetraacético) se colectaron 5 mL de sangre venosa para la cuantificación plasmática de coceptina. La sangre contenida en ambos tubos fue centrifugada para la extracción de suero y plasma correspondientemente. Se hicieron alícuotas de 300 µL tanto de suero como de plasma y se almacenaron a -72°C hasta su procesamiento.

6.5.4.1. Muestra adicional

Se colectaron adicionalmente 2 mL de sangre venosa en tubo vacutainer EDTA para extracción de DNA; para la creación de un banco de DNA que se utilizará en estudios posteriores, principalmente con el objetivo de identificar polimorfismos genéticos de riesgo cardiovascular en esta población.

La extracción de DNA se realizó bajo el protocolo establecido por el kit comercial GenomicPrep (GE Healthcare).

6.5.4.2. Recepción de muestra de orina

La muestra de orina se rotuló y almacenó inmediatamente a 4°C, hasta su análisis 4 horas posteriores a la recepción.

6.5.5. Análisis Bioquímicos

Se determinaron: glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, sodio, calcio, fósforo, microalbuminuria y coceptina.

6.5.5.1. Química sanguínea, perfil de lípidos y electrolitos

Se cuantificó en suero glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, sodio, calcio y fósforo por método enzimático colorimétrico (Synchron CX9 Pro, Beckman Coulter). El equipo fue previamente calibrado y verificado con los controles específicos para las pruebas realizadas, como lo indica el manual de procedimientos del equipo.

6.5.5.2. Microalbuminuria

La microalbúmina fue determinada y cuantificada en una muestra de orina aislada no ajustada a la creatinina, por método enzimático quimioluminiscente

competitivo (Analizador IMMULITE 1000), con una sensibilidad de 1 µg/mL. Previo al análisis de las muestras se realizó la calibración del equipo y el análisis de los controles.

Según la excreción urinaria de albúmina se consideraron los siguientes valores: Normal <20 µg/mL, microalbuminuria de 20-199 µg/mL y proteinuria ≥200 µg/mL.

6.5.5.3. Copeptina plasmática

Se cuantificó por inmunoensayo enzimático competitivo con el kit* comercial de Phoenix Pharmaceuticals, Inc (USA).

*Sensibilidad: concentración mínima detectable 0.15 ng/mL, precisión: variación intraensayo: 10%, interensayo 15%, rango: 0-100 ng/mL, especificidad 100%.

6.5.5.3.1. Técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Es un ensayo inmunoenzimático que se caracteriza por ser muy sensible, de alta especificidad, rápido y económico. Esta técnica se fundamenta en el uso de anticuerpos específicos para capturar la proteína de interés. En la figura 2. Se muestra una de las variantes de ELISA de tipo competitivo: La placa en el kit Copeptin (human) Phoenix Pharmaceuticals, Inc. fue pre-cubierta con un anticuerpo secundario el cual tiene bloqueados los sitios de unión no específicos. El anticuerpo secundario puede unirse al fragmento Fc del anticuerpo primario (anticuerpo A) cuya fracción Fab puede unirse tanto al péptido biotinilado como al péptido estándar y al péptido de la muestra. El péptido biotinilado interactúa con la estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano [(SA-HRP) anticuerpo B], la cual cataliza el sustrato en presencia del cromógeno TMB, dando un producto de color amarillo. La intensidad del color amarillo producido en la reacción es directamente proporcional a la cantidad del complejo péptido biotinilado-SA-ARP producido e inversamente proporcional a la cantidad de péptido en las soluciones estándar o en las muestras. Esto es debido a la unión competitiva del péptido biotinilado, del péptido estándar y de las muestras, al anticuerpo primario. En consecuencia, se puede establecer una curva estándar de concentración conocida. La concentración de copeptina en las muestras se determina mediante extrapolación de dicha curva estándar.

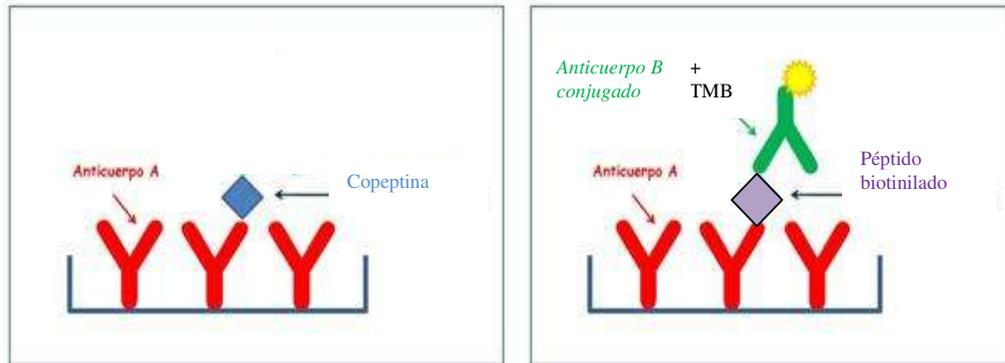


Figura 2. Técnica de ELISA Tipo Competitivo

6.5.5.3.2. Material

6.5.5.3.3. Metodología

El ensayo se realizó bajo el protocolo establecido en el kit.

Se prepararon los buffers y se rehidrataron el anticuerpo primario, el péptido biotinilado y el control positivo para su empleo.

Las muestras, el control positivo y la curva estándar se realizaron por duplicado.

Se realizó una curva estándar con concentraciones de péptido (coceptina) conocidas (100,10, 1, 0.1 y 0.01 ng/mL).

Se adicionaron en los pocillos de la placa 50 μ L de muestra, péptido estándar o control positivo, 25 μ L de anticuerpo primario y 25 μ L de péptido biotinilado, posteriormente se incubó la placa a temperatura ambiente (20-23°C) por dos horas. Se lavó cuatro veces con 350 μ L de buffer de lavado y se adicionaron 100 μ L de solución SA-HRP. Nuevamente se incubó a temperatura ambiente (20-23°C) por una hora y se lavó la placa cuatro veces con 350 μ L de buffer de lavado. Se adicionaron 100 μ L de solución de sustrato TMB, luego se incubó a temperatura ambiente por una hora (protegiendo la placa de la luz), posteriormente se paró la reacción con 100 μ L de HCl 2N. Finalmente se leyó la absorbancia (O.D.) a 450 nm y se calcularon los resultados en un programa de ajuste de curvas para cuatro parámetros logísticos o log-logit.

6.5.6. Parámetros calculados

Se calcularon la tasa de filtración glomerular y la osmolaridad plasmática efectiva.

6.5.6.1. Tasa de filtración glomerular (TFGe)

Se estimó con la ecuación Cockcroft-Gault (corregida por superficie corporal) ampliamente validada (62,63). Los pacientes fueron clasificados acorde con las guías KDOQI (61). La microalbuminuria fue el parámetro utilizado para discriminar estadio 1 de ERC de ausencia de daño renal. $\langle *TFGe \text{ (mL/min/1.73m}^2\text{)} = [(140-\text{edad}) * (\text{peso en kg}) * (0.85 \text{ si mujer})] / (72 * \text{creatinina sérica en mg/dL}) \rangle$

6.5.6.2. Osmolaridad plasmática efectiva (OPE)

Se calculó con la siguiente ecuación: $\langle OPE \text{ (mOsm/L)} = 2 * [\text{Na}^+ \text{ (mmol/L)}] + [\text{glucosa (mg/dL)}] / 18 \rangle$ Se consideraron valores normales de 270-285 mOsm/L.

6.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SPSS versión 18 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

La normalidad de las variables fue analizada mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Los Resultados son presentados en medias \pm DE para las variables paramétricas. La diferencia entre las medias fue analizada por *Análisis de Varianza (ANOVA) de una Vía y prueba de Tukey como Post Hoc*.

La correlación entre las variables continuas se evaluó mediante el coeficiente de *correlación de Pearson*. Para comparar dos variables continuas se aplicó la *prueba t de student*. Mientras que para investigar la asociación entre copeptina y cambio en la función renal se realizó un análisis de regresión lineal univariado (modelo 1), usando la copeptina como variable independiente. Mediante un modelo de regresión lineal multivariado esta asociación fue ajustada por varios factores tales como: edad, sexo, IMC, antihipertensivos y diuréticos. Se consideró de significancia estadística a un valor de $p < 0.05$.

6.7. Consideraciones éticas

6.7.1. Buenas Prácticas Clínicas

Este estudio se realizó de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas, según fue definido en la Conferencia Internacional sobre Armonización y de acuerdo con los principios éticos subyacentes en las disposiciones contenidas en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud. Conforme a dicho reglamento, esta investigación es clasificada como: Investigación de riesgo mínimo [Sección de Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos. (pag.424, Capítulo I, Artículo 17)] y se ajusta a los principios científicos y éticos prescritos en la Norma Oficial Mexicana para realizar estudios de investigación en humanos.

El protocolo realizado en ninguno de sus procedimientos atentó contra la integridad física y/o moral de las personas que se involucraron en él. El investigador principal que participó en la realización de este estudio fue calificado por educación, capacitación y experiencia para realizar dichas tareas, fue el mismo investigador quien acudió a los diversos servicios clínicos para tener acceso a los expedientes de los pacientes salvaguardando el principio de confidencialidad; de igual forma se manejó la identidad de todos los participantes del estudio.

Se respetaron cabalmente las enmiendas de la Declaración de Helsinki de 1964, revisado por última vez en 2004, los principios contenidos en el Código de Núremberg, el Informe Belmont y el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos.

6.7.2. Comité de Ética en Investigación

Este Protocolo de Investigación fue sometido a consideración del Comité Local de Ética en Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), que de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética médica y de investigación vigentes; por lo que el dictamen emitido fue de autorizado el 11 de junio del 2010 con No. de registro R-2010-1602-9. (Anexo 2)

6.7.3. Consentimiento informado

El investigador se aseguró de que los participantes (o su representante legalmente aceptable) recibieran información clara y completa acerca del propósito, riesgos, beneficios y asuntos relacionados al estudio en el cual participarían de manera voluntaria. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito y libremente otorgado de cada individuo para su participación en este estudio. (Anexo 3y 4).

7. Resultados

Se reclutaron 645 pacientes, de los cuales 2 fueron eliminados. En total se estudió una población de 643 pacientes; con una distribución de 63% mujeres y 36.4% hombres.

Tabla 1. Parámetros clínicos de la población estudiada

Variable	Estadio 0 n=86	Estadio 1 n=33	Estadio 2 n=246	Estadio 3 n=102	Estadio 4 n=34	Estadio 5 n=142
Sexo (M/F)	19/67	9/24	68/178	40/62	20/14	78/64
Edad (años)	49.8±8.3	45.3±8.5*	59.2±7.4	63.4±8.0	64.0±8.0	60.4±9.0
Peso (kg)	78±14.57	89.3±26.0*	70.9±12.30	70.8±15.0	67.8±12.70	65.6±12.3
IMC (cm ²)	31.4±5.4	34.7±9.3*	28.7±4.0	28.2±5.2	26.4±4.4	25.4±4.2
Cintura (cm)	102.4±11.3	108.8±14.3*	98.3±12.0	99.6±17.0	95.8±8.4	89.7±3.1
Cadera (cm)	109.8±14.7	108.7±14.3	102.2±14.3	99.8±21.8	97.7±10.0	93.7±6.9
PAS (mm/Hg)	117.3±17.1	124.0±16.4	118.4±14.5	130.5±17.5	141.2±20.3	143.4±27.0*
PAD (mm/Hg)	75.9±11.0	78±11.0	75.3±10.9	82.6±10.9	85.8±10.9	82.4±15.4*
DM2 (años)	7.1±6.2	6.1±6.4	8.7±6.4	14.6 ±9.3	19.0±8.0	18.5±8.4*

ANOVA y Tukey como Post Hoc *p=0.001

Las comparaciones son entre los estadios 2-5 versus estadio 1, excepto para la presión arterial.

IMC: índice de masa corporal, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, DM2: años de diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2

Al analizar las variables clínicas (tabla1) se encontró que los pacientes en estadio 1 ERC fueron los más jóvenes y con mayor obesidad respecto a los demás estadios (F=20.3; p=0.001), mientras que los pacientes en estadio 4 y 5 presentaron

mayor presión arterial sistólica, diastólica y más años de evolución de la diabetes (F=39.6; p=0.001).

Tabla 2. Parámetros bioquímicos de la población estudiada

Variable	Estadio 0 n=86	Estadio 1 n=33	Estadio 2 n=246	Estadio 3 n=102	Estadio 4 n=34	Estadio 5 n=142
Glucosa (mg/dL)	156.5±41.7	178.1±59.8	162.2±60.0	166.0±67.5	176.4±71.1	205±97.5*
Albúmina (g/dL)	4.07±0.35	3.08±0.26	4.0±0.32	3.74±0.31	3.32±56	3.15±0.55*
Ácido úrico (mg/dL)	4.9±1.1	5.1±1.1	5.1±1.3	5.9±1.4	6.6±1.6	6.7±1.4*
Colesterol (mg/dL)	193.8±30.3	180.6±22.8	194.1±34.0	194.8±32.9	176.5±45.0	169.4±46.9*
Triglicéridos (mg/dL)	201.9±161.6	179.1±101.3	168.5±60.4	173.7±63.8	163.5±37.7	159.0±83.2
HDL (mg/dL)	41.56±10.21	41.71±8.26*	43.85±8.39	41.02±8.10	40.91±5.93	39.13±6.86
LDL (mg/dL)	113.06±24.1	102.18±16.5*	116.33±25.3	115.41±23.3	114.91±21.7	109.51±21.3
Na (mmol/L)	138.1±4.6	138.6±4.0	138.2±4.1	136.7±5.0	137.1±5.6	135.2±4.0
Ca (mg/dL)	9.4±0.6	9.4±0.6	9.5±0.6	9.5±0.6	9.5±0.8	9.3±0.9
P (mg/dL)	3.9±0.6	4.1±0.6	4.0±0.6	4.7±0.9	5.2±1.1	5.2±1.6*

ANOVA y Tukey como Post Hoc *p=0.001

Las comparaciones son entre los estadios 0-3 versus estadio 4 y 5, excepto para HDL, LDL.
HDL: lipoproteínas de alta densidad, LDL: lipoproteínas de baja densidad, Na: sodio, Ca: calcio, P: fósforo.

Los pacientes en estadio 5 tuvieron las concentraciones de glucosa (F=8.3; p=0.0001) y ácido úrico (F=38.3; p=0.0001) más altas, en comparación con el resto de los grupos; estando el ácido úrico dentro de los parámetros normales. Este mismo grupo presentó en promedio la concentración más baja (normal) de colesterol total (F=10.4; p=0.0001), pero el resto de los grupos también presentaron cifras dentro de lo normal, tanto en colesterol total, como en las lipoproteínas de alta densidad. El grupo en estadio 1 de ERC presentó HDL dentro de los límites normales a pesar de ser el grupo con mayor porcentaje de IMC. Todos los grupos presentaron

concentración elevada de triglicéridos, no existiendo diferencia significativa entre los mismos.

Tabla 3. Parámetros bioquímicos de la función renal y TFGe

Variable	Estadio 0 n=86	Estadio 1 n=33	Estadio 2 n=246	Estadio 3 n=102	Estadio 4 n=34	Estadio 5 n=142
Urea (mg/dL)	26.8±6.2	28.5±7.2	32.8±9.4	49.3±20.0	78.7±38.0	118.5±50.0*
Creatinina (mg/dL)	0.81±0.12	0.80±0.11	0.93±0.16	1.4±0.42	3.0±1.06	8.0±3.40*
μ-albuminuria (μg/mL)	4.5±2.40*	26.20±15.0	26.71±8.03	_____	_____	_____
TFG (mL/min/1.73m ²)	102.2±9.7	116.1±19.0	75.6±8.4	47.4±8.5	22.4±5.4	10.5±7.0*

ANOVA y Tukey como Post Hoc *p=0.001
Las comparaciones son entre los estadios 0-2 versus estadio 3-5

En la tabla 3, se refleja el patrón conocido de la enfermedad renal, en donde aumentan los azoados y disminuye la TFG. El aumento de la creatinina se observó hasta el estadio 3 ERC, por lo que no debe utilizarse de forma aislada para valorar el nivel de función renal. No se encontró diferencia significativa entre los estadios 0-2 para urea y creatinina, no siendo así para los estadios 3-5. En los estadios 1 y 2 ERC se encontró microalbuminuria.

Para investigar si la concentración de coceptina, como medida indirecta de la AVP es consistente con la regulación fisiológica normal, se realizó una prueba de asociación (*coeficiente de Pearson*) entre coceptina y la osmolaridad plasmática efectiva, ya que la hiperosmolaridad es una de las principales causas de secreción de coceptina y AVP.

La osmolaridad plasmática efectiva (mOsmol/L) por grupo fue: Estadio 0/sin ERC (283.8±8.7), estadio 1 (284.8±8.5), estadio 2 (285.5±8.8), estadio 3 (284±10.3), estadio 4 (285±12), estadio 5 (287±8.8). Se encontró que la osmolaridad plasmática efectiva fue asociada positivamente con el logaritmo de la coceptina (r=0.10, p=0.030), indicando que una alta osmolaridad plasmática es asociada con alta concentración de coceptina.

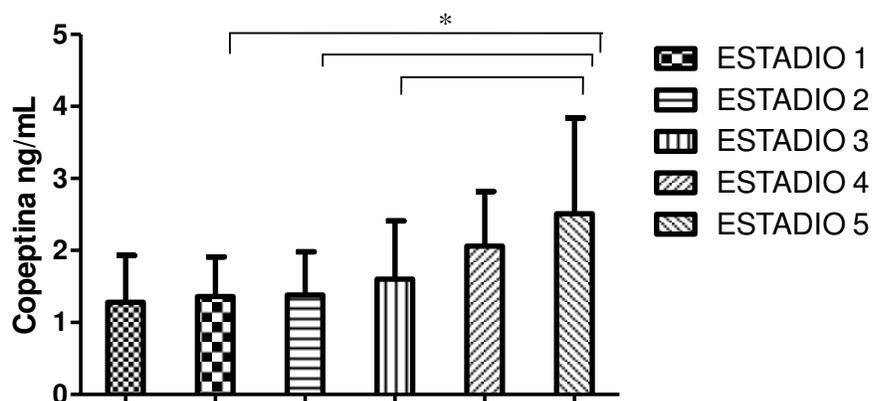


Figura 3. Concentración de coceptina por estadio de ERC

ANOVA y Tukey como Post Hoc *p=0.0001
 Las comparaciones son entre los estadios 0-3 versus estadio 4 y 5

La concentración plasmática de coceptina en pacientes con DM2 con tasa de filtración glomerular normal y sin daño renal ($n=86$) fue 1.28 ± 0.65 ng/mL; en pacientes con una TFGe >90 mL/min estimada por Cockcroft-Gault y con daño renal (estadio-1ERC) ($n=33$) fue 1.28 ± 0.65 ng/mL, en pacientes con una tasa de filtración glomerular de 60-89 mL/min (estadio-2 ERC) ($n=246$) fue $1,38 \pm 0.60$ ng/mL, mientras que en los pacientes en estadio 3 ERC ($n=102$) con una TFGe de 30-59 mL/min la concentración plasmática de coceptina fue 1.6 ± 0.81 ng/mL (sin diferencia significativa entre estos grupos 0-3), en pacientes en estadio 4 ERC ($n=34$) con una TFGe de 15-29 mL/min fue 2.06 ± 0.76 ng/mL ($p=0.0001$ vs TFGe >29 mL/min), mientras que en pacientes en estadio 5 ($n=142$) con una TFG <15 mL/min fue 2.51 ± 1.33 ng/mL ($p=0.0001$ vs TFGe >29 mL/min). Las concentraciones más altas de coceptina se encontraron en el estadio 4 y 5 ($F=28.8$; $p=0.0001$), no habiendo diferencia significativa entre estos grupos (figura 2). También la concentración fue más alta en hombres (1.92 ± 1.15 ng/mL) que en mujeres (1.65 ± 0.85 ng/mL) ($p=0.007$).

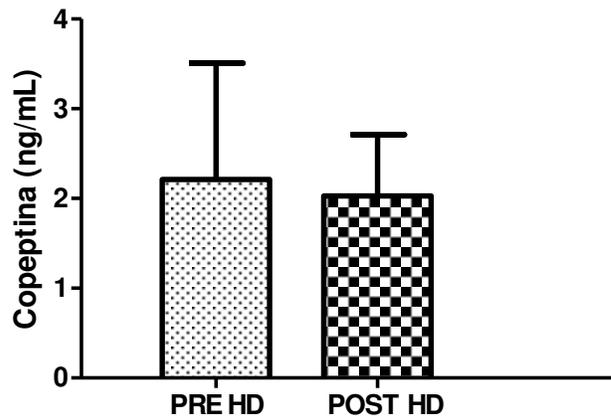


Figura 4. Concentración de coeptina pre y poshemodiálisis

Prueba t de student para muestras relacionadas ($t=0.622$; $p=0.536$)

Uno de los objetivos específicos de este estudio fue conocer la concentración plasmática de coeptina pre y post-hemodiálisis de un grupo de 62 pacientes con DM2 (figura 3), con la finalidad de determinar si la elevada concentración de coeptina en pacientes con ERC (en este caso particular en pacientes con fallo renal) se debía a un menor aclaramiento de la misma. La concentración de coeptina (ng/mL) fue: Pre-hemodiálisis: 2.19 ± 1.36 y post-hemodiálisis 2.03 ± 0.68 . No se encontró diferencia significativa en la concentración de coeptina pre y post hemodiálisis ($p=0.536$).

Se encontró correlación inversa significativa entre coeptina y la TFGe ($r= -0.445$; $p=0.0001$) (figura 4), el *coeficiente de Pearson* de esta relación fue menor que el encontrado entre creatinina y la TFGe ($r=-0.760$; $p=0.0001$) (figura5).

La coeptina sostuvo una correlación lineal positiva con la creatinina ($r= 0.449$; $p=0.0001$) (figura 6) y no se encontró relación entre la coeptina y la edad ($r=0.044$; $p=0.339$) (figura 7).

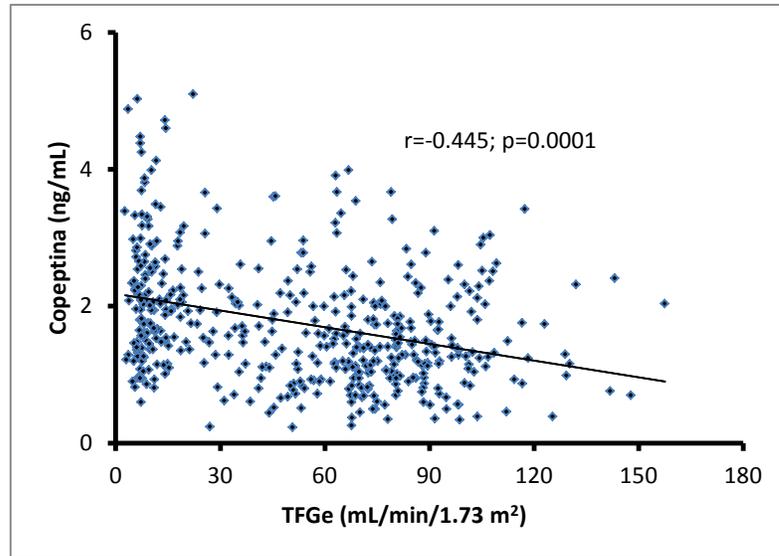


Figura 5. Correlación entre copeptina y TFGe

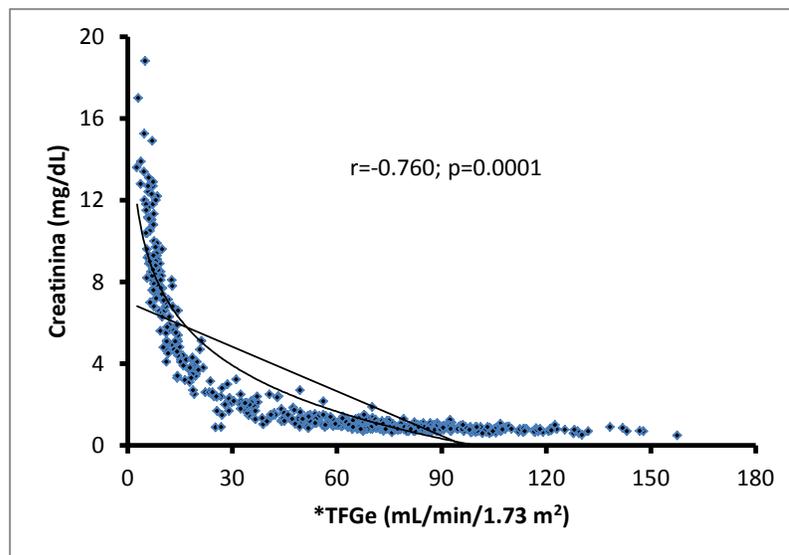


Figura 6. Correlación entre creatinina y TFGe

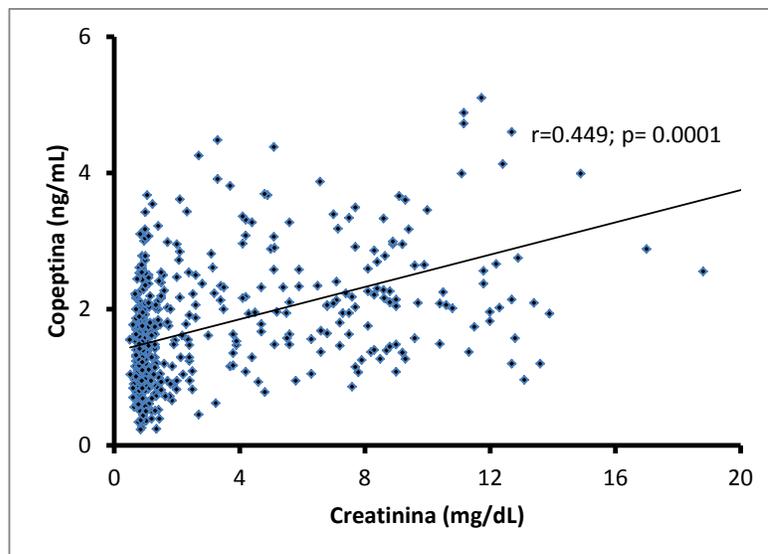


Figura 7. Correlación entre copeptina y creatinina

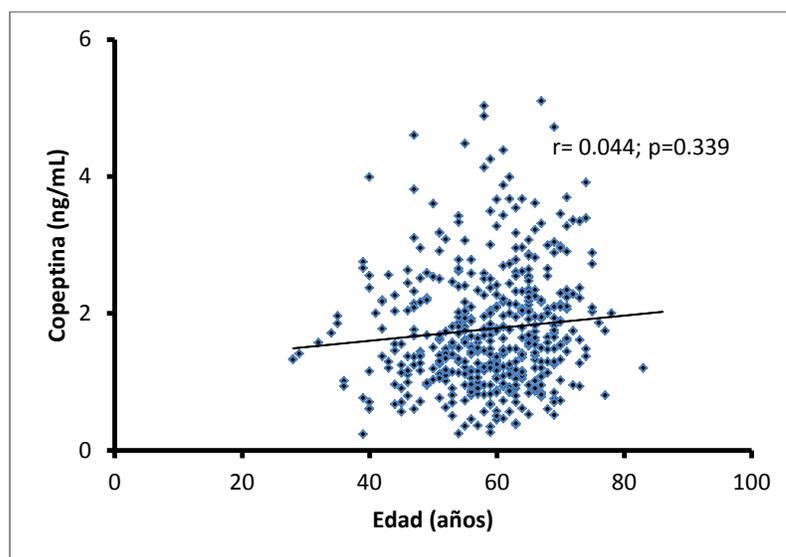


Figura 8. Correlación entre copeptina y edad

Tabla 4. Asociación entre copeptina, TFGe, edad, sexo, IMC, glucosa y tratamiento antihipertensivo y diuréticos

Modelo	Ajustado por	TFG (ml/min/1.73/m SC)	
		B Estandarizado	<i>p</i>
1	Cruda	-0.468	<0.0001
2	Copeptina, edad y género	-0.416	<0.0001
3	Copeptina, IECAs, ARA-II y diuréticos	-0.488	<0.0001
4	Copeptina, edad, género, glucosa e IMC	-0.365	<0.0001

Una β estandarizada negativa indica que una alta concentración de copeptina es asociada con una baja TFG.

TFG= Tasa de filtrado glomerular; IECAs= Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II= antagonistas de los receptores de la Angiotensina II; IMC= índice de masa corporal.

La variable independiente fue copeptina plasmática. La variable dependiente TFG (ml/min/1.73m²), edad, género, tratamiento antihipertensivo (IECAs y/o ARA-II), diuréticos, niveles séricos de glucosa e IMC (peso kg/talla m²).

Adicionalmente se elaboró un banco de DNA genómico. Se realizó la extracción de DNA genómico de 50 muestras de sangre total de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con enfermedad renal crónica.

Se obtuvieron en promedio 10 µg de DNA por cada 300 µL de sangre total (figura 8), el método realizado (kit comercial Genomic-prep) garantiza una alta calidad del DNA genómico libre de contaminación de proteínas y RNA. Las muestras se conservan a -70°C en buffer de estabilización.

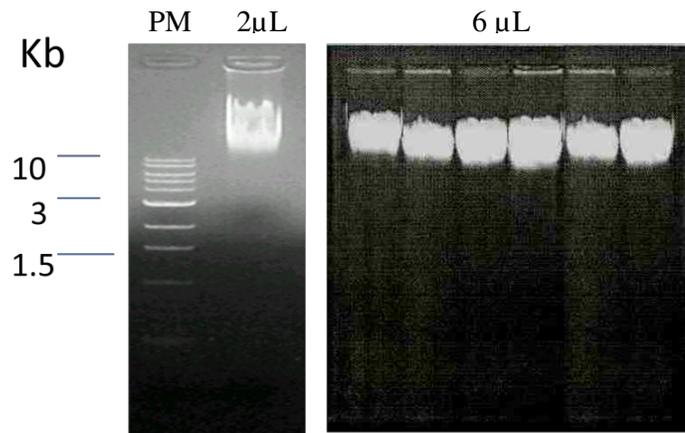


figura 9. Gel de agarosa 1%. DNA genómico

8. Discusión

La finalidad de este estudio fue investigar la posible asociación entre la concentración de coceptina con la declinación de la función renal en una población diabética tipo 2, en los diferentes estadios de la enfermedad renal y sin daño renal. La regulación de coceptina en este estudio parece ser consistente con la fisiología normal, ya que se encontró una asociación positiva entre la osmolaridad plasmática efectiva y la concentración de coceptina ($r=0.100$; $p=0.030$). Con respecto a la pregunta de investigación se encontró que una elevada concentración de coceptina se asocia con la declinación de la función renal en esta población; esto es acorde con lo reportado por Meijer *et al* (35) donde la coceptina fue asociada con cambios en la TFG en pacientes receptores de trasplante renal y por Malyszko *et al* (64) en pacientes receptores de trasplante de corazón y riñón.

En este estudio se encontró que la concentración de coceptina en pacientes con DM2 y en diferentes estadios de enfermedad renal, fue más alta en hombres (1.92 ± 1.15 ng/mL) que en mujeres (1.65 ± 0.85 ng/mL) ($p=0.007$), de acuerdo con reportes previos (22, 24, 25).

La concentración plasmática de coceptina en pacientes con DM2 con una TFG >60 mL/min [estadio (E) 1 y 2 ERC] estimada por Cockcroft-Gault ($n=279$) fue 1.37 ± 0.57 ng/mL, en pacientes en estadio 3 ERC con TFGe de 30-59 mL/min fue 1.6 ± 0.81 ng/mL. No hubo diferencia significativa en la concentración de coceptina entre los estadios 1-3 ERC y sin ERC. Entre los grupos en estadio 4 y 5 con una TFGe de 29-15 y <15 mL/min respectivamente [coceptina (ng/mL) 2.06 ± 0.76 , 2.51 ± 1.33] tampoco hubo diferencia, mientras que sí se encontró diferencia significativa ($p=0.0001$) para los grupos en estadio 4 y 5 vs 0-3.

Estas concentraciones de coceptina son más altas que los valores reportados en individuos sanos (0.021 ng/mL) (22) y en otras poblaciones con daño renal (64) (E1-2 ERC= 0.88 ± 0.42 ng/mL, E3 ERC= 1.16 ± 0.56 ng/mL y E4= 1.22 ± 0.51 ng/mL). En el caso del estadio 4 ERC la concentración de coceptina plasmática encontrada en este estudio, es el doble de lo reportado por Malyszko *et al*. Valores mayores de

concentración de coceptina en la población estudiada, puede deberse a que la coceptina también se ha asociado con resistencia a la insulina (65) por lo que la población tiene mayor “riesgo” de tener concentración elevada de coceptina, por la diabetes mellitus y la enfermedad renal (24). Se ha descrito previamente que la coceptina se asocia con función renal (24) y la razón de este fenómeno es aún desconocido. Se ha hipotetizado que la concentración coceptina es consecuencia de un menor aclaramiento, porque la AVP (y también la coceptina) es aclarada en un 25% por los riñones (14, 66); a pesar de ser poco probable esta hipótesis, porque mecanismos de retroalimentación negativa pueden reducir la tasa de secreción de la hormona y regresarla a concentraciones normales (asumiendo que el efecto en el órgano blanco no es reparado) en el presente estudio se quiso probar si la coceptina es filtrada por hemodiálisis ya que las características químicas y físicas de la molécula la hacen factible de filtrarse (22). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la concentración plasmática de coceptina pre y post-hemodiálisis (2.08 ± 1.04 ng/mL vs 2.00 ± 0.63 , $t=0.622$; $p=0.536$) en un grupo de 62 pacientes, lo que sugiere que otros mecanismos están implicados en la elevación de la coceptina plasmática y que lo más probable es que no es consecuencia de un menor aclaramiento.

Estudios en animales de experimentación, en efecto sugieren que una alta concentración de AVP causa una acelerada declinación de la función renal (30), esto es también consistente con lo reportado por Meijer en pacientes receptores de trasplante renal (35). También se ha determinado que una reducción de la concentración plasmática de la AVP retarda la progresión del daño renal en ratas con ERC (67), mientras que la infusión crónica de 1-desamino 8-D- arginina vasopresina (agonista del receptor V2-AVP) induce proteinuria y un aumento de la creatinina sérica en ratas (68).

Un análisis retrospectivo del estudio MDRD muestra que pacientes con enfermedad renal crónica, con un alto volumen urinario y una baja osmolaridad urinaria, fue asociado con una rápida declinación de la tasa de filtración glomerular (69). Los autores sugieren dos posibles explicaciones para esta relación; la primera es que la ingesta excesiva de fluidos puede causar una rápida progresión de la enfermedad renal, lo cual es contrastante con lo encontrado en este estudio y otros

(35), porque una ingesta excesiva de fluidos es probablemente asociada con una baja concentración de AVP (o copeptina), sin embargo existen mecanismos no osmóticos, que en condiciones normales influyen poco para la secreción de la hormona. La otra explicación es que en lugar de ser la causa, un alto volumen urinario y una baja osmolaridad urinaria sea el resultado de una acelerada declinación de la función renal. Esta explicación es consistente con una de las manifestaciones clínicas de la enfermedad renal, como es la incapacidad de concentrar la orina (70).

Por otro lado, se ha argumentado que efectos desfavorables de la AVP en riñón, se debe en parte a un efecto sobre la presión sanguínea, ya que la arginina-vasopresina puede contribuir a la hipertensión mediante efecto directo sobre músculo liso vascular a través del receptor V1 (71) o mediante receptor V2 dependiente de efectos tubulares (72), tales como la modificación indirecta de la concentración de NaCl en la mácula densa y así influir en la retroalimentación túbulo-glomerular, provocando la liberación de renina, hipertensión, hiperfiltración glomerular, proteinuria y si persiste la estimulación sobre el receptor V2-AVP hipertrofia renal y enfermedad túbulointersticial (73, 74). En este estudio se encontró relación entre la concentración de copeptina y la presión arterial (PAS $r=0.165$; $p=0.0001$ y PAD $r=0.868$; $p=0.0001$), esto sugiere que la AVP está implicada en el aumento de la presión arterial en esta población; en otros estudios no se ha encontrado dicha asociación (35, 64) y han reportado que la asociación entre copeptina y la excreción urinaria de albúmina fue independiente de la presión arterial sistémica (34,35), ellos también reportaron una relación inversa entre copeptina y la función renal (35), como fue encontrado en este estudio. Por otro lado varios estudios han demostrado que citocinas proinflamatorias pueden activar la secreción de AVP (75), la inflamación es una condición presente en la población diabética y además puede inducir una acelerada declinación de la función renal (8). Otro factor que puede contribuir simultáneamente a la secreción de vasopresina y a la declinación de la función renal, es la falla cardíaca (45, 46,76) y en diabetes dos de cada tres pacientes desarrollan insuficiencia cardíaca (6), además el incremento del riesgo cardiovascular en esta población ha sido relacionado con daño endotelial y renal (8). También otros factores no identificados podrían contribuir tanto en la secreción de la AVP como en la

declinación de la función renal, sin embargo como se mencionó previamente en animales de experimentación, la administración de AVP indujo deterioro de la función renal y la intervención con antagonistas del V2-AVP otorgó renoprotección; lo cual sugirió estrictamente que la AVP tuvo un rol causal en la declinación de la función renal en ratas. En la actualidad varios antagonistas selectivos (V1a o V2) y combinados (V1/V2) del receptor de la AVP han sido desarrollados para su uso clínico (77). El uso de estos fármacos puede proveer una valiosa herramienta para determinar si la AVP está relacionada con la declinación de la función renal y si los receptores V1a y V2 son involucrados (35).

La asociación entre copeptina y la declinación de la función renal encontrada en este estudio, tuvo un valor de β estandarizada = -0.468 ($p < 0.0001$) este valor de β relativamente bajo, indica que otros factores pueden contribuir en la declinación de la función renal, por ello se incluyeron varios factores de riesgo conocidos (en población diabética) en el modelo de regresión multivariado tales como edad, sexo, IMC, presión arterial sistémica, glucosa sérica, diuréticos y fármacos antihipertensivos (IECA y ARA2). Después de hacer la corrección de la regresión por estos factores tenemos que el valor de β estandarizada de copeptina es -0.365 ($p < 0.0001$), que en comparación con otros factores conocidos que intervienen en la declinación de la función renal como es la presión arterial y la glucosa, encontramos que el valor de r de estas asociaciones es similar o incluso menor.

9. Conclusión:

La copeptina fue asociada independientemente con la declinación de la función renal en pacientes con DM2. Esto sugiere que la AVP puede tener un rol en la declinación de la función renal. Se requieren estudios adicionales para identificar qué mecanismos se encuentran involucrados y para determinar si este péptido es un marcador de mortalidad por enfermedad cardiovascular.

10. Perspectivas

Se creará una cohorte de subpoblación de estudio de pacientes con nefropatía diabética que por clínica y ecocardiografía se diagnostique con Enfermedad Cardiovascular a la cual se le dará seguimiento durante dos años para establecer si la copeptina plasmática se asocia como factor de riesgo para mortalidad por ECV en esta población.

11. Anexos

(Anexo 1)

Clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica (ERC) por las guías K/DOQI 2002 de la National Kidney Foundation.

Estadio	Descripción	FG (mL/min/1.73 m ²)
-----	Riesgo aumentado de ERC	≥60 con factores de riesgo*
1	Daño renal † con FG normal	≥90
2	Daño renal † con FG ligeramente disminuido	60-89
3	FG moderadamente disminuido	30-59
4	FG gravemente disminuido	15-29
5	Fallo renal	< 15 ó diálisis

FG: Filtrado glomerular

* **Factores de riesgo de ERC:** edad avanzada, historia familiar de ERC, hipertensión arterial, diabetes, reducción de masa renal, bajo peso al nacer, enfermedades autoinmunes y sistémicas, infecciones urinarias, litiasis, enfermedades obstructivas de las vías urinarias bajas, uso de fármacos nefrotóxicos, razas afroamericana y otras minoritarias en Estados Unidos y bajo nivel educativo o social.

† **Daño renal:** alteraciones patológicas o marcadores de daño, fundamentalmente una proteinuria/albuminuria persistente (índice albúmina/creatinina > 30 mg/g aunque se han propuesto cortes sexo-específicos en > 17 mg/g en varones y 25 mg/g en mujeres); otros marcadores pueden ser las alteraciones en el sedimento urinario y alteraciones morfológicas en las pruebas de imagen.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 1602

FECHA 11/06/2010

Estimado CLETO ALVAREZ AGUILAR

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle que, el protocolo de investigación en salud presentado por usted, cuyo título es:

VALOR PREDICTIVO DE COPEPTINA EN LA DECLINACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

fue sometido a consideración del Comité Local de Investigación en Salud, quien de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética médica y de investigación vigentes, por lo que el dictamen emitido fue de: **AUTORIZADO**.

Habiéndose asignado el siguiente número de registro institucional

No. de Registro
R-2010-1602-9

Atentamente

Dr(a). Mario Alberto Martínez Lemus
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud Núm 1602

IMSS

SECRETARÍA DE SALUD Y COORDINACIÓN GUBERNAMENTAL

(Anexo 3)



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL NO. 1
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN
PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Morelia, Michoacán a:

de:

del 2011

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:
“Valor predictivo de copeptina en la declinación de la función renal en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.”

Registrado ante el Comité Local de Investigación en Salud Núm 1602 con número de registro Institucional: R-2010-1602-9

El objetivo del estudio es: Evaluar la asociación entre la concentración plasmática de copeptina con la declinación de la función renal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Se me ha informado que mi participación consistirá en acudir a la unidad de Investigación en epidemiología Clínica a las 6:30 a. m. para una extracción de sangre venosa (12 ml en total, equivalente a 2.5 cucharadas soperas) para la realización de los siguientes estudios: química sanguínea, perfil de lípidos, electrolitos séricos, copeptina plasmática y extracción de DNA (material genético).

Se me ha informado que esta investigación, según la Ley General de Salud se considera de riesgo mínimo. (p.424, Capítulo I, Artículo 17, Ley General de Salud).

Todas muestras serán tomadas con material estéril, desechable y por personal ampliamente capacitado. Se me ha informado que adicionalmente se me realizará un interrogatorio de mis antecedentes directos y de mi familia y una exploración física que servirá para realizar mi historia clínica. Se centrará más sobre si tengo antecedentes de familiares con diabetes, hipertensión, enfermedades del corazón y si tabaquismo. Estos antecedentes serán investigados también en mi persona.

El investigador responsable me ha informado sobre los posibles riesgos, inconvenientes y beneficios derivados de mi participación en el estudio, así como al acceso a mis resultados y se ha comprometido a responder a cualquier pregunta y aclararme dudas que le plantee acerca de mi participación o cualquier asunto relacionado con la investigación.

También se me ha informado que en caso de yo solicitarlo, las muestras sanguíneas que se obtengan de mi persona serán desechadas.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento.

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

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

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de dudas o preguntas relacionadas con el estudio:

QFB. María de la Luz Villela Torres Cel:

Tel:

Nombre y firma del paciente o de su representante legal

Nombre y firma del Investigador responsable

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma del testigo 2

(Anexo 4)



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL NO. 1
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN
PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Morelia, Michoacán a:

de:

del 2011

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:
“Valor predictivo de copeptina en la declinación de la función renal en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.”

Registrado ante el Comité Local de Investigación en Salud Núm 1602 con número de registro Institucional: R-2010-1602-9

El objetivo del estudio es: Evaluar la asociación entre la concentración plasmática de copeptina con la declinación de la función renal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Se me ha informado que mi participación consistirá en acudir a la Clínica Fresenius ó UMA según me corresponda, en mi horario habitual para mi sesión de hemodiálisis, para una extracción de sangre venosa (13 ml en total, equivalente a 2.5 cucharadas soperas) tomada al momento de la conexión de mi acceso vascular, para la realización de los siguientes estudios: química sanguínea, perfil de lípidos, electrolitos séricos, copeptina plasmática y extracción de DNA (material genético).

Se me ha informado que esta investigación, según la Ley General de Salud se considera de riesgo mínimo. (p.424, Capítulo I, Artículo 17, Ley General de Salud).

Todas muestras serán tomadas con material estéril, desechable y por personal ampliamente capacitado. Se me ha informado que adicionalmente se me realizará un interrogatorio de mis antecedentes directos y de mi familia y una exploración física que servirá para realizar mi historia clínica. Se centrará más sobre si tengo antecedentes de familiares con diabetes, hipertensión, enfermedades del corazón y si tabaquismo. Estos antecedentes serán investigados también en mi persona.

El investigador responsable me ha informado sobre los posibles riesgos, inconvenientes y beneficios derivados de mi participación en el estudio, así como al acceso a mis resultados y se ha comprometido a responder a cualquier pregunta y aclararme dudas que le plantee acerca de mi participación o cualquier asunto relacionado con la investigación.

También se me ha informado que en caso de yo solicitarlo, las muestras sanguíneas que se obtengan de mi persona serán desechadas.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento.

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

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

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de dudas o preguntas relacionadas con el estudio:

QFB. María de la Luz Villela Torres Cel:

Clínica Fresenius Tel:

Nombre y firma del paciente o de su representante legal

Nombre y firma del Investigador responsable

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma del testigo 2

12. Referencias

1. Schieppaty A, Remuzzi G. Chronic renal disease as a public health problem: Epidemiology, social, and economic implications. *Kidney Int* 2005; 68 (Suppl 98):S7-S10.
2. United States Renal Data System. *USRDS 2007 Annual Data Report*. Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services; 2007.
3. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. *National Diabetes Statistics, 2007*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2008.
4. Encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000), Instituto Nacional de *Salud*.
5. Amato D, Álvarez-Aguilar C, Castañeda-Limonés R, *et al*. Prevalence of kidney disease in an urban Mexican population. *Kidney Int* 2005; 68 sup 97:S11-S17.
6. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, *et al*. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 399:229-234.
7. Gross JL, de Azebedo MJ, Silveiro SP, *et al*. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005; 28:164-176.
8. Meijer C, Clodi M, Neuhold S, *et al*. Endothelial Markers May Link Kidney Function to Cardiovascular Events in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:1890-1895.
9. Bankir L. Antidiuretic action of vasopressin: Quantitative aspects and interaction between V1a and V2 receptor-mediated effects. *Cardiovasc Res* 2001; 51:372-390.
10. Ridell DC, Mallonee R, Philips JA, *et al*. Chromosomal assignment of human sequences encoding arginine vasopressin-neurophysin II and growth hormone releasing factor. *Somat cell Mol Genet* 1985; 11:189:195
11. Robertson GL. The regulation of vasopressin function in health and disease. *Prog horm Res* 197; 33:333-385.

12. Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells. *Prog Neurobiol* 1999; 57:625-655.
13. Chauvet MT, Chauvet J, Acher R. Guinea pig copeptin: The glycopeptides domain of the vasopressin precursor. *Febs letters*. 1986; 197:169-170.
14. Robertson GL. Antidiuretic hormone. Normal and disordered function *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001; 30:671-694.
15. Baumann G, Dingman JF. Distribution, blood transport, and degradation of antidiuretic hormone in man. *J Clin Invest* 1976; 57:1109-1110.
16. Morgenthaler NG, Struck J, Jochberger S, *et al*. Copeptin: Clinical use of a new marker. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19:43-49.
17. Kwon TH, Hager H, Nejsum LN, *et al*. Physiology and pathophysiology of renal aquaporins. *Semin Nephrol* 2001; 21 (3): 231-238.
18. Birnbaumer M, Vasopressin receptors. *Trends Endocrinol Metab*. 2000; 11:406-410.
19. Morel A, O' Carroll AM, Brownstein MJ, *et al*. Molecular cloning and expression of a rat V1a arginine vasopressin receptor. *Nature*.1992; 356:523-526.
20. Folny V, Raufaste D, Lukovic L, *et al*. Pancreatic vasopressin V1b receptors: characterization in In-R1-G9 cells and localization in human pancreas. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003, 285: E566-E576.
21. Holmes CL, Landry DW, GratnJT. Science review: vasopressin and the cardiovascular system part 1: receptor physiology. 1998; 139:3220-3226.
22. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of the vasopressin. *Clin Chem* 2006; 52:112-119.
23. Holwerda DA, A glycopeptide from the posterior lobe a pig pituitaries. I. Isolation and characterization. *Eur J Biochem*. 1972; 28:334-339.
24. Bhandari SS, Loke I, Davies JE, *et al*. Gender and renal function influence plasma levels of copeptin in healthy individuals. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116:257-263.
25. Szinnai G, Morgenthaler NG, Berneis K, *et al*. Changes in plasma copeptin, the c terminal portion of arginine vasopressin during water deprivation and excess in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3973.

26. Morgenthaler NG. Copeptin: A Biomarker of Cardiovascular and Renal Function. *CME*. 2010;1:S37-S44.
27. Arnlöv J, Evans JC, Meigs JB, *et al*. Low-grade albuminuria and incidence of cardiovascular disease events in nonhypertensive and nondiabetic individuals: The Framingham Heart study. *Circulation* 2005; 112:969-975.
28. Bouby N, Ahloulay M, Nsegbe E, *et al*. Vasopressin increases glomerular filtration rate in conscious rats through its antidiuretic action. *J Am Soc. Nephrol* 1996; 7:842-851.
29. Bardoux P, Bichet DG, Martin H, *et al*. Vasopressin increases urinary albumin excretion in rats and humans : involvement of V2 receptors and the rennin-angiotensin system. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:497-506.

30. Bankir L, Trinh-Trang-Tan MM. Urea and the kidney. In: Brenner BM, ed. The kidney. Philadelphia, Saunders Company 2000, p 637.
31. Okada H, Suzuki H, Kanno Y, *et al*. Effects of vasopressin V1 and V2 receptor antagonists a progressive renal failure in rats. *Clin Sci (Lond)* 1994; 86:399-404.
32. Bardoux P, Bruneval P, Heudes D, *et al*. Diabetes-induced albuminuria: Role of antidiuretic hormone as revealed by chronic V2 receptor antagonism in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1755-1763.
33. Fernández S, Bruneval P, Hagege A, *et al*. Chronic V2 vasopressin receptor stimulation increases basal blood pressure and exacerbates deoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Endocrinology*. 2002; 143:2759-2766.
34. Meijer E, Bakker SJL, Halbesma N, *et al*. Copeptin, a surrogate marker of vasopressin, is associated with microalbuminuria in a large population cohort. *Kidney International* 2009; 77:29-36.
35. Meijer E, Bakker SJL, Jong PE, *et al*. Copeptin, a Surrogate Marker of Vasopressin, Is Associated with Accelerated Renal Function Decline in Renal Transplant Recipients. *Transplantation* 2009; 88:561-567.
36. Dunser MW, Schmittinger CA, Torgersen C. Copeptin and the transplanted kidney: friends or foes? *Transplantation*. 2009; 88:455-456.

37. Fenske W, Wanner C, Allolio B, *et al.* Copeptin levels associate with cardiovascular events in patients with ESRD and type 2 diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol.* 2011 4:782-90.
38. Lindner KH, Strohmer HU, Ensinger H, *et al.* Stress hormone response during and after cardiopulmonary resuscitation. *Anesthesiology.* 1992; 77: 662-668.
39. Krismer AC, Wenzel V, Stadlbauer KH, *et al.* vasopressin during cardiopulmonary resuscitation: a progress report. *Crit Care Med.* 2004; 32: S432-S435.
40. Mutlu GM, Factor P. Role of vasopressin in the management of septic shock. *Intensive care med.* 2004; 30:1276-1291.
41. Wenzel V, Krismer AC, Arntz HR, *et al.* A comparison of vasopressin and epinephrine for out-of-hospital cardiopulmonary resuscitation. *N Engl J Med* 2004; 350:105-113.
42. Dunser MW, Mayr AJ, Ulmer H, *et al.* arginine vasopressin in advanced vasodilatory shock: a prospective, randomized, controlled study. *Circulation.* 2003; 107:2313-2319.
43. Guignant C, Voirin N, Venet F, *et al.* Assessment of pro-vasopressin and pro-adrenomedullin as predictors of 28-day mortality in septic shock patients. *Intensive Care Med* 2009; 35: 1859-1867.
44. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, *et al.* C-Terminal Provasopressin (Copeptin) as a Novel and Prognostic Marker in Acute Myocardial Infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) Study. *Circulation.* 2007; 115:2103-2110.
45. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, *et al.* Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54:60-68.
46. Neuhold S, Huelsmann M, Strunk G, *et al.* Comparison of copeptin, B-type Natriuretic Peptide, and Amino Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Patients with Chronic Heart Failure: Prediction of death at different stages of the disease. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52:266-272.
47. Voors AA, Haehling S, Anker S, *et al.* C-terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *European Heart Journal* 2009; 30: 1187-1194.

48. Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, *et al.* Copeptin: a novel independent prognostic marker in patients with ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2009; 66:799-808.
49. Konstam MA, Gheorghiade M, Burnett JC Jr, *et al.* Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial. *JAMA.* 2007; 297:1319-1331.
50. Gheorghiade M, Konstam MA, Burnett JC Jr, *et al.* Short-term clinical effects of tolvaptan, an oral vasopressin antagonist, in patients hospitalized for heart failure: the EVEREST Clinical Status Trials. *JAMA.* 2007; 297:1332-1343.

51. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, *et al.* Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32:853-906.
52. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, *et al.* Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003; 42:1050-1065.
53. Luz Elena Ortega-Pierres, Anel Gómez-García, Ernesto Rodríguez-Ayala, *et al.* Polimorfismo inserción/delección del gen de la enzima convertidora de la angiotensina en una población mexicana con nefropatía diabética. *Med Clin* 2007; 129:6-10.

54. Cleto Alvarez-Aguilar, María Lucía Enríquez-Ramírez, Benigno Figueroa-Núñez, *et al.* Association between angiotensin-1 converting enzyme gene polymorphism and the metabolic syndrome in a Mexican population. *Exp Mol Med* 2007; 39:327-334.

55. Bonaca M y Morrow D. Defining role for novel biomarkers in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2008; 54. 9: 1424-1431.
56. Carr SJ, Bavanandan S, Fentum B, *et al.* Prognostic potential of brain natriuretic peptide (BNP) in predialysis chronic kidney disease patients. *Clin Sci* 2005; 109:75-82.

57. Miller VM, Redfield MM, McConnell JP. Use of BNP and CRP as biomarkers in assessing cardiovascular disease: diagnosis versus risk. *Curr Vasc Pharmacol* 2007; 5:15-25.
58. Paniagua R, Amato D, Mujais S, *et al.* Predictive value of brain natriuretic peptides in patients on peritoneal dialysis: results from the ADEMEX Trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 407-415.
59. Wenzel V, Mayr AJ, Hasibeder WR. Management of vasodilatory shock: Refining the role of arginine vasopressin. *Drugs* 2003;63:256
60. Genenhuber A, Struck J, Dieplinger B, *et al.* Comparative evaluation of B-type natriuretic peptide, mid-regional pro-A-type natriuretic peptide, mid-regional pro-adrenomedullin, and copeptin to predict 1-year mortality, in patients with acute destabilized heart failure. *J Card Fail* 2007; 3:2-49.
61. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (2Suppl 1):S1-S266.
62. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16:31-41.
63. Leyva JR, Álvarez A, Molina G. Función renal en diabéticos tipo 2, determinada por la fórmula de Cockcroft-Gault y depuración de creatinina. *Revista Médica del IMSS* 2004; 42:5-10.
64. Malyszko J, Przybylowski P, Koc-Zorawska E, *et al.* Copeptin in relation to New York Heart Association Class in heart transplant recipients and kidney transplant recipients. *Elsevier Transplantation Proceedings* 2010; 42:4259-4262.
65. Enhörning S, Tomas J, Nilsson P, *et al.* Plasma copeptin and the risk of diabetes mellitus. *Circulation*. 2010; 121:2102-2108.
66. Ros p, Barrio R. enfermedades endócrinas de la hipófisis posterior. En *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. Argente Carrascosa García, Rodríguez hierro, ed. Doyma, Barcelona. 2000; 579-597.
67. Bouby N, Bachmann S, Bichet D, *et al.* Effect of water intake on the progression of chronic renal failure in the 5/6 nephrectomized rat. *Am J Physiol* 1990; 258:F973.
68. Bouby N, Hassler C, Bankir L. Contribution of vasopressin to progression of chronic renal failure: Study in Brattleboro rats. *Life Sci*. 1999; 65:991-994.

69. Hebert LA, Greene T, Levey A, *et al.* High urine volume and low urine osmolarity are risk factors for faster progression of renal disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 41:962.
70. Bricker NS, Dewey RR, Lubowitz H, *et al.* Observations on the concentrating and diluting mechanisms of the diseased kidney. *J Clin Invest* 1959; 38:516.
71. Cowley AW, Sekelton MM, Kurth TM. Effects of long-term vasopressin receptor stimulation on medullary blood flow and renal pressure. *Am J Physiol* 1998; 275: R1420.
72. Sauter D, Fernandes S, Goncalves M, *et al.* Lon-term effects of vasopressin on the subcellular localitation of ENaC in the renal collecting system. *Kidney Int* 2006; 69:1024-1027.
73. Bankir L, Trinh- Trang-Tan MM. Urea and the kidney. In: Brenner BM, ed. *The kidney*. Philadelphia, Saunders Company 2000, p 637.
74. Sugiura T, Yamauchi A, Kitamura H, *et al.* High water intake ameliorates tubulointerstitial injuri in rats with subtotal nephrectomy: Possible role of TGF-beta. *Kidney Int* 1999; 55: 1800.
75. Chikanza IC, Petrou P, Chrousos G. Perturbations of arginine vasopressin secretion during inflamatori stress. Pathophysiologic implications. *Am N Y Acad Sci* 2000; 917: 825.
76. Stoiser B, Mortl D, Hulsmann M, *et al.* copeptin a fragment of vasopressin precursor as a novel predictor of outcome in heart failure. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 771.
77. Decaux G, Soupart a, Vassart G. Non-peptide arginine-vasopressin antagonists: The vaptans. *Lancet* 2008; 371:1624.