

Lecitin colesterol aciltransferasa en pacientes con insuficiencia renal crónica en hemodiálisis

C. Bernis, G. Sánchez-Visconti *, V. Alvarez, G. Barril, E. Padilla * y J. A. Traver

Servicio de Nefrología y de * Bioquímica. Hospital de la Princesa. Universidad Autónoma. Madrid.

RESUMEN

Se estudia la actividad de la LCAT en un grupo de 15 pacientes en hemodiálisis y en ocho controles sanos. La LCAT estaba significativamente disminuida en los pacientes ($40,9 \pm 7,7$ nmol/ml/h vs $69 \pm 9,8$, $p < 0,05$). Los triglicéridos estaban elevados ($152,16 \pm 16,9$ vs $88,7 \pm 16,4$, $p < 0,05$), el HDL-colesterol estaba disminuido ($28,3 \pm 1,4$ vs $51,3 \pm 5,6$, $p < 0,05$) y no encontramos diferencias significativas para la Apo A-I. Se objetivó un cociente colesterol total/colesterol HDL y Apo A-I/HDL colesterol aumentados significativamente en el grupo de pacientes. No encontramos correlación entre la LCAT y otras lipoproteínas en los enfermos en hemodiálisis. El tiempo de tratamiento no influyó sobre la actividad de la LCAT ni tampoco la dosis de heparina utilizada. Se objetivó una correlación negativa entre la Apo A-I y el tiempo en hemodiálisis. No se encontraron diferencias significativas para la actividad de la LCAT ni para ninguno de los parámetros estudiados entre el grupo dializado con cuprofan y el dializado con AN-69.

La baja actividad de la LCAT y su disociación de los niveles de triglicéridos es un factor a valorar en la dislipemia de la IRC.

Palabras clave: **Lecifin-colesterol-acil-transferasa. Insuficiencia renal crónica.**

LECITHIN: CHOLESTEROL ACYLTRANSFERASE (LCAT) IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE ON HEMODIALYSIS

SUMMARY

Plasma lipoproteins and lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) were studied in 15 patients on chronic hemodialysis and in 8 normal subjects. Plasma LCAT activity was significantly lower in the patients group (fig. 1) (40.7 ± 7.7 nmol/ml/h versus 69 ± 9.8 , $p < 0.05$). Triglycerides were increased (152.16 ± 16.9 vs 88.7 ± 16.4 , $p < 0.05$), HDL cholesterol was decreased (28.3 ± 1.4 vs 51.3 ± 5.6 , $p < 0.05$) and Apo A-I was within the normal range (fig. 2). In the patients group we found a raised total cholesterol, HDL cholesterol ratio, and a raised Apo-I/HDL cholesterol ratio (fig. 3). We could not find any correlation between LCAT and other lipoproteins in the patients group. The LCAT activity was not improved by time (number of months) on dialysis treatment and was not correlated with the heparin used. The Apo A-I, although within the normal range, had a negative correlation with the months on dialysis treatment (fig. 4).

We also compared the LCAT and lipoproteins in 9 patients dialysed with cuprophane vs 6 patients dialysed with AN-69; they were not significantly different.

A low LCAT activity and a dissociation between triglycerides and LCAT may contribute to the impaired lipolysis previously documented in chronic hemodialysis patients.

Key words: **Cholesterol. Acyltransferase. Chronic renal failure**

Recibido: 16-XII-86.

En versión definitiva: 5-IV-89.

Aceptado: 5-IV-89.

Introducción

En el contexto de las alteraciones del metabolismo lipídico en la insuficiencia renal crónica (IRC), en hemodiálisis (HD) y sus posibles implicaciones como factor de riesgo cardiovascular¹⁻³ tiene gran interés la actividad de la enzima lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT). La LCAT es responsable de la formación de la mayor parte del colesterol esterificado, utilizando como sustrato preferencial el colesterol HDL (HDL-col) y como activador la apolipoproteína A-I (Apo A-I), aunque también otros factores, como los triglicéridos, juegan un papel no aclarado^{1, 4}. En la IRC parecen existir alteraciones de la LCAT en las que se ha implicado el sustrato, los activadores o la presencia de sustancias, «toxinas urémicas» que actúen como inhibidores de la enzima^{1, 5, 6}. En el presente trabajo estudiamos la actividad de la LCAT en pacientes en HD, su relación con las alteraciones del metabolismo lipídico y la posible influencia de factores que pueden modificarse con el tiempo en HD o con el tipo de membrana empleado.

Material y métodos

Se estudian 15 pacientes con IRC en HD, nueve varones y seis mujeres, con edad media 44 ± 15 años. Para evitar interferencias en la valoración del metabolismo lipídico se excluyeron diabéticos, síndrome nefrótico y los tratados con andrógenos o betabloqueantes. Los pacientes eran no bebedores y no fumadores, salvo seis, que fumaban menos de 10 cigarrillos/día. El tiempo medio de tratamiento dialítico fue de 28 meses, con un mínimo de seis y un máximo de 114. La dosis de heparina media utilizada fue de 80 UI/kg/sesión, con variaciones entre 44 y 157. Todos llevaban en el momento del estudio al menos dos meses con la misma pauta de tratamiento sustitutivo. De los 15 pacientes, nueve (cinco varones y cuatro mujeres) recibían tratamiento con membrana de cuprofán, mientras que seis (cuatro varones y dos mujeres) eran tratados con membrana AN-69. En todos el baño era de acetato. Como grupo control se tomaron ocho sujetos sanos (cuatro varones y cuatro mujeres) de edad comparable, 31 ± 11 años.

La extracción se hizo en todos los casos tras ayunas de 12 horas previa a hemodiálisis. La muestra para LCAT se extrajo en baño de hielo con EDTA disódico.

La LCAT se determinó según el método de Dieplinger⁷ modificado⁸, que determina la disminución del colesterol libre (mediante colesterol enzimático de Merck), que se produce en el suero por la actuación de la LCAT, tras incubarlo 40 minutos a 37°C. Este método de colesterol enzimático utiliza un sistema monotest con enzima, detergente y estabilizador,

que bloquea la reacción de la LCAT. La medida del colesterol libre se basa en la formación de H₂O₂ por la colesterol-oxidasa, que pasa el yoduro a yodo que se lee a absorbancias de 365 nm. La extracción de la muestra se realiza con plasma EDTA en baño de hielo, se centrifuga a -4°C y se hacen dos fracciones: una se guarda a 4°C y otra se incuba a 37°C durante 40 minutos, guardándose a continuación a 4°C. Con una pipeta de alta precisión se toman 25 microl de cada fracción y 2 ml de solución de trabajo (colesterol enzimático de Merck), se mezclan y se mide la absorbancia a 365 nm, obteniéndose dos valores para cada plasma E₁ y E₂. La elección del tiempo de lectura a los 40 minutos se debe a que la actividad de la LCAT es máxima y lineal en los primeros 40 minutos^{7, 8}. El cálculo de la LCAT se basa en el cálculo de la razón inicial de esterificación, RIE, esto es, el porcentaje de colesterol esterificado durante la primera hora de incubación:

$$\text{RIE \% hora} = \frac{E_1 - E_2}{E_1} \times 150 \% \text{ h.}$$

El valor de la LCAT en nmol/ml/h = E₁ × 35,2 × RIE. La variación intraensayo fue de un 6 %.

El problema que pudiera tener este método ante situaciones con sustrato patológico ha sido valorado^{7, 8} añadiendo sustrato exógeno con LCAT inactivada por calor, no obteniéndose variaciones en los valores de LCAT.

La cuantificación de la Apo A se realizó por electroforesis en placa de agarosa con antisuero anti-Apo A-I siguiendo la técnica de Laurell⁹, previa incubación del suero con solución salina y sudán negro. El colesterol-HDL se determinó por precipitación de las fracciones LDL y VLDL y valoración del sobrenadante¹⁰. El lipidograma se realizó por electroforesis. El colesterol total y los triglicéridos, mediante SMAC. Dado que cada vez se da mayor importancia a los valores relativos de HDL respecto al colesterol total y de la apo A-I respecto al colesterol HDL^{11, 12}, se calcularon también para cada caso los cocientes colesterol total/colesterol HDL y Apo A-I/colesterol HDL.

En los estudios estadísticos se utilizó la prueba de la t de Student no pareada para la comparación entre grupos. Los resultados se expresan como media ± error estándar. Para las correlaciones se utilizó el método de los mínimos cuadrados.

Resultados

La actividad de la LCAT (fig. 1) fue significativamente más baja en los pacientes en hemodiálisis que en los controles $40,9 \pm 7,7$ nmol/ml/h *versus* $69 \pm 9,8$ nmol/ml/h ($p < 0,05$). La razón de esterificación

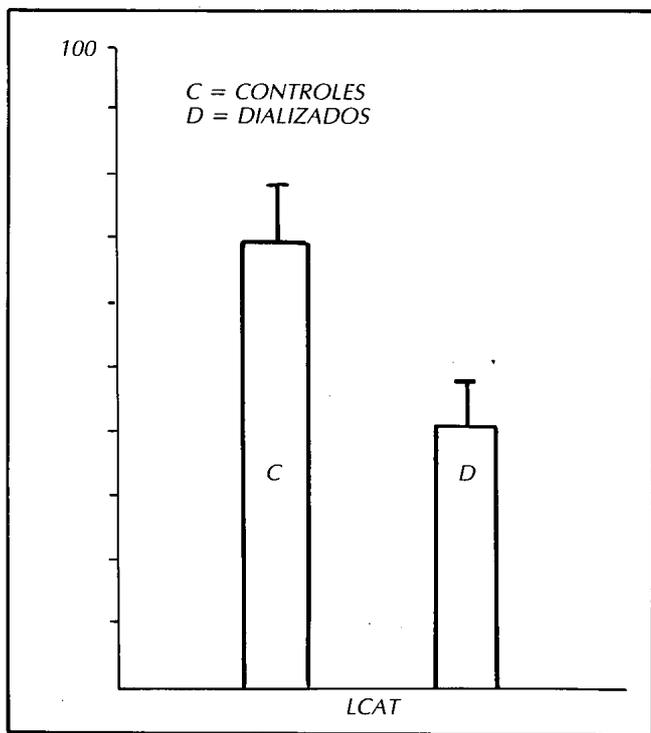


Fig. 1.—LCAT en dializados (D) y controles (C). Niveles de significación estadística * $p < 0,05$.

inicial fue de 5,88 en los pacientes y de 8,56 en los controles.

Los pacientes en hemodiálisis presentaron unos triglicéridos elevados, 152 ± 16 mg % versus $88,7 \pm 16,4$ mg % ($p < 0,05$) y un colesterol - HDL disminuido de $28,3 \pm 1,4$ mg % versus $51,3 \pm 5,6$ mg % ($p < 0,05$) (fig. 2), sin que existieran diferencias en los valores de la Apo A-I ni en los valores de colesterol total, LDL y VLVL. Sí existieron diferencias significativas entre los cocientes colesterol total/coolesterol HDL (pacientes, $6,5 \pm 0,5$; controles, $4,1 \pm 0,5$, $p < 0,05$) y el cociente Apo A-I/coolesterol HDL (pacientes, $5,5 \pm 0,3$; controles, $3,4 \pm 0,3$, $p < 0,001$) (fig. 3).

No encontramos correlación significativa de los valores de LCAT con los triglicéridos, colesterol ni la Apo A-I. Tampoco resultó significativa la relación de la LCAT con el tiempo de tratamiento en diálisis ni la dosis de heparina utilizada. La Apo A-I, aunque se mantenía dentro de valores normales, presentó una correlación con el tiempo en diálisis estadísticamente significativa ($r = 0,59$, $p < 0,05$) (fig. 4).

No encontramos diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados entre los pacientes que se dializaban con cuprofán y los que se dializaban con AN-69. (LCAT en cuprofán, 49 ± 10 ; LCAT en AN-69 de $28,5 \pm 9,6$, p NS; colesterol HDL, $28,1 \pm 1$ versus $28,6 \pm 3,4$; triglicéridos, 156 ± 27 versus 147 ± 15 .)

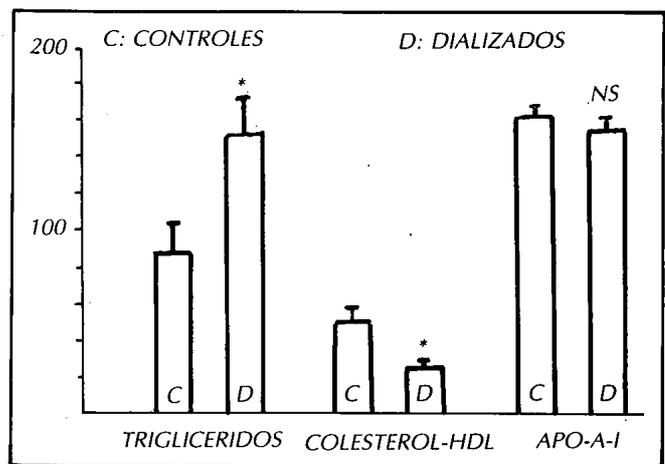


Fig. 2.—Triglicéridos, colesterol-HDL y apolipoproteína A-I en dializados (D) y controles (C). Niveles de significación estadística * $p < 0,05$. NS: No significativo.

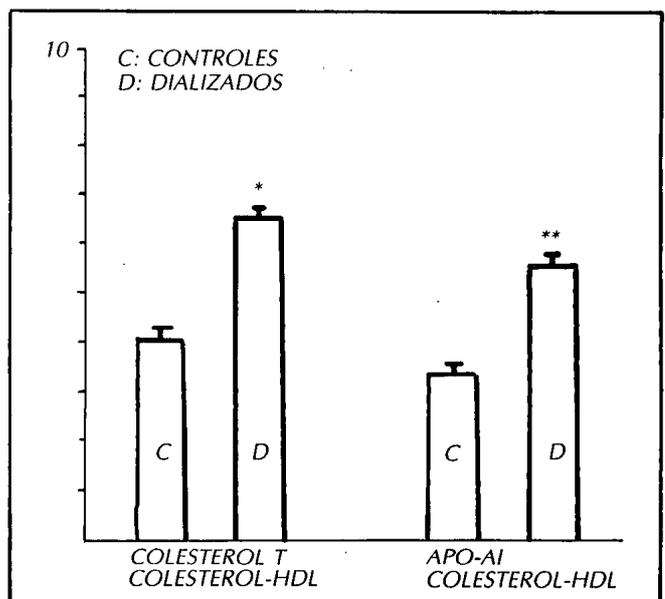


Fig. 3.—Valor de los cocientes colesterol total/coolesterol HDL y apolipoproteína A-I/coolesterol HDL en dializados (D) y controles (C). Niveles de significación estadística * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Discusión

El hallazgo de una actividad de LCAT significativamente disminuida en los pacientes con IRC en HD concuerda con lo descrito por Mc-Leod⁵, Guarnieri¹³, Chan¹⁴ y Grutzmacher¹⁵. Aunque algunos autores han descrito una tendencia a la mejoría progresiva de la actividad de la LCAT con el tiempo de tratamiento en diálisis¹⁶, nosotros, al igual que otros⁵, no hemos encontrado correlación significativa con el tiempo de tratamiento. Tampoco la utilización de membranas de alta permeabilidad ha influido en nuestro trabajo sobre la actividad de la LCAT. Estos

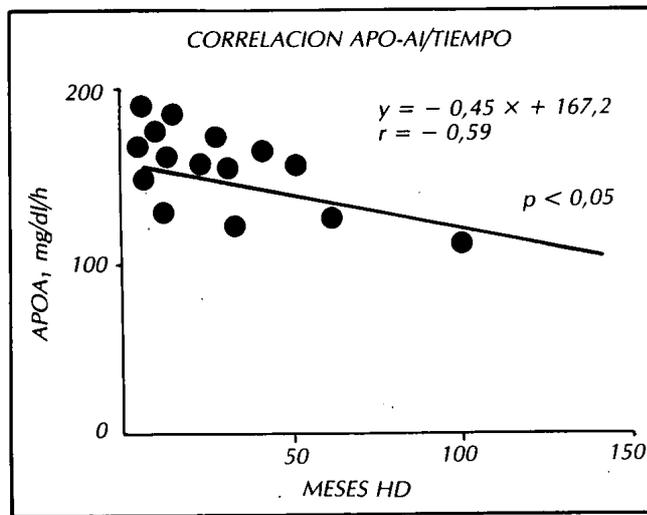


Fig. 4.—Correlación de la apolipoproteína A-I con el tiempo en hemodiálisis expresado en meses.

hechos, en principio, no apoyarían la existencia de sustancias dializables que actuaran como inhibidoras de la enzima. Nuestros pacientes presentaban además unos triglicéridos elevados, un colesterol-HDL disminuido con unos cocientes colesterol total/colesterol-HDL y Apo-I/colesterol-HDL aumentados, hechos coincidentes con estudios previos^{14, 15} y que puede implicar un riesgo cardiovascular en estos enfermos^{11, 12, 15, 17, 18}. La disminución del colesterol HDL en estos enfermos suscita interés creciente por sus implicaciones como factor de riesgo y porque cada vez hay más evidencia de que el propio riñón puede estar directamente implicado en el metabolismo de las lipoproteínas HDL¹⁹. La Apo A-I, considerado el principal activador de la LCAT, estaba dentro de la normalidad, dato coincidente con otros trabajos^{12, 15}, si bien nosotros hemos observado una tendencia a la disminución con el tiempo en diálisis. En el déficit familiar de LCAT existe un patrón curioso de relación con la Apo A-I²⁰; los pacientes con ausencia total de actividad LCAT tienen la Apo A-I disminuida, mientras que los familiares con LCAT disminuida, pero presente, tienen la Apo A-I normal o incluso elevada. Otros autores han implicado como posibles activadores la Apo-E²¹ y/o a la correlación Apo I/Apo II^{6, 15}.

Aunque no hemos encontrado una correlación directa entre la disminución de la LCAT y el HDL colesterol, el déficit de HDL-colesterol, y más en concreto de algunas de sus subfracciones, la HDL-3⁴, debe estar implicado. Esta interrelación es compleja: para algunos, la LCAT disminuye por déficit de sustrato^{1, 4}, pero a la vez se considera la LCAT responsable de las alteraciones del HDL-colesterol y sus subfracciones^{4, 12}. Por otra parte, en la IRC en HD existen alteraciones de la lipoprotein lipasa, de la lipasa hepática y del metabolismo de las proteínas ri-

cas en triglicéridos, lo que influye en la regulación del HDL₂ y HDL₃²² y parece también puede influir en el metabolismo de la LCAT.

Nuestros enfermos en hemodiálisis presentaban unos triglicéridos elevados con una LCAT significativamente disminuida. En sujetos normales y en otras hipertrigliceridemias no secundarias a IRC se ha observado una correlación positiva entre la actividad de la LCAT y los triglicéridos plasmáticos²³ e incluso se ha descrito una relación directa entre la actividad de la LCAT y la secreción de triglicéridos en el hepatocito de rata²⁴. Parece, pues, existir en los pacientes urémicos una disociación entre la actividad de la LCAT y la secreción de partículas ricas en triglicéridos o una inactivación acelerada de la LCAT.

Bibliografía

1. Chan MK, Varguese Z y Moorhead JF: Lipid abnormalities in uremia, dialysis and transplantation. *Kidney Int* 19:625-637, 1981.
2. Lazarus JM, Lowrie EG, Hampers CC y Merrill JP: Cardiovascular disease in uremic patients on hemodialysis. *Kidney Int* 53:S167-S175, 1975.
3. Lidner AL, Charra B, Sherrad DJ y Scribner FJ: Acelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 290:697-701, 1974.
4. Glomset JA: Lecithin-cholesterol acyl transferase. An exercise in comparative biology. En *Progr Biochem Pharmacology* 15, pp. 41-66. Eisenberg Ed. S. Karger, Basel, 1979.
5. McLeod R, Reeve CE y Fröhlich J: Plasma lipoproteins and lecithin: cholesterol acyltransferase distribution in patients on dialysis. *Kidney Int* 25:683-688, 1984.
6. Ritz E, Augustin J, Bommek J y Haberbosch W: Should hyperlipemia of renal failure be treated? *Kidney Int* 28:S84-S87, 1985.
7. Dieplinger H y Kostner GM: The determination of lecithin: cholesterol acyl transferase in the clinical laboratory: a modified enzymatic procedure. *Clinica Chim Acta* 106:319-324, 1980.
8. Grijalba A, Palacios M y García Merlo S: Cinética de esterificación de colesterol y valoración de la LCAT. *Rev Diag Biol* 33:163-168, 1984.
9. Laurell CB: Electroimmunoassay. *Scand J Clin Lab Invest* 124:21-29, 1972.
10. Fruchart JC: Determination du HDL-cholesterol. *Rev Fr Laboratoires* 103:7-17, 1982.
11. Gordon T, Castell WP, Hjortland MC, Kannel WB y Dawber TR: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 62:707-714, 1977.
12. Joven J, Rubies-Prat E, Espinel E, Chacón P, Olmos A y Masdeu S: Apoprotein A-I and High Density Lipoprotein Subfractions in Patients with Chronic Renal Failure receiving hemodialysis. *Nephron* 40:451-454, 1984.
13. Guarnieri GF, Marachiello M y Campanacci L: Lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT) activity in chronic uremia. *Kidney Int* 13:s26-s30, 1978.
14. Chan MK, Randial L, Varguese Z, Persand JW, Baillod RA y Moorhead JF: Plasma lecithin-cholesterol acyltransferase activities in uremic patients. *Clin Chim Acta* 119:65-72, 1982.
15. Grutzmacher P, Marz W, Peschke B, Gross W y Schoeppe W: Lipoproteins and apolipoproteins during the progression of Chronic Renal disease. *Nephron* 50:103-111, 1988.
16. Bories PC, Subbiah PV y Bagdade JD: LCAT activity in dia-

- lyzed and undialyzed chronic uremic patients. *Nephron* 32:22-27, 1982.
17. Rapoport J, Aviram M, Chaimovitz C y Brook JG: Defective high density lipoprotein composition in patients on chronic hemodialysis. A possible mechanism for accelerated atherosclerosis. *New Engl J Med* 299:1326-1329, 1978.
 18. Saudie E, Gibson JC, Steward JH y Simons LA: High density in chronic renal failure and after transplantation. *Br Med J* 1:928-930, 1979.
 19. Peterson DR, Hjelle JT, Carone FA y Moore PA: Renal handling of plasma high density lipoprotein. *Nephron* 38:217-225, 1984.
 20. Ohta Y, Yamamoto S, Tsuchida H, Murano S, Saitoh Y, Tohjo S y Okada M: Nephropathy of familial lecithin cholesterol acyltransferase deficiency: Report of a case. *A J Kidney Diseases* vol. VII, 1:41-46, 1986.
 21. Zorich N, Jonas A y Pownall HJ: Activation of lecithin cholesterol acyltransferase by human apolipoprotein E in discoidal complexes with lipids. *J Biol Chem* 260:8831-8837, 1985.
 22. Marcel Y y Vezina C: Lecithin cholesterol acyltransferase of human plasma. *J Biol Chem* 248:8254-8259, 1973.
 23. Rose HJ y Juliano J: Regulation of plasma lecithin cholesterol acyltransferase in man. Increases activity in primary hypertriglyceridemia. *J Lab Clin Med* 88:29-43, 1976.
 24. Norby G, Berg T, Nilkson M y Norum KA: Secretion of LCAT from isolated rat hepatocytes. *Biochem Biophys* 450:69-77, 1976.