

# Radicales Libres y sistema antioxidante en pacientes con IRC en tratamiento con hemodiálisis.

M<sup>ª</sup> Teresa Bermejo Sánchez

Fundación Renal "Íñigo Álvarez de Toledo"  
Unidad de Hemodiálisis "El Castañar"  
Béjar (Salamanca)

## RESUMEN:

El papel que desempeñan los radicales libres es un posible factor patogénico en la progresión del fallo renal crónico. La información que se tiene sobre el comportamiento de estos radicales libres durante la hemodiálisis es escasa, y lo conocido, proviene principalmente, del papel que desempeña la superóxido dismutasa (SOD), enzima intracelular antioxidante.

Se sabe, que durante la primera hora de hemodiálisis hay un aumento en la producción de radicales libres, lo que produce un aumento de la morbi-mortalidad (más acentuado en mayores de 65 años de edad) a nivel cardiovascular, ya que estos radicales libres son sustancias lesivas que afectan a todos los órganos, pero fundamentalmente al corazón y a los vasos.

Este trabajo trata de evaluar el comportamiento del metabolismo oxidativo en 25 pacientes de ambos sexos, mayores y menores de 65 años de edad, en hemodiálisis crónica y tratados con membranas de diferente grado de compatibilidad, en dos unidades periféricas de hemodiálisis (Centro "El Castañar" en Béjar y Centro "Las Encinas" en Ciudad Rodrigo).

De los resultados, que se obtuvieron en tres momentos diferentes de la hemodiálisis (comienzo, a los 60 minutos y al final de la hemodiálisis), podemos concluir: que el sexo no interviene de manera significativa en la producción de radicales libres; que la menor producción de radicales se puede relacionar con la mejor biocompatibilidad de las membranas de hemodiálisis utilizadas; que las sustancias antioxidantes (TAS) van a disminuir en la primera hora de hemodiálisis, para neutralizar el efecto de los diferentes productos derivados de las peroxidaciones (MDA) y que esta disminución de los TAS, es menor en mayores de 65 años que en menores de 65 años de edad.

## PALABRAS CLAVE:

HEMODIÁLISIS,  
RADICALES LIBRES (R),  
PRODUCTOS DERIVADOS DE  
PEROXIDACIONES (MDA),  
METABOLISMO OXIDATIVO,  
ANTIOXIDANTES TOTALES (TAS),  
BIOCOMPATIBILIDAD,  
SOD (superóxido dismutasa),  
GPx (glutacion peroxidasa).

## ABSTRACT:

Free radicals (FR) play a role as a possible pathogenic factor in the progression of chronic renal failure. The small amount of information available on the role of FR in haemodialysis comes mainly from the research into superoxide dismutase (SOD), an antioxidant enzyme.

During the first hour of haemodialysis there is an increase of FR production, resulting in an increase of cardiovascular morbi-mortality (more pronounced in pa-

*Correspondencia:*  
M<sup>ª</sup> Teresa Bermejo Sánchez  
Centro de hemodiálisis "El Castañar"  
C/ Arco Del Monte, 3  
37700 Béjar  
(Salamanca)

tients over 65 years-old) because FR damage to all organs, particularly the heart and the blood vessels.

This study evaluates the oxidative metabolism in 25 patients (both sexes, under and over 65 years-old) under chronic haemodialysis and treated with membranes of different degrees of compatibility in haemodialysis peripheral Units (Center "El Castañar" in Bejar, and Center "Las Encinas" in Ciudad Rodrigo). Results were obtained at three different times of haemodialysis (at the beginning, at 60 min, and at the end of the procedure). We conclude that: (i) sex does not play a significant role in FR production, (ii) lower production of FR correlates with a better biocompatibility of haemodialysis membranes, (iii) antioxidants decrease during the first hour which neutralises the effect of products derived from peroxidations (MDA), and (iv) this decrease of antioxidants is less in patients over 65 years than in patients over 65 years.

**KEY WORDS:** HAEMODYALYSIS, FREE RADICALS, PEROXIDATION-DERIVED PRODUCTS (MDA), OXIDATIVE METABOLISM, BIOCOMPATIBILITY, SOD (SUPEROXIDE DISMUTASE), GPx (GLUTATION PEROXIDASE)

## INTRODUCCIÓN

El tratamiento sustitutivo con hemodiálisis produce una serie de alteraciones a nivel hemodinámico y cardiaco en los pacientes, y el conocido aumento en la formación de radicales libres durante la misma, incrementa el riesgo cardiovascular intradialítico, sobre todo en mayores de 65 años de edad.

Estudios previos demuestran que con membranas de cuprofan (membranas muy poco biocompatibles), se produce un aumento de los radicales superóxido en la HD; siendo más acusado en los pacientes mayores de 65 años de edad.

Las nuevas membranas, como la polisulfona y el AN69 (membranas de hemodiálisis muy biocompatibles) tienen una mejor tolerancia.

Por todo esto se ha efectuado el presente estudio, cuyo objetivo ha sido evaluar el comportamiento del metabolismo oxidativo con las diferentes membranas que se utilizan en los dos centros de hemodiálisis de Béjar ("El Castañar") y Ciudad Rodrigo ("Las Encinas"), pertenecientes a la Fundación Renal "Íñigo Álvarez De Toledo".

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Selección de pacientes y datos demográficos

Para la realización del presente trabajo, se han estudiado 25 enfermos con IRC de las unidades de HD de Béjar y Ciudad Rodrigo, pertenecientes a la "Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo".

A cada paciente se le asignó un número, del 1 al 12 en la unidad de Béjar, y del 1' al 13' en la unidad de Ciudad Rodrigo.

De estos 25 pacientes, el 75% fueron varones y el 25% fueron mujeres en la unidad de Béjar, y el 69.2% fueron varones y el 30.8% mujeres en la unidad de Ciudad Rodrigo.

El estudio se llevó a cabo con pacientes cuyas edades estaban comprendidas entre los 37 y los 79 años de edad, con una media de 59.75+15.35 en Béjar y de 61.15+15.54 en Ciudad Rodrigo y con una estancia media en HD de 9.09 años. No se produjo abandono de ningún paciente durante el tiempo de estudio.

En cada paciente se tuvo en cuenta su diagnóstico base, así como el tipo de membrana que estaban utilizando en el momento del estudio.

#### • Diagnósticos en Béjar

DMID: 8.3%, Glomerulonefritis: 8.3%, Nefroangiosclerosis: 25% Nefocalcinosi: 8.3%, Etiología no filiada: 25%, Nefropatía túbulo intersticial: 25%.

#### • Diagnósticos en Ciudad Rodrigo

DMID: 15.4%, Glomerulonefritis: 7.7%, Nefroangiosclerosis: 23.1%, Nefocalcinosi: 7.7%, Etiología no filiada: 23.1%, Nefropatía túbulo intersticial: 23.1%

#### • Membranas en Béjar

AN69: 33.3%. Diacetato de celulosa: 8.3%. Polietersulfona: 8.3%. Triacetato de celulosa: 50%.

#### • Membranas en Ciudad Rodrigo

AN69: 30.8%. Diacetato de celulosa: 7.7%. Polietersulfona: 7.7%. Triacetato de celulosa: 53.8%.

## Recogida de Muestras

La recogida de las muestras se llevó a cabo de igual manera en ambos centros. De cada paciente se extrae una muestra de sangre de la siguiente forma:

- Antes de iniciar la sesión de HD.
- A los 60 minutos de la HD.
- Al finalizar la sesión de HD.

La sangre se extrae, en todos los pacientes, de la rama arterial en la zona de punción más próxima a la FAVI (fístula arteriovenosa).

### Rotulación de las Muestras

Una vez extraídas las muestras de sangre de cada paciente, se procede a la rotulación de los tubos.

Cada paciente, en sus tubos de muestras sanguíneas llevarán el número asignado en un principio, añadiendo un asterisco al de la primera hora y dos asteriscos al del final de la HD.

Una vez rotulados los tubos, se guardan en un frigorífico a la temperatura de aproximadamente 5° C hasta su traslado al hospital "Virgen de la Vega", donde se prepararán y analizarán las muestras.

### Petición de pruebas

A cada uno de los pacientes se le piden las siguientes pruebas:

- Htco y Hb
- SOD (superóxido dismutasa)
- GPx (glutatión peroxidasa)
- TAS (antioxidantes totales)

### Técnicas de estudio

Técnicas de RANDOX laboratorios (Ltd; Ardmore, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim. United Kingdom, BT 294Qy.)

El MDA se analiza con un espectrofotómetro Hitachi U-1100, midiendo la absorbancia a 586 nm, y el resto, (SOD;GPx y GR), con un Analizador Cobas Farall (Roche, Suiza), a una temperatura de 37° C.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS versión 9.0., una hoja de cálculo excel y el procesador de textos work.

Los resultados se expresan como media ± la desviación estandar.

Se considera la significación estadística para P< 0.05.

### RESULTADOS

#### Resultados en la formación de R, al comienzo de la HD, a la hora y al final de la HD.

Las medias obtenidas en los resultados de los dos centros, se expresan en la tabla nº 1. Estas medias nos sirven para validar la metodología utilizada, ya que encontrándose los centros en dos zonas geográficas diferentes, los resultados son similares y nos validan el contar con una muestra bastante homogénea.

	TAS	TAS	TAS	SOD	SOD	SOD	GPx	GPx	GPx	GR	GR	GR	MDA	MDA	MDA
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Béjar	1.70	1.33	1.26	244.1	139.4	185.2	47.4	28.7	39.0	69.5	54.4	51.0	1.88	2.24	1.62
C. Rodrigo	1.68	1.32	1.25	241.6	138.0	184.1	47.5	28.2	39.0	68.9	53.1	49.2	1.87	2.22	1.60

Los nº 1,2 y 3 equivalen a los tres momentos diferentes de la HD en los que extrajeron las muestras.

En las tablas 2 y 3, se pueden observar los resultados por individuos de las diferentes enzimas oxidantes del estudio.

Si se observan los resultados de los TAS del grupo (figura nº 1) se puede ver una gráfica en escalera descendente, es decir, a lo largo de la hemodiálisis se van a consumir gran cantidad de sustancias antioxidantes, necesarias para neutralizar la acción de los R, lo que se puede traducir, en una desprotección del organismo ante estas sustancias lesivas, durante el periodo dialítico. Esta disminución de

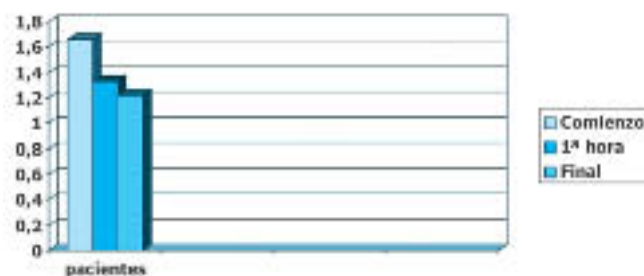


Figura 1: Medias de los TAS: (comienzo: 1.66±0.11; 1ª hora: 1.33±0.11; final: 1.22±0.107)

*Tabla 2*  
*Valores de TAS, SOD, GPx, GR y MDA, en la unidad de Béjar*

	TAS	TAS	TAS	SOD	SOD	SOD	GPx	GPx	GPx	GR	GR	GR	MDA	MDA	MDA
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	1.57	1.31	1.28	147	91	179	43	28	37	71	62	51	1.75	2.15	1.40
2	1.77	1.65	1.45	187	96	144	41	30	35	79	62	60	2.18	2.06	1.21
3	1.67	1.35	1.15	274	109	180	43	27	39	66	50	44	1.80	2.11	1.76
4	1.58	1.28	1.27	269	170	210	53	31	47	68	53	50	1.77	1.96	1.81
5	1.63	1.21	1.17	272	150	213	43	30	33	66	50	39	1.77	1.52	1.58
6	1.71	1.17	1.11	217	121	176	42	34	39	68	63	53	2.15	2.10	2.00
7	1.76	1.31	1.27	198	115	152	49	27	35	68	50	50	1.98	2.09	1.50
8	1.91	1.41	1.38	217	141	178	53	21	41	74	63	58	1.78	2.10	1.53
9	1.68	1.44	1.32	227	142	162	53	27	45	76	55	62	1.71	1.97	1.43
10	1.57	1.21	1.27	274	111	152	51	29	40	69	48	47	1.76	1.81	1.68
11	1.76	1.37	1.31	310	227	271	49	28	37	65	52	47	1.75	2.07	1.33
12	1.68	1.41	1.38	267	171	211	50	27	39	66	47	52	1.81	1.99	1.70

Los nº 1,2 y 3 equivalen a la entrada en HD, a la hora y a la salida.

*Tabla 3*  
*Valores de TAS, SOD, GPx, GR y MDA, en la unidad de Ciudad Rodrigo.*

	TAS	TAS	TAS	SOD	SOD	SOD	GPx	GPx	GPx	GR	GR	GR	MDA	MDA	MDA
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	1.72	1.15	1.09	218	120	174	42	34	39	69	60	51	2.17	2.10	2.00
2	1.65	1.44	1.30	229	141	112	53	27	42	78	53	67	1.70	1.99	1.42
3	1.74	1.21	1.10	227	110	187	49	37	52	73	48	31	2.17	2.11	1.85
4	1.68	1.44	1.32	227	142	162	53	27	45	70	55	42	1.76	1.89	1.45
5	1.91	1.40	1.32	217	141	178	52	24	36	68	43	31	1.71	1.97	1.43
6	1.68	1.43	1.21	267	171	211	50	29	32	69	40	20	1.78	2.10	1.53
7	1.63	1.21	1.11	227	163	198	49	21	29	60	38	21	1.70	2.00	1.29
8	1.57	1.28	1.25	270	172	211	53	31	45	68	53	50	1.79	1.98	1.83
9	1.63	1.42	1.23	217	141	178	57	19	38	66	50	32	1.81	1.99	1.66
10	1.74	1.41	1.12	270	111	149	62	23	43	70	57	31	1.77	1.96	1.70
11	1.42	1.26	1.11	147	93	180	43	28	36	72	60	19	1.74	1.13	1.39
12	1.57	1.30	1.08	168	112	137	58	21	41	63	41	36	1.78	2.10	1.53
13	1.46	1.21	1.11	211	121	171	49	22	39	62	38	27	1.79	2.00	1.27

Los nº 1,2 y 3 equivalen a la entrada en HD, a la hora y a la salida

sustancias antioxidantes, se produce durante toda la hemodiálisis, pero es bastante mas acusada durante la primera hora.

Obsevando la media de comienzo de los TAS, ( $1.66 \pm 0.11$ ), vemos que la muestra es bastante homogénea y que la media de enfermos comienzan la hemodiálisis con una tasa similar de TAS.

En cuanto a la gráfica de resultados de la SOD (figura nº 2) se puede observar, que también hay una disminución de esta enzima a lo largo de la hemodiálisis en relación con el valor de entrada. Esta disminución sigue siendo mas acusada en la primera hora, y aunque se recupera un poco hacia el final de la sesión, el organismo sigue estando desprotegido frente a la acción de los R. Esta enzima es una de las mas estudiadas en hemodiálisis y de la que si se sabe, que disminuye bastante con membranas de cuprofan.

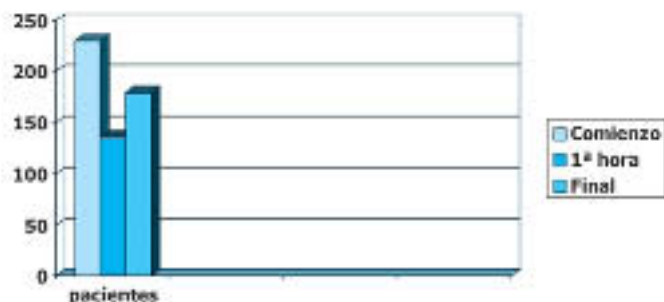


Figura 2: Medias SOD: (comienzo:230.16; 1ª hora: 135.28±31.70; final:179.04±32.01)

En la figura nº 3, se observa la media de resultados de los pacientes en relación con la GPx, enzima que protege del efecto de las peroxidaciones. Esta enzima, al igual que la SOD, disminuye en toda la hemodiálisis, pero aun más en la primera hora, por lo que el organismo durante la sesión queda desprotegido del efecto derivado de las peroxidaciones.

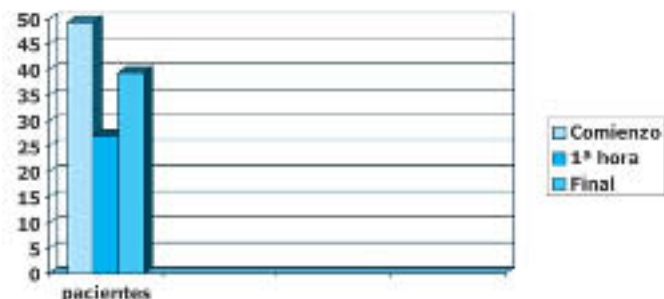


Figura 3: Medias GPx: (comienzo: 49.40±5.60; 1ª hora: 27.08±4.50; final: 39.44±5.03)

La GR (figura nº4), describe también una escalera descendente a lo largo de la sesión de hemodiálisis. Por la misma causa que las anteriores, el organismo ve disminuidas sus defensas ante la acción de los R.

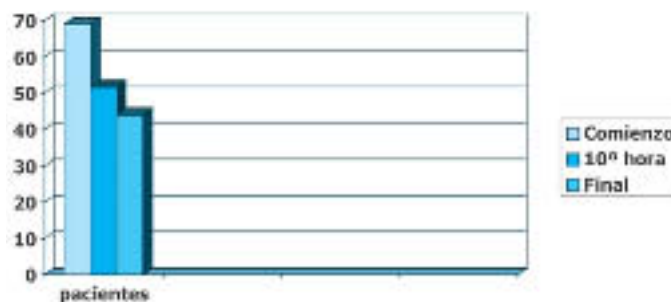


Figura 4: Medias GR: ( comienzo. 68.96±4.61; 1ª hora: 51.64±7.70; final: 44.64±12.64)

El MDA, nos expresa los productos derivados de peroxidaciones lipídicas (figura nº5). En estos resultados, se puede observar un aumento en la primera hora de hemodiálisis, para disminuir significativamente al final. Quizás por esta razón (lo que sería causa de estudios adicionales) los TAS disminuyan notablemente durante la primera hora, para neutralizar el efecto derivado de este aumento de productos derivados de las peroxidaciones lipídicas.

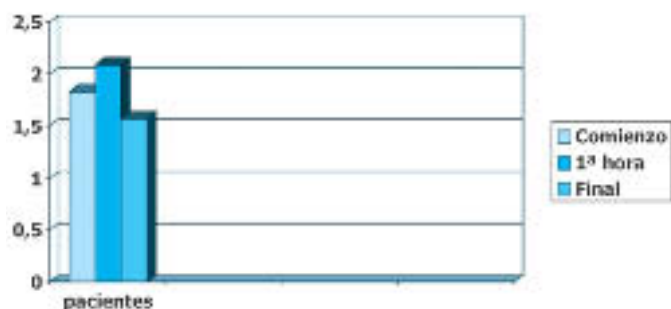


Figura 5: Medias MDA: ( comienzo: 1.83±0.15; 1ª hora: 2.09±0.66; final: 1.57±0.22)

### Resultados según la membrana de hemodiálisis utilizada

Todas las membranas utilizadas en el estudio son membranas muy biocompatibles. Las diferencias halladas entre ellas son mínimas y en ningún momento llegan a ser significativas dentro del estudio. Pero cabe destacar, aunque sin ser significativo, que con el AN-69 hay una menor disminución de la SOD, lo que podría relacionarse con la menor producción de radicales libres por esta membrana y por tanto la mejor biocompatibilidad. Esta diferencia no tiene

relevancia clínica a corto plazo, y se desconoce que la tenga a medio-largo plazo.

### Resultados según la edad de los pacientes

Para comparar resultados por grupos de edad, se dividió a la muestra en dos grupos, mayores y menores de 65 años de edad (15 pacientes mayores de 65 años y 10 menores).

Se compararon TAS y MDA, que es donde se hallaron algunas diferencias, pero sin llegar a ser significativas en ningún momento.

Se observa que en los mayores de 65 años, hay una disminución mayor de TAS, y además, a mayor edad, menor MDA. Según esto, y siempre sin ser significativo, podríamos decir, que la edad si que juega un papel a la hora de proteger al organismo contra los R, por lo que aumentaría la morbimortalidad de estos pacientes, a medida que aumenta la edad.

### Influencia del sexo en la producción de radicales libres

Según los resultados obtenidos, se puede deducir que el sexo no influye de manera significativa en la producción de R.

### DISCUSIÓN

A la vista de los resultados, si nos fijamos en los tres momentos de la HD en los que se obtuvieron las muestras para ver la formación de radicales libres, observamos una disminución a nivel general (en todos los pacientes estudiados y en los dos centros de estudio) durante la primera hora, en lo referente a la SOD, TAS, GPx y GR. En cambio, observando el MDA, vemos un aumento significativo en 17 de los 25 pacientes durante la primera hora, para disminuir importantemente al final de la HD.

Curiosamente, en lo referente a los TAS, en todos los pacientes la disminución es progresiva, es decir, en la primera hora disminuyen, y disminuyen aún más al final de la HD. En cambio, si nos fijamos en la SOD y en la GPx, en todos los pacientes se produce un descenso en la primera hora y un aumento significativo al final de la HD.

La GR, actúa de forma menos uniforme en el conjunto de pacientes. Disminuye también notablemente en la primera hora de la HD en todo el grupo de pacientes, pero en lo referente al final de la HD, en un 90% sigue disminuyendo, en un 5% se mantiene constante y también en un 5% aumenta ligeramente.

El uso de diferentes membranas más o menos biocompatibles, juegan un papel importante a la hora de fijarnos en su relación con la producción de radicales libres.

Las membranas que se utilizan en los dos centros de estudio, son similares y bastante biocompatibles y comparando unas membranas con otras, observamos que el comportamiento radicalario ofrece mínimas diferencias entre ellas, de baja significación, y si hubiera que destacar alguna, nos quedaríamos con el AN69, en la que en lo referente a la SOD, la disminución que se produce, llama más la atención y es mayor que con el resto de membranas utilizadas.

Debido a estos resultados, quizás habría que comparar membranas biocompatibles como las utilizadas en el estudio con menos biocompatibles, y así poder establecer diferencias de interés. Esto, no se ha hecho, ya que en ninguno de los dos centros de estudio se utilizan este último tipo de membranas mencionadas.

Es conocido el alto papel patogénico de los radicales libres en HD, especialmente en pacientes mayores de 65 años, que junto con otros factores de riesgo, elevan mucho el riesgo de complicaciones cardiovasculares intradialíticas.

El presente estudio se fija principalmente en la producción de radicales libres en HD relacionado con la membrana utilizada, así como con la edad de los pacientes.

Según esto, no se puede dar un resultado fiable si se relacionan membranas con edades, ya que no se han obtenido datos significativos en esta relación.

No hay que descartar la importancia que tiene la dieta y un buen estado nutricional en la producción de radicales libres y sistema antioxidante.

Teniendo esto en cuenta, habría que establecer una relación entre la malnutrición de los pacientes y la membrana utilizada, por lo que se necesitarían estudios adicionales para poder responder diferentes cuestiones que se plantearían con esta relación.

### CONCLUSIONES

- Las sustancias antioxidantes TAS, disminuyen durante la primera hora de HD, siendo esto el efecto de neutralizar los diferentes productos derivados de las peroxidaciones (MDA), que aumentan en la primera hora.
- No se produce una influencia importante del sexo en relación con la producción de radicales libres en los pacientes estudiados.
- Los TAS disminuyen menos en los mayores de 65 años que en los menores de 65 años en el grupo de estudio.

- La menor reducción de SOD en el AN69, puede relacionarse con la mejor biocompatibilidad, y por tanto, con la menor producción de radicales inducidos con el uso de estas membranas.

**AGRADECIMIENTOS:**

Macías,J.; López Novoa,J.M.; Sandoval; Cigarrán,S. Personal de Béjar y Ciudad Rodrigo, Fundación Renal "Íñigo Álvarez de Toledo". A todos los pacientes renales, por ser "pacientes", y a Juan.

**BIBLIOGRAFÍA:**

1- JACOB, D.S., KASTEN, B.L., DEMOTT, W.R. AND WOLFSON, W.L., (1990). Laboratory Test Handbook, (2nd Ed.), Lexi. Comp. Inc. USA.

2- JACOB, R.A., (1995). The integrated antioxidant system. Nutrition Research 15, 755-766.

3- LERMA, J.L., TABERNEIRO, J.M.,GASCÓN, A.,DE CASTRO, S. & MACÍA, J.F. Influence of age and hemodialysis on the production of free radicals. Geriatric Nephrology and Urology 5: 93-96, 1995.

4- MACÍAS NÚÑEZ, JL, LERMA, J.L. Influence of hemodialysis and age on free radicals production. XXIX EDTA Congress 1992; 162;A .

5- MARTINEZ-CAYUELA, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. Biochimie 77, 147-161.

6- PAUL, J.L. Et. Al. Lipid peroxidation abnormalities in haemodialyzed patients. Nephron 1993, 64: 106-109.

7- RACEK, J. Et al (1997). Clinical significance of extra and intracellular makers of antioxidant defence. Abstracts frm MEDLAB. 12th IFCC European Congress of Clinical Chesmisty, Basle, Poster A 29.

8- RUMLEY, A.G. AND PATERSON, T.R. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. Ann Clin Biochem 1998, 35: 181-200

9- SMART, D., McCUSTER, C.A., LAMOMT, J.V., FITZ GERALD, S.P., LAPIN, C. AND TEMML, C. (1996). Reference valves for various antioxidant parameters in a normal working population. Poster B548. Proceedings of the XVI Inter, Congress.

10- YOUNG Et. Al (1995). The effects of desferrioxamine and ascorbate on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rat Free Radical. Biol. Med. 18 (5), 833-840.