

# Distribución plasmática de ciertos elementos traza y medianas moléculas en hemodiálisis

J. Bustamante, M. C. Martín, A. Rocher y A. Palencia

Cátedra de Nefrología. Hospital Universitario. Valladolid.

## RESUMEN

Tras la utilización prolongada de la hemodiálisis han ido apareciendo una serie de disturbios metabólicos por acúmulo de toxinas urémicas y ciertos metales. Todavía no es posible evaluar el papel exacto de las medianas moléculas, existiendo numerosos problemas sin resolver, siendo uno de ellos la interacción de los compuestos metálicos y los orgánicos tóxicos. Por ello estudiamos en 23 hemodializados la distribución plasmática del cadmio (Cd), cobre (Cu) y plomo (Pb) y los aminoácidos en las medianas moléculas urémicas. El fraccionamiento sérico se realizó por cromatografía de exclusión molecular con Sephadex G-150. Las determinaciones de los metales en el fraccionamiento sérico se hicieron por espectrofotometría de absorción atómica. Se determinaron los aminoácidos con un aparato Beckman 121 BM, en las medianas moléculas obtenidas por fraccionamiento con Sephadex G-25. Aparecen elevados los tres metales en plasma. El 60 % del Cd, el 20 % del Cu y el 90 % del Pb van unidos a los componentes de bajo peso molecular; las medianas moléculas, descritas como una compleja mezcla de compuestos peptídicos tóxicos, van unidas a metales, por lo que se plantea que estos metales también puedan jugar un cierto papel en la toxicidad de las medianas moléculas.

El comportamiento de los aminoácidos en las medianas moléculas urémicas es diferente, dependiendo de la membrana de diálisis utilizada; la disminución de los aminoácidos que entran a formar parte de los péptidos más tóxicos en estas medianas moléculas, con membranas de poliacrilonitrilo, con el mantenimiento del efecto tóxico, podría apoyar la toxicidad metálica, además de la toxicidad orgánica de dichas moléculas.

Palabras clave: **Hemodiálisis. Metales. Aminoácidos. Medianas moléculas.**

## PLASMA DISTRIBUTION OF CERTAIN TRACE ELEMENTS AND MIDDLE MOLECULES IN HEMODIALYSIS

### SUMMARY

After prolonged use of hemodialysis a series of metabolic disturbances have appeared due to an accumulation of uremic toxins and certain metals. It is still not possible to evaluate the exact role of the middle molecules; there are numerous problems to solve, including the interaction of the metallic and the toxic organic compounds. For this reason we studied the plasma distribution of cadmium (Cd),

---

Correspondencia: Dr. J. Bustamante.  
Cátedra de Nefrología.  
Hospital Universitario.  
Valladolid.

Recibido: 8-V-86.  
En versión definitiva: 29-XII-86.  
Aceptado: 29-12-86.

*copper (Cu) and lead (Pb) and the aminoacids in the uremic middle molecules in 23 patients undergoing haemodialysis. The serum fractionation was carried out by molecular exclusion chromatography with Sephadex G-150. The metals in the serum fractions were measured by atomic absorption spectrophotometry. The aminoacids were determined with a 121 BM Beckman apparatus in the middle molecules obtained by fractionation with Sephadex G-25. The levels of the three metals in the plasma appear high. Sixty per cent of the Cd, 20 % of the Cu and 90 % of the Pb are bound to plasma components of low molecular weight. Middle molecules, described as a complex mixture of toxic peptidic compounds, are bound to metals raising the question whether these metals also play a certain part in their toxicity.*

*The amino acid content in the uremic middle molecules is different depending on the dialysis membrane used. These variations in the middle molecules may alter their reaction with toxic metals as well as their intrinsic toxicity.*

Key words: **Hemodialysis. Metals. Aminoacids. Middle molecules.**

## Introducción

Los trastornos del metabolismo de ciertos elementos traza constituyen un hecho constante durante la insuficiencia renal crónica (IRC) <sup>1-3</sup>. Las técnicas de depuración extrarrenal han supuesto una mayor supervivencia de los pacientes urémicos; sin embargo, tras su utilización prolongada se ha evidenciado un creciente número de efectos secundarios indeseables, destacando, entre otros, los disturbios metabólicos por acúmulo de toxinas urémicas <sup>4-6</sup> y las anormales concentraciones de determinados metales <sup>2, 7-9</sup>. Los metabolitos como la urea, creatinina, ácido úrico tienen un peso molecular inferior a los 500 dalton y atraviesan con facilidad las membranas de diálisis.

En el plasma de los urémicos se encuentran elevadas una serie de sustancias cuyo peso molecular está comprendido entre 500 y 5.000 dalton que constituyen las llamadas medianas moléculas, cuya toxicidad ha quedado demostrada en numerosos trabajos <sup>10, 11</sup>.

Todavía no es posible evaluar el papel exacto de las medianas moléculas, existiendo varios problemas a resolver, como, por ejemplo, la interacción de los compuestos metálicos y los orgánicos tóxicos. Los trabajos publicados sobre cadmio (Cd), cobre (Cu) y plomo (Pb) se refieren a las determinaciones plasmáticas de los mismos, por lo que nos pareció interesante estudiar la distribución proteica y el transporte de estos metales, así como la estructura de las medianas moléculas y su relación con estos elementos traza.

## Material y métodos

Se han estudiado 8 personas sanas y 23 pacientes en hemodiálisis (7 mujeres y 16 hombres), con eda-

des comprendidas entre veintiocho y sesenta y tres años. Su tiempo en el programa osciló entre seis y cincuenta y nueve meses. La dieta era libre en cuanto al consumo de proteínas y restringida para el sodio y potasio. El agua de los baños de diálisis provenía de un sistema de desionización.

Para el estudio de los aminoácidos en las medianas moléculas el grupo se dividió en dos subgrupos: 13 dializados con membrana de cuprophan y 10 dializados con membrana de poliacrilonitrilo. La hemodiálisis fue de cuatro horas diarias, tres veces por semana, con una superficie de membrana de 1 m<sup>2</sup>.

## Métodos

a) Mineralización de sueros: La desproteinización de los sueros se efectuó mediante mineralización por vía húmeda <sup>12</sup>.

b) Fraccionamiento sérico por cromatografía de exclusión molecular. Se ha realizado con gel Sephadex G-150 tratado con BH<sub>4</sub>Na. El fraccionamiento produce cuatro picos, siendo el del volumen de elución entre 40-50 ml. el que comprendió a las medianas moléculas.

c) Distribución de cadmio, cobre y plomo en las fracciones séricas. Se determina la concentración de los tres metales antes y después de la hemodiálisis en cada una de las fracciones colectadas mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer, modelo 2380, equipado con cámara de grafito HGA-400 Programer, siendo las longitudes de onda para el Cd 228,8 nm., Cu 324,8 nm. y Pb 283,3 nm.

d) Determinación de aminoácidos en las medianas moléculas. El volumen de elución entre 40-50 ml. obtenido en el fraccionamiento con el Sephadex G-150 es pasado por Sephadex G-25, con lo que se ob-

tienen cuatro picos en los que los volúmenes de elución entre 50-70 ml. corresponden a los pesos moleculares de 500-5.000 dalton, son recogidos en conjunto para cada grupo de membranas y liofilizados, estudiándose en ellos la composición de aminoácidos en el grupo dializado con membrana de cuprophan y de poliacrilonitrilo previa disolución del liofilizado en buffer base. La determinación de aminoácidos en las medianas moléculas fue realizado con un aparato Beckman 121 MB con programador, el cual es capaz de determinar 27 aminoácidos. La señal de absorción analógica que proporciona el aparato es conducida a un registrador de forma que los aminoácidos son visualizados como picos diferentes. Por otra parte, la señal analógica es convertida en un integrador digital que permite conocer el área de cada pico; esta área es proporcional a la concentración del aminoácido.

e) Método estadístico. Fue realizado en una calculadora Canon 167 P, determinándose las medias, desviación estándar y la t de Student.

## Resultados

Los niveles plasmáticos se exponen en la tabla I, apareciendo una elevación significativa  $p < 0,005$  para el cobre y plomo, siendo la del cadmio menor, con una  $p < 0,05$ .

La distribución plasmática del cadmio (fig. 1) se hace en tres picos del fraccionamiento, estando en los componentes plasmáticos de bajo peso molecular en un 60 %, no variando su distribución después de la hemodiálisis.

El cobre (fig. 2) aparece distribuido en cuatro picos, siendo el más importante el que corresponde a la ceruloplasmina, con el 70 %, y los otros con el 5 %, 20 % y 5 %, elevándose después de la hemodiálisis el que corresponde a la ceruloplasmina, aunque no significativamente.

El plomo (fig. 3) aparece en un pico que corresponde a los componentes plasmáticos de bajo peso molecular. En la tabla II se exponen las concentraciones para cada uno de los aminoácidos en las medianas moléculas en el grupo de dializados con membrana de cuprophan, antes y después de la hemodiálisis, comprobando que presentan una elevación del aspartato, serina, glutamina, valina, lisina y arginina; no se modifican treonina, prolina, glicina, fenilalanina y leucina y descienden alanina, metionina, isoleucina, tirosina e histidina. Las variaciones antes y después de la diálisis demuestran que la glicina e isoleucina se elevan; el resto de los aminoácidos desciende.

En los pacientes dializados con membrana de poliacrilonitrilo (tabla III) se encuentran elevadas la serina, glicina e isoleucina, no se modifican el aspartato,

**Tabla I.** Elementos traza en hemodiálisis

Controles		
Cadmio mcgr. %	0,5 ± 0,1	0,80 ± 0,2*
Cobre mcgr. %	106 ± 11	131 ± 22**
Plomo mcgr. %	23 ± 3	72,4 ± 19,7**

\*  $p < 0,05$ . \*\*  $p < 0,005$ .

**Tabla II.** Composición de aminoácidos en M.M. de hemodializados (nmol/10 µg. de proteínas)

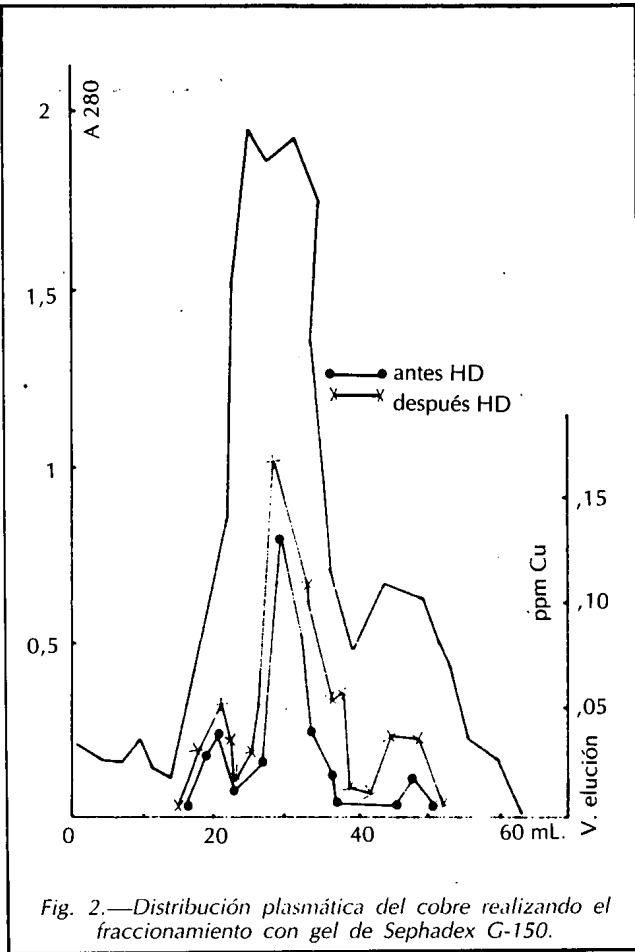
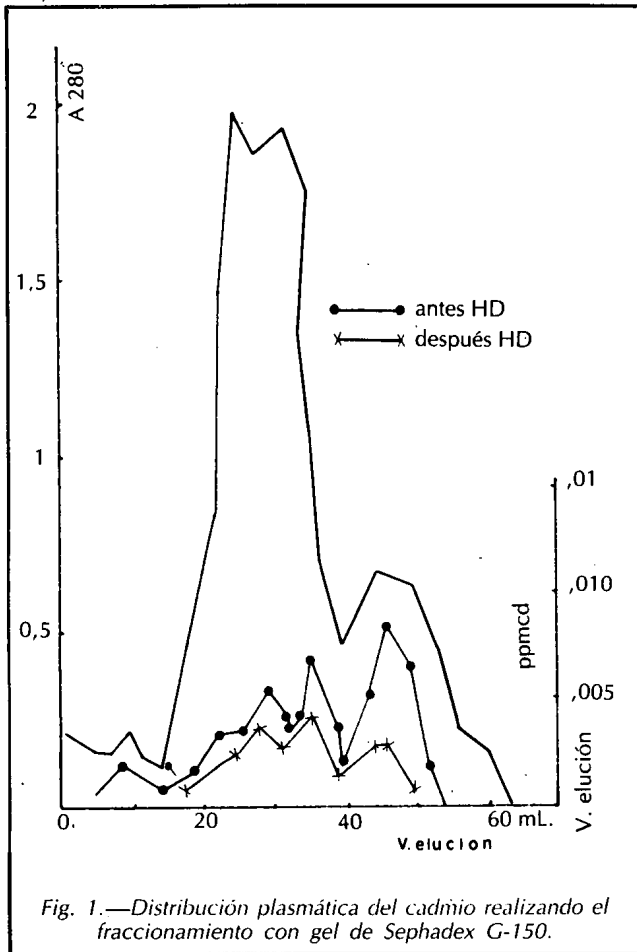
Aminoácidos	Controles	Membrana de cuprophan	
		Antes	Después
Aspartato	2,87	3,26	2,08
Serina	1,03	1,61	1,06
Glutamina	4,07	4,25	1,66
Arginina	1,29	1,51	0,67
Valina*	1,57	2,13	1,52
Lisina*	2,27	2,84	0,84
Treonina*	1,52	1,60	1,47
Prolina	1,48	1,46	1,06
Glicina	0,86	0,81	1,33 ↑
Fenilalanina*	1,47	1,49	1,47
Leucina*	3,44	3,49	1,83
Alanina	3,14	2,62	1,67
Metionina*	0,49	0,29	0,14
Isoleucina*	0,44	0,38	0,52 ↑
Tirosina	0,71	0,66	0,26
Histidina*	1,40	0,95	0,35

\* Esenciales: 1.000-2.000 dalton.

treonina, prolina, valina, metionina, y descendidos la glutamina, alanina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina. Después de la diálisis se elevan la glicina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina, el resto de los aminoácidos descienden más intensamente que en el grupo anterior.

## Discusión

Los valores de los elementos traza estudiados, comparados con el grupo control, están elevados significativamente. El acúmulo patológico del Cd puede producir trastornos en la reproducción<sup>13</sup> e hipertensión arterial. Schroeder<sup>14</sup> postula que el cadmio es un factor decisivo en la génesis de la hipertensión arterial, comprobándose que la excreción urinaria de cadmio en los hipertensos es significativamente más alta que en los normotensos.



**Tabla III.** Composición de aminoácidos en M.M. de hemodializados (nmol/10 µg. de proteínas)

Aminoácidos	Controles	Membrana de poliacrilonitrilo	
		Antes	Después
Serina	1,03	1,63	1,07
Glicina	0,86	1,75	1,88 ↑
Isoleucina*	0,44	0,84	0,39
Aspartato	2,87	2,64	1,59
Treonina*	1,52	1,54	1,19
Prolina	1,48	1,20	0,98
Valina*	1,57	1,42	1,19
Metionina	0,49	0,47	0,12
Glutamina	4,07	2,73	1,65
Alanina	3,14	1,67	1,64
Leucina*	3,44	1,93	1,43
Tirosina	0,71	0,48	0,47
Fenilalanina*	1,47	0,34	0,42 ↑
Lisina*	2,27	0,94	0,97 ↑
Histidina*	1,40	0,20	0,41 ↑
Arginina	1,29	0,64	0,66 ↑

\* Esenciales: 1.000-2.000 dalton.

Experimentalmente, las lesiones en las arteriales renales y los cambios glomerulares producidos por la intoxicación con Cd no se diferencian de las lesiones que produce la hipertensión arterial en el riñón<sup>15</sup>. Los trabajos sobre Cd y depuración renal aparecidos en los últimos años<sup>3, 7</sup> se refieren a las determinaciones plasmáticas del metal, por lo que consideramos estudiar la distribución plasmática (fig. 1), estando el 60 % del Cd en los componentes plasmáticos de bajo peso molecular, descendiendo este pico después de la hemodiálisis, aunque no significativamente. Este hecho pone de manifiesto un dato no recogido en la literatura. Las medianas moléculas denominadas toxinas urémicas, por ser una de las causantes del efecto tóxico de la uremia, y descritas como una compleja mezcla de compuestos peptídicos<sup>4, 6</sup>, no se conocía que fuesen ligadoras de ciertos elementos traza, por lo que planteamos si son los péptidos los que tienen el efecto tóxico, como se cree, o los metales unidos a ellos también pueden jugar un cierto papel en esta toxicidad.

El Cu aparece elevado en sangre; diferentes autores llamaron la atención sobre la contaminación del agua utilizada, tuberías de cobre empleadas<sup>16</sup>, líqui-

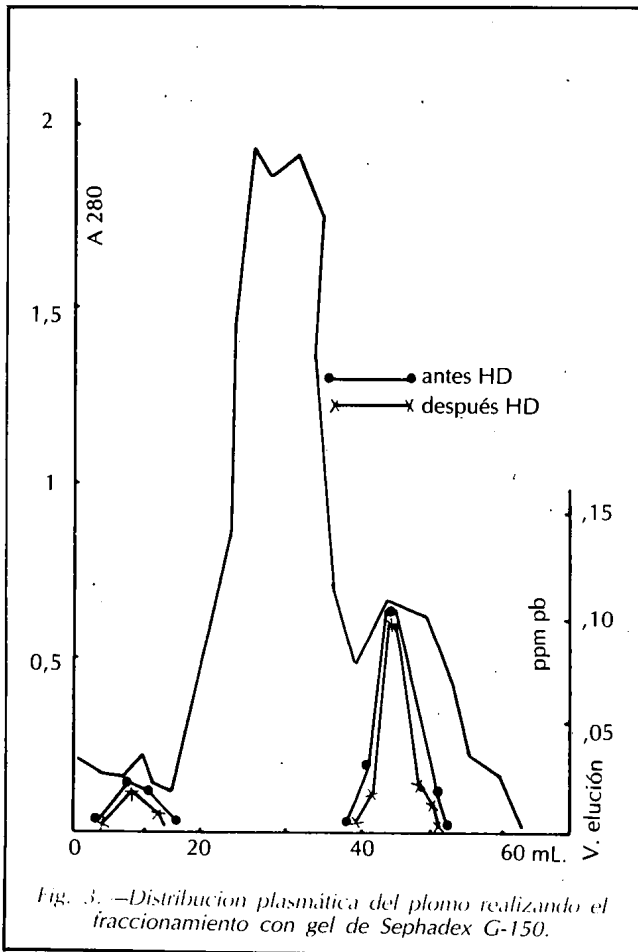


Fig. 3. —Distribución plasmática del plomo realizando el fraccionamiento con gel de Sephadex G-150.

do de diálisis<sup>17</sup> o efecto contaminante de la membrana de cuprophan<sup>1</sup>. Este aumento de cobre puede jugar un cierto papel en la aparición de hepatopatías, crisis hemolíticas y anemia que estos enfermos padecen.

La distribución del Cu (fig. 2) aparece en cuatro picos, siendo el más importante el que corresponde a la ceruloplasmina en el 70 %, pero existe un 20 % en las medianas moléculas.

El Pb se acumula lentamente con la edad, lo que implica que la capacidad para excreción no es adecuada para mantener la homeostasis en su totalidad. Encontramos elevado este metal frente a autores<sup>18</sup> que lo encuentran normal; el acúmulo del mismo puede producir anemia, hepatopatía, así como lesiones tubulares renales y trastornos del crecimiento en los niños<sup>19, 20</sup>.

Con el Pb (fig. 3) se recoge lo mismo que para el cadmio, una distribución no descrita, la aparición de un pico que corresponde a las medianas moléculas que nos vuelve a plantear la hipótesis tóxica metálica, junto a la orgánica.

El identificar los aminoácidos que corresponden a las medianas moléculas, donde, como hemos visto, va

distribuido el cadmio, parte del cobre y el plomo, ha sido el paso final de la hipótesis del trabajo. En los dializados con cuprophan (tabla II) la elevación del aspartato, serina, glutamina y arginina, coinciden con otros autores<sup>6</sup>; no así los valores de valina y lisina, que en nuestros pacientes están elevados y otros autores los encuentran descendidos<sup>21</sup>.

Los niveles de alanina, metionina, isoleucina, tirosina e histidina están descendidos; el descenso de la tirosina fue puesto de manifiesto por Furst<sup>22</sup>, el cual indica que podría ser debido a la deficiente conversión de fenilalanina en tirosina o a la oxidación incrementada en tirosina.

Dentro de las medianas moléculas se consideran con efecto más tóxico los compuestos peptídicos con peso molecular entre 1.000 y 2.000 dalton, encontrándose en ellos aspartato, glutamina, fenilalanina, leucina y tirosina; estos cinco aminoácidos descienden con la diálisis, por lo que es posible que los compuestos peptídicos integrados por ellos también desciendan.

En los pacientes depurados con membrana de poliacrilonitrilo (tabla III) se encuentran elevados más aminoácidos esenciales que el grupo con cuprophan; asimismo después de la diálisis se elevan la glicina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina. Se comprueba también que las concentraciones de los aminoácidos que se encuentran en los péptidos tóxicos, aspartato, glutamina, leucina y tirosina, están más bajas. El significado de los aumentos o disminución de ciertos aminoácidos, en las medianas moléculas, es poco claro, pero pudiera indicar alteraciones en la actividad enzimática<sup>23, 24</sup>.

## Bibliografía

1. Bustamante J, Martín Mateo MC, De Paula A y Ortiz Manchado O: Changes in copper and ceruloplasmin in chronic renal insufficiency treated by hemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephron* 22:312-315, 1978.
2. Aggett PJ: Zinc metabolism in chronic renal insufficiency with or without dialysis therapy. *Clin Nephrol* 38:95-102, 1984.
3. Tsu Kamato Y, Iwanani S y Marumo F: Disturbances of trace element concentrations in plasma of patients with chronic renal failure. *Nephron* 26:174-179, 1980.
4. Drivas G, Farb M y Kenword D: Small molecules in chronic renal failure. *Lancet* 2:367-371, 1980.
5. Delaporte C, Gras F, Johnson C y Bergstrom J: In vitro cytotoxic properties of plasma from uremic patients. *Clin Nephrol* 17:247-256, 1982.
6. Shayki M, Dubin A, Dunea G y Mamdani B: Separation, isolation and amino composition uremic peptides. *Clin Physiol Biochem* 2:1-13, 1984.
7. Marumo F, Tsukamoto Y, Iwanani S y Kishimoto T: Trace element concentrations in hair, fingernails and plasma of patients with chronic renal failure on hemodialysis and hemofiltration. *Nephron* 38:267-272, 1984.
8. Pierides AM y Myli M: Iron and aluminium osteomalacia in hemodialysis patients. *New Engl J Med* 310:323-328, 1984.

9. Leung AG, Henderson IS y Dobbie, JW: Accumulation of chromium in patients on maintenance hemodialysis and C.A.P.D. Abstracts IXth International Congress of Nephrology. Los Angeles. USA. p. 173, 1984.
10. Delaporte G, Gros F y Anagnostopoulos T: Inhibitory effects of plasma dialyzate on protein synthesis in vitro: influence of dialysis and transplantation. *Am J Clin Nutr* 33:1407-1412, 1980.
11. Kuriyama M, Mizuma A, Jokomine R e Igata A: Eritrocyte transketalase activity in uremia. *Clin Chim Acta* 108:169-176, 1980.
12. Dreyfus C y Schapira GP: Le Fer. Biochimie Physiologie et Pathologie. *Expansion Scientifique Française*. Paris, pp. 328, 1958.
13. Nath R y Sidhu H: Nutrition and Metabolism. Ed. Shapott. New York. pp. 241, 1979.
14. Schroeder HA y Balassa JJ: The toxicity of cadmium. *J Nutr* 92:235-240, 1980.
15. Piscator J: The chronica toxicity of cadmium, in trace elements in human helat and disease. Ed. Prasad. New York. pp. 431, 1976.
16. Blamfield J, Dixon SR y McCredie D: Potential hepatotoxicity of copper in recurrent hemodialysis. *Arch Intern Med* 128:555-559, 1971.
17. Manzler A y Schreiner A: Copper induced acute hemolytic anemia. A new complication of hemodialysis. *Ann of Intern Med* 73:409-412, 1970.
18. Mahurkar SD, Dhor SK, Solta R, Meyers L, Smith E y Dunea G: Dialysis dementia. *Lancet* I:1412-1416, 1973.
19. Aviv A, Bernstein J y Goldsmith D: Lead intoxication during development: its late effects on Kidney function and blood pressure. *Kidney Int* 17:430-437, 1980.
20. Settle DM y Patterson CC: Lead in albacore guide to lead pollution. *Americans Science* 107:1167-1176, 1980.
21. Doolan PD y Bergström J: Uremia in gonick. *Current Nephrology*. Ed. John Wiley. New York, pp. 309, 1982.
22. Furst P, Alvesstrand A y Bergström J: Effects of nutrition and catabolic Stress on intracellular amino acid pools in uremia. *Am J Clin Nutr* 33:1387-1394, 1980.
23. Blumenkrantz MJ, Kopple JD, Gutman RA y Chan YK: Methods for assessing nutritional Statues of patients with renal fai-
24. Schoots A, Mikkers F, Cramers C, Desmet R y Ringoir S: Uremic Toxins and the elusive middle molecules. *Nephron* 38: 1-8, 1984.