

Biocompatibilidad de las membranas de diálisis. Efecto sobre la beta-2-microglobulina y activación del complemento

R. Bustamante, B. Aguirre, J. Bustamante, A. Palencia y J. M. Briso-Montiano

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario. Valladolid.

RESUMEN

Se estudia la cinética de la beta-2-microglobulina (β -2-M), C3a, leucocitos y neutrófilos a lo largo de la hemodiálisis (HD) utilizando cuatro tipos de membrana: cuprofán, poliacrilonitrilo, EVAL y polisulfona, en pacientes en HD que llevan más de seis meses con cada tipo de membrana. Los grupos de pacientes fueron homogéneos en cuanto a la técnica de diálisis, superficie corporal, peso y tipo de alimentación. La determinación de la β -2-M se realizó por método de enzoinmunoensayo, el C3a por inmunodifusión radial, leucocitos neutrófilos y proteínas totales por técnicas estandarizadas de laboratorio. Se produce un aumento significativo, $p < 0,01$, de la β -2-M en los cuatro grupos en relación con los controles. El grupo dializado con cuprofán presenta los niveles más altos ($52,9 \pm 18,1$ mg.) y los dializados con fibra EVAL los menos elevados ($32,5 \pm 16,4$ mg.), siendo esta diferencia significativa ($p < 0,05$). A lo largo de la diálisis con cuprofán se produce un incremento significativo de la β -2-M y C3a y un descenso a los quince minutos de los leucocitos y neutrófilos. Con la membrana de EVAL no se modifican significativamente los parámetros estudiados. El poliacrilonitrilo y polisulfona descienden la β -2-M significativamente, no modificando el resto de los parámetros. La cinética de la β -2-M puede variar en función de las características físicas y antigénicas de la membrana, lo que podría condicionar el tipo de la misma a utilizar.

Palabras clave: **Beta-2-microglobulina. C3a. Leucocitos. Neutrófilos. Membranas de diálisis.**

BIOCOMPATIBILITY OF DIALYSIS MEMBRANES: EFFECT ON BETA-2-MICROGLOBULIN AND COMPLEMENT ACTIVATION

SUMMARY

Beta-2-microglobuline (β -2-M) kinetics, C3a, leukocytes and neutrophils were studied in the process of hemodialysis (HD), using four types of membrane—Cuprophane, polyacrylonitrile, EVAL and polysulfone—in HD patients with more than 6 months with each type of membrane, the groups of patients were homogeneous in relation to the dialysis technique, body surface, weight and feeding. The evaluation of β -2-M was carried out by using an ELISA method, C3a by radial immunodiffusion, neutrophile leukocytes and total amount of pro-

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

teins with standardized laboratory tests. There was a significant increase $p < 0.01$ of β -2-M in the groups in relation to the controls. The group which was dialyzed with Cuprophane had the highest levels, 52.9 ± 18.1 mg/l.; while those dialyzed with eval fiber had the lowest levels, 32.5 ± 16.4 mg/l.; this was a significant difference $p < 0.05$. Throughout the dialysis with cuprophane there was a significant increase of β -2-M and C3a, and fifteen minutes later a decrease of leukocytes and neutrophils. These parameters are not especially modified with EVAL membrane. Polyacrylonitrile and polysulfone cause a significant decrease of β -2-M without changing other parameters. The kinetics of β -2-M may vary depending on the physical and antigenic characteristics of the membrane, which could have a strong bearing on the choice of membrane to be used.

Key words: β -2-microglobulin. C3a. Leukocytes. Neutrophils. Dialysis membrane.

Introducción

La beta-2-microglobulina (β -2-M) es considerada como uno de los agentes responsables de la amiloidosis de la diálisis, encontrándose elevada en el suero de los pacientes en hemodiálisis¹⁻³. Asimismo, en la insuficiencia renal de diferente etiología se produce una elevación de la concentración sérica de β -2-M^{4, 5}.

Kostic y cols.⁶ ponen de manifiesto que esta proteína, cuyo peso molecular es de 11.800 dalton⁷ y que constituye la cadena ligera de los antígenos de clase I del complejo de histocompatibilidad (HLA, A, B y C en el hombre), sus niveles plasmáticos se ven influenciados, dependiendo del tipo de membrana de diálisis utilizada. La composición química de la membrana determina su potencial de activación del sistema del complemento, constatándose que las tasas de C3a aumentan sensiblemente en cada sesión de diálisis en los primeros minutos^{8, 9}, lo que hace al C3a un buen marcador de la biocompatibilidad de una membrana de diálisis.

El presente estudio intenta ver si las variaciones de la beta-2-microglobulina se ven influenciadas no solamente por la diferente permeabilidad de las membranas, sino también por la biocompatibilidad de las mismas.

Material y métodos

Frente a un grupo control de 10 sujetos sanos, se estudian 50 pacientes en hemodiálisis, de los cuales 35 con membranas de cuprofán, cinco con poliacrilonitrilo, cinco fibra EVAL y cinco con polisulfona.

Los cuatro grupos fueron dializados con sus respectivas membranas más de seis meses; la superficie de membrana fue de 1 m². Todos los grupos se dializaron cuatro horas tres veces por semana.

El flujo sanguíneo para todos los grupos fue de 300 ml/min. y el flujo del líquido de diálisis 500 ml/min.

Los grupos son homogéneos en cuanto a superficie corporal y peso, así como al tipo de alimentación. A cada paciente se le extrajo sangre venosa en el período interdialítico y a los cero minutos en la fístula arteriovenosa, quince, treinta, sesenta, ciento veinte, ciento ochenta y doscientos cuarenta minutos en la línea venosa; se dejó coagular espontáneamente a temperatura ambiente durante media hora, pasada la cual se centrifugó a 3.000 r.p.m. durante diez minutos. Los sueros fueron inmediatamente separados y congelados a -20° C hasta el momento de su determinación.

Se determinó la beta-2-microglobulina mediante enzimoimmunoensayo¹⁰ en el período interdialítico y a los cero, sesenta, ciento veinte, ciento ochenta y doscientos cuarenta minutos; la fracción C3a del complemento, mediante un método de inmunodifusión radial de la casa Behring a los cero, quince, treinta y sesenta minutos; en estos mismos tiempos, los leucocitos y neutrófilos mediante técnicas estandarizadas de laboratorio. Las proteínas totales se determinaron en la fase de interdialítico.

El estudio estadístico se realizó mediante análisis de significación de promedios, empleando la t de Student.

Resultados

Las concentraciones séricas de beta-2-M interdialítico están representadas en la figura 1, comprobándose un aumento significativo, $p < 0,01$, en los cuatro grupos en relación con el control.

El grupo dializado con membranas de cuprofán presenta los niveles más altos, $52,9 \pm 18,1$ mg/l y los dializados con fibra EVAL los menos elevados, $32,5 \pm 16,4$ mg/l.

A lo largo de la hemodiálisis (tabla I), la β -2-M se eleva significativamente a partir de los ciento veinte minutos con el cuprofán; no se modifica con la fibra EVAL y desciende significativamente a partir de los ciento ochenta minutos para el grupo dializado con

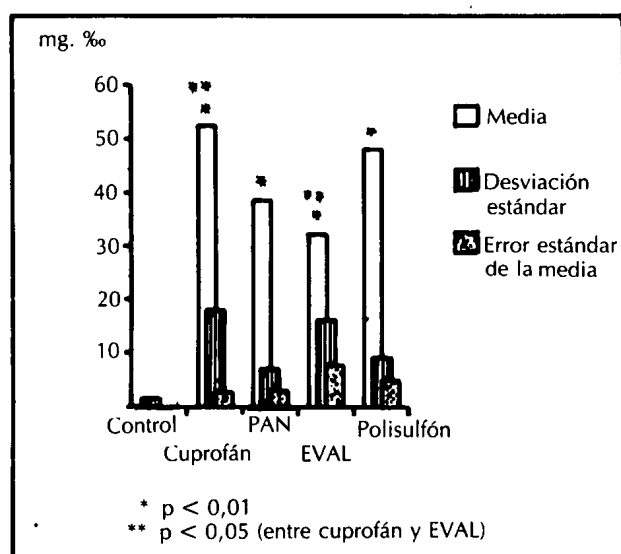


Fig. 1.—Beta-2-microglobulina sérica en hemodiálisis.

poliacrilonitrilo y de los ciento veinte minutos para la polisulfona.

Las variaciones del C3a durante la hemodiálisis (tabla II) sufren una elevación significativa, $p < 0,01$, a partir de los quince minutos con el cuprofán; con las otras membranas se produce un ligero incremento no significativo (fig. 2), siendo mayor para el grupo dializado con poliacrilonitrilo y menor con la polisulfona.

Los resultados obtenidos en el estudio de los leucocitos durante la hemodiálisis se expresan en la tabla III, comprobándose con la membrana del cuprofán una caída significativa, $p < 0,01$, a los quince y treinta minutos, recuperándose a los sesenta minutos. Las variaciones en los demás grupos no son significativas, aunque se aprecia una elevación a los quince minutos con la polisulfona, cuyo valor es relativo, al presentar una desviación estándar bastante alta.

El efecto sobre los neutrófilos de las diferentes membranas durante la hemodiálisis (tabla IV) demuestra el descenso significativo, $p < 0,01$, a los

quince minutos en el grupo dializado con cuprofán y la elevación también significativa a los sesenta minutos. En los restantes grupos, aunque se produce un ligero descenso a los quince minutos con EVAL y polisulfona, no es significativo.

En los valores basales de proteínas totales (tabla IV) no existen diferencias significativas entre los grupos estudiados.

Discusión

La biocompatibilidad de las membranas de diálisis ha sido ampliamente estudiada^{8, 9, 11}, apareciendo el C3a como un buen marcador de la misma. Este marcador se correlaciona *in vivo* con la cifra de polinucleares circulantes. Aunque con una sensibilidad inferior, la determinación de leucocitos y neutrófilos puede ser un medio sencillo y rápido de seguir la producción de anafilotoxinas. Los resultados obtenidos indican que la membrana de cuprofán es la que más capacidad de activación del sistema del complemento tiene, produciendo en los primeros quince minutos un descenso muy significativo de los leucocitos y neutrófilos. El comportamiento de las restantes membranas no presenta diferencias significativas en cuanto a las cifras de C3a, leucocitos y neutrófilos.

Los resultados referentes a los leucocitos, obtenidos en el grupo dializado con polisulfona, son diferentes a los que obtienen Folkenhogen y cols.¹², que describen un descenso del 18 %.

Paralelamente a estas modificaciones del C3a, leucocitos y neutrófilos, se comprueba que los niveles séricos de β -2-M interdiálisis (fig. 1) se encuentran muy elevados en el grupo dializado con cuprofán, $52,9 \pm 18,1$ mg/l. con relación al grupo control, $1,5 \pm 0,2$ mg./l. $p < 0,01$; asimismo, en el grupo del poliacrilonitrilo, $38,9 \pm 7,2$ mg/l.; EVAL, $32,5 \pm 16,4$ mg/l., y polisulfona, $48,6 \pm 9,5$ mg/l., las elevaciones son significativas ($p < 0,01$) con relación a los controles. Entre los diferentes grupos estudiados sólo hay variaciones significativas ($p < 0,05$) entre el cuprofán y EVAL. Cuando se estudia la cinética de la β -2-M a lo largo de la hemodiálisis (tabla I), se com-

Tabla I. Variaciones de la beta-2-microglobulina en mg/l. durante la hemodiálisis

Membrana	0 min.	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Cuprofán	54,8 ± 11,4	60,5 ± 13,9	65,3 ± 15,3 **	69,8 ± 12,4 ***	68,8 ± 9,3 ***
Poliacrilonitrilo	38,2 ± 13,8	39,6 ± 18,3	34,8 ± 15,8	30,4 ± 6,4 **	31,7 ± 8,2 *
EVAL	33,5 ± 12,2	37,6 ± 21,1	33,3 ± 13,9	32,8 ± 10,8	35,5 ± 16,8
Polisulfona	37,5 ± 11,7	25,8 ± 5,4	24,5 ± 8 **	22,4 ± 6,2 **	21,6 ± 7,3 ***

Media ± desviación estándar:

* $p < 0,05$
 ** $p < 0,02$
 *** $p < 0,01$ } con relación a los cero minutos.

Tabla II. Variaciones del C3a en mg. % durante la hemodiálisis

Membrana	0 min.	15 min.	30 min.	60 min.
Cuprofán	5,9 ± 2,5	17,9 ± 3,8 ***	18,1 ± 3,5 ***	17,8 ± 3,4 ***
Poliacrilonitrilo	4,6 ± 2,3	7,1 ± 2,5	6,2 ± 2,7	7,6 ± 2,9
EVAL	3,8 ± 2,7	5,1 ± 4,2	5,8 ± 2,8	4,8 ± 3,6
Polisulfona	3,8 ± 2,2	6,1 ± 2,7	5,3 ± 2,9	4 ± 2,1

Media ± desviación estándar:

* p < 0,05
 ** p < 0,02
 *** p < 0,01 } en relación a los cero minutos.

Tabla III. Efecto de las diferentes membranas sobre los leucocitos/mm³ durante la hemodiálisis

Membrana	0 min.	15 min.	30 min.	60 min.
Cuprofán	4.566 ± 1.400	1.575 ± 510 *	2.975 ± 1.170 *	4.675 ± 1.350
Poliacrilonitrilo	5.360 ± 1.120	6.720 ± 1.850	6.850 ± 1.870	6.960 ± 1.720
EVAL	6.150 ± 1.480	5.650 ± 3.030	7.500 ± 2.090	7.700 ± 1.440
Polisulfona	6.675 ± 630	8.275 ± 2.450	8.133 ± 930	8.375 ± 1.840

Media ± desviación estándar. * p < 0,01 con relación a los cero minutos.

Tabla IV. Efecto sobre los neutrófilos/mm³ de las diferentes membranas durante la hemodiálisis

Membrana	0 min.	15 min.	30 min.	60 min.
Cuprofán	54,2 ± 16,8	7,2 ± 3,7 *	46 ± 9	73 ± 10,8 *
Poliacrilonitrilo	69 ± 14,4	71 ± 14,8	72 ± 18,2	75,2 ± 7,8
EVAL	71,2 ± 8	67 ± 13	69,5 ± 14,1	68,6 ± 18,5
Polisulfona	65,5 ± 4,6	60,7 ± 5,6	65,6 ± 7,7	65,7 ± 9,6

Media ± desviación estándar. * p < 0,01 con relación a los cero minutos.

Tabla V. Proteínas totales basales en g. % de los enfermos de hemodiálisis según el tipo de membrana

Membrana	Proteínas totales
Cuprofán	6,6 ± 0,2
Poliacrilonitrilo	6,3 ± 0,4
EVAL	6,2 ± 2,1
Polisulfona	7,1 ± 2,1

Media ± desviación estándar.

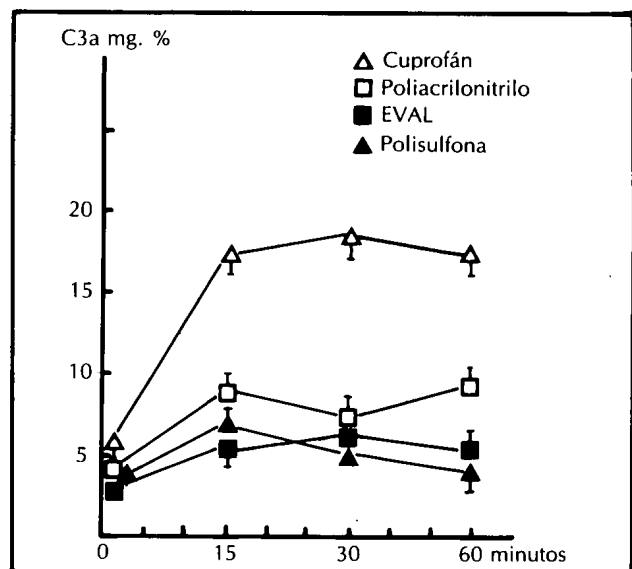


Fig. 2.—Variaciones del C3a durante la hemodiálisis.

prueba una elevación significativa en el cuprofán, no se modifica con la membrana de EVAL y se produce un descenso significativo con la polisulfona y poliacrilonitrilo, hecho recogido por otros autores^{13, 14}. El diferente comportamiento de la β -2-M, así como del C3a leucocitos y neutrófilos, hace pensar que en la cinética de la β -2-M no solamente influye la diferente permeabilidad de la membrana, sino también la capacidad antigénica de la misma, actuando sobre las células, estimulando su producción.

Las membranas convencionales de celulosa no eliminan la β -2-M y sí lo hacen otras de alta permeabilidad; así, con membranas de poliacrilonitrilo y polisulfona se ha descrito un coeficiente de filtración in vivo de 0,40-0,65¹⁵, existiendo autores¹⁶ que indican que el paso de β -2-M es significativamente mayor con la membrana de poliacrilonitrilo que con la de polisulfona; en nuestros enfermos, los descensos durante la hemodiálisis (tabla I) fueron mayores con la polisulfona. Quizá la β -2-M, que no se elimina por la hemodiálisis convencional, se acumula en los tejidos, describiéndose¹⁷ que la proteína amiloide aislada a partir de muestras de biopsia es homóloga a la β -2-M. La amiloidosis en pacientes en hemodiálisis se asocia a tenosinovitis de flexores, síndrome del túnel carpiano y artropatías destructivas^{18, 19}.

El diferente comportamiento demostrado en la cinética de la β -2-M con las membranas estudiadas, juntamente con la demostración llevada a cabo por Chanard y cols.²⁰, comprobando que la frecuencia del síndrome del túnel carpiano secundario a amiloidosis, se relaciona con el número de sesiones de diálisis utilizando cuprofán y que dicho síndrome era excepcional en los pacientes dializados con membranas de poliacrilonitrilo, podría condicionar en un futuro el tipo de membrana a utilizar.

Bibliografía

1. Vincent C, Revillard JP, Galland M y Traeger J: Serum β -2-microglobulin in hemodialyzed patients. *Nephron* 21:260-268, 1978.
2. Simon P, Cavarle YY y Ang KS: Evolution a long terme des trux seriques de β -2-microglobuline chez le patients hemodialyses en fonction de la membrane de dialyse utilisée. III Reunión Conjunta Franco-Italo-Española de Nefrología. Barcelona, 1986.
3. Gejyo F, Yamada T, Odoni S, Nakagawa Y, Arakawa M, Kunitomo T, Kataoka H, Suzuki M, Hirasawa Y, Shirahama T, Cohen AS y Schmid K: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as β -2-microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 129:701-706, 1985.
4. Bernier GM, Cohen RJ y Conrad ME: Microglobulinemia in renal failure. *Nature* 218:598-599, 1968.
5. Wibell L, Evrin PE y Berggard I: Serum beta-2-microglobulin in renal disease. *Nephron* 10:320-331, 1973.
6. Kostic S, Djordjevic V, Leuc M y Stefanovic V: Serum β -2-microglobulin in patients on maintenance hemodialysis. The effect of dialysis membrane. *Kidney Int* 28:338-340, 1985.
7. Berggard I y Bearn AG: Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 243:4095-4103, 1968.
8. Chenoweth D, Chevring AK, Ward D y Henderson L: Anaphylatoxin formation during hemodialysis: effects of different dialyzer membrane. *Kidney Int* 24:770-774, 1983.
9. Chenoweth D, Chevring AK y Henderson L: Anaphylatoxin formation during hemodialysis: comparison of new and re-used dialyzers. *Kidney Int* 24:764-769, 1983.
10. Grenner G y Dati F: β -2-microglobulin determination by a new enzyme immunoassay. *Clin Chem* 29:1240-1244, 1983.
11. Hakim R, Fearon D, Lazarus M y Perzanowski C: Biocompatibility of dialysis membranes: Effects of chronic complement activation. *Kidney Int* 26:194-200, 1984.
12. Folkenhagen D, Ahrenholz P, Folkenhagen V, Holtz M, Berhm E, Roy Th y Klinkman H: Mechanism involved in acute granulocytopenia in hemodialysis. *Artificial Organs* 7:44-48, 1983.
13. Vandenbrouk JM, Sadoul M, Moldague B, Huaux JP, Noel H e Ypersele de Strihou C: Possible role of dialysis membrane characteristics in amyloid osteoarthropathy. *The Lancet* 9:1210-1211, 1986.
14. Hauglustaine D, Waër M, Michielsen O, Goebels J y Vanderputte: Haemodialysis membranes, serum β -2-microglobulin, and dialysis amyloidosis. *The Lancet* 9:1211-1212, 1986.
15. Rockel A, Abdelhamid S, Fliegel P y Walb D: Elimination of low molecular weight proteins with high flux membranes. *Contr Nephrol* 46:69-74, 1985.
16. Chanard J, Lavaud S, Toupance O, Melin JP, Gillery P y Revillard JP: β -2-microglobulin - associated amyloidosis in chronic haemodialysis patients. *The Lancet* 9:1212-1213, 1986.
17. Gorevic PD, Casey TT, Stone WJ, Di Raimondo CR, Pirelli FC y Frangiones B: Beta-2-microglobulin is an amyloidogenic in man. *J Clin Invest* 76:2425-2429, 1985.
18. Charra B, Colemard E, Alzan M, Terra SC, Vanel T y Laurent G: Carpal Tunnel syndrome, shoulder pain and amyloid deposits in long-term hemodialysis patients. *Proc EDTA* 21:291-295, 1984.
19. Sebert JL, Fordilone P y Marie A: Destructive spondylarthropathy in hemodialyzed patients: Possible role of amyloidosis. *Arthritis Rheum* 29:301-303, 1986.
20. Chanard J, Lavaud S, Toupance O, Roujoule H, Doco JB y Melin JP: Carpal syndrome (CTS) in chronic hemodialysis patients: A criterium for membrane biocompatibility? *Abstracts EDTA* 115, 1986.