

Oxidación eritrocitaria y biocompatibilidad. Estudios a corto plazo con acetato de celulosa

R. Martos, M. Rodríguez-Puyol, G. Sevillano, M. L. Díez-Marqués, I. Duque, S. Lamas *
y D. Rodríguez-Puyol *

Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Alcalá de Henares, y *Sección de Nefrología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid).

RESUMEN

Estos experimentos se diseñaron para evaluar la posible influencia de la biocompatibilidad en el estado de oxidación de los glóbulos rojos de pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) terminal incluidos en programa de hemodiálisis periódica (HDP).

Los estudios se realizaron en 10 pacientes en HDP del hospital de Alcalá de Henares. Todos fueron sometidos a dos diálisis consecutivas con cuprophán (CU) y acetato de celulosa (AC). Se extrajeron muestras de sangre prediálisis (PRE) y a los veinte y ciento ochenta minutos de diálisis. Se cuantificaron los parámetros hematológicos y bioquímicos generales y las concentraciones plasmáticas de metahemoglobina (MHb) y eritrocitarias de malonildialdehído (MDA). La MHb y el MDA fueron también cuantificados tras incubación con xantina más xantina oxidasa (XXO).

Se observó un incremento significativo en el recuento de hematíes, hemoglobina y hematócrito a lo largo de la diálisis. A los veinte minutos de la misma el recuento leucocitario disminuyó significativamente con ambos tipos de membrana, pero fue más acusado en el caso del CU ($76 \pm 7\%$ vs $58 \pm 5\%$). Las modificaciones bioquímicas inducidas con ambos tipos de membrana fueron comparables. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones prediálisis de MHb y MDA, ni basalmente ni tras la incubación con XXO. Las concentraciones de MHb tendieron a disminuir a lo largo de la diálisis en ambos grupos, sin alcanzar las diferencias una significación estadística. Las concentraciones de MDA en la membrana eritrocitaria aumentaron en las diálisis con CU ($115 \pm 12\%$ de los valores basales a las tres horas), disminuyendo cuando se utilizó AC ($91 \pm 10\%$ de los valores basales a las tres horas), siendo las diferencias estadísticamente significativas.

Este efecto se magnificó tras la incubación con XXO. Los resultados sugieren que la falta de biocompatibilidad puede suponer una mayor agresión oxidativa para los hematíes, condicionando así una disminución de su vida media.

Palabras clave: Biocompatibilidad. Hematíes. Malonildialdehído. Metahemoglobina. Radicales libres. Oxidación.

Recibido: 12-II-1990.
Aceptado: 21-III-1990.

Correspondencia: Dr. D. Rodríguez-Puyol.
Sección de Nefrología.
Hospital Príncipe de Asturias.
Universidad de Alcalá de Henares.
Campus Universitario.
Alcalá de Henares.
28880 Madrid.

RED BLOOD CELL OXIDATION AND BIOCOMPATIBILITY. A SHORT TERM STUDY WITH CELLULOSE ACETATE

SUMMARY

Present study was designed to evaluate the possible oxidative influence of 2 hemodialysis (HD) membranes of different biocompatibility on red blood cell (RBC) of chronic renal failure (CRF) patients on regular hemodialysis (HD) treatment.

Ten patients of the Dialysis Unit of the Alcalá de Henares Hospital were studied in 2 consecutive dialysis, performed respectively with Cuprophane (CU) and with Cellulose acetate (CA) membranes. Blood was extracted at times 0 (just before starting the dialytic procedure), and 20 and 180 min after the beginning of the HD session and general hematologic and biochemical parameters were determined. Moreover, methemoglobin (MHb) concentration and Malonyldialdehyde (MDA) RBC content were also determined, directly and after incubation with xanthine plus xanthine oxidase.

An increment in the number of RBC, Hemoglobin (Hb) concentration and Hematocrit volumen (HcV) was observed along the HD with both membranes. At time 20 min, white blood cell (WBC) count decreased significantly with both membranes, but CU (Time 0: 8260 ± 340 . Time 20: 1982 ± 140 ; $p < 0.05$) induced a higher reduction than CA (time 0: 7995 ± 240 . Time 20: 3361 ± 200 ; $p < 0.05$), being the differences between both groups statistically significant (CU: 78 ± 6 %. CA: 60 ± 5 %; $p < 0.05$). The biochemical pattern throughout the dialysis procedure was comparable with both membranes. No changes could be detected on MHb concentration, although MHb concentrations showed a tendency to decrease through the dialytic procedure in both groups. MDA RBC content showed a tendency to increase after 3 hours with CU (115 ± 12 % of the basal value), whereas it tended to decrease with CA (91 ± 10 %), being the differences between both groups statistically significant. Incubation with XXO magnified the differences between both groups. These results suggest that RBC oxidative stress may improve by changing the characteristics of HD membranes. This phenomenon could be related to a better biocompatibility, although additional experiments are needed to confirm this hypothesis.

Key words: Biocompatibility. Red blood cell. Malonyldialdehyde. Methemoglobin. Free radical. Oxidation.

Introducción

El concepto de biocompatibilidad ha ido surgiendo a medida que los procedimientos dialíticos han incrementado su grado de sofisticación y los pacientes en hemodiálisis periódica (HDP) han sobrevivido períodos de tiempo más prolongados. Se puede definir biocompatibilidad como la propiedad de las membranas de diálisis de, por tener una composición química y una estructura determinadas, desencadenar un determinado tipo de respuesta por parte del organismo. Una membrana será tanto más biocompatible cuanto el grado de respuesta biológica sea menor.

En relación con esta respuesta biológica, el primer fenómeno descrito fue la disminución en el número de leucocitos que tenía lugar en los primeros mo-

mentos de las hemodiálisis con cuprophan (CU)¹⁻⁷. Desde entonces se han descrito modificaciones en el grado de activación del sistema del complemento^{4, 6, 8-10}, cambios en la función plaquetaria¹¹⁻¹³ y liberación de diversos mediadores con actividad biológica^{14, 15} provenientes, probablemente, de los propios elementos formes circulantes estimulados por el material exógeno. Las consecuencias a plazo medio y largo de todos estos fenómenos de activación biológica no están claras en el momento actual, si bien se ha sugerido que determinadas lesiones de amiloidosis relacionadas directamente con la hemodiálisis crónica pudieran ser la consecuencia de una falta de biocompatibilidad¹⁶⁻¹⁹.

Las relaciones entre función eritrocitaria y biocompatibilidad no han sido analizadas en profundidad, y

Tabla I. Características principales de los dializadores utilizados en el presente protocolo experimental. Los datos de aclaramiento (Acl) se expresan en ml/min, siendo $Q_B = 300$, y en el caso de la B₁₂, UF = 0

	CU	AC
Area (m ²)	1,1	1,2
Espesor (μm)	8	155
Act. urea	210	192
Act. creatinina	175	157
Act. fósforo	147	146
Act. B ₁₂	55	57

sería conceptualmente interesante intentar estudiar los efectos de una membrana de baja biocompatibilidad sobre la viabilidad de los eritrocitos. No sería arriesgado postular que, en el contexto de la importante activación biológica provocada en el torrente circulatorio tras el contacto de la sangre con un producto poco biocompatible, pudiera verse afectada en mayor o menor grado la integridad estructural o funcional de los hematíes, con la subsiguiente modificación de su vida media. Para analizar algunos de estos aspectos se planteó el presente protocolo.

Material y métodos

1. Pacientes, protocolo experimental y obtención de muestras

El estudio se realizó en 10 pacientes, cinco hombres y cinco mujeres, con edades comprendidas entre los veintisiete y cincuenta y ocho años (media: cuarenta y cuatro), todos en programa regular de HDP (cuatro horas, tres veces por semana) con membranas de CU desde hacía por lo menos seis meses. Todos los pacientes estaban estables clínicamente, no habían recibido transfusiones ni eritropoyetina en los tres meses anteriores al estudio, ni presentaban deficiencias de hierro. Realizaban una dieta pobre en potasio y se encontraban bajo tratamiento regular con hidróxido de aluminio, carbonato cálcico, calcitriol y suplementos de vitaminas hidrosolubles. Algunos pacientes con hipertensión tomaban una dieta hiposódica e hipotensores. Todos los individuos incluidos en el estudio dieron su consentimiento tras ser informados de la naturaleza del mismo.

Las membranas seleccionadas para realizar el estudio comparativo fueron CU y acetato de celulosa (AC). Las características principales de los dializadores utilizados aparecen en la tabla I.

Los pacientes fueron dializados una vez con cada membrana de forma consecutiva. El orden de utilización de los dializadores fue decidido al azar. Ambas

hemodiálisis experimentales se realizaron después de un período interdiálisis de cuarenta y cuatro horas, de modo que desde el punto de vista técnico las diálisis fueran comparables. En todos los casos se extrajeron 7 ml de sangre en condiciones basales (nada más pinchar la fístula arteriovenosa) (PRE) y a los veinte y ciento ochenta minutos del comienzo de la diálisis. La sangre extraída se recogió en tubos de vidrio con heparina (0,02 g/l de concentración final), separándose en dos alícuotas. La primera (2 ml) fue destinada a la cuantificación de los parámetros hematológicos generales y bioquímica sérica. La segunda (5 ml) fue centrifugada a 3.000 rpm durante veinte minutos, realizándose posteriormente tres lavados de hematíes²⁰ con solución salina tamponada con fosfatos (PBS: NaCl, 140 mM; NA₂HPO₄, 8,6 mM; NaH₂PO₄, 1,4 mM; pH, 7,4), resuspendiendo finalmente los hematíes obtenidos en PBS, con un hematócrito final aproximado del 50 % (se midió el hematócrito exacto en cada uno de los casos). La mitad de la solución obtenida se destinó a la cuantificación directa de metahemoglobina (MHb) y malonildialdehído (MDA). La otra mitad se incubó con xantina más xantin-oxidasa (XXO)²¹ bajo las siguientes condiciones experimentales: concentración de hematíes, 6,10¹¹ hematíes/l; concentración de xantina, 0,2 mM; concentración de xantin-oxidasa, 2 mU/ml; temperatura, 37° C; tiempo de incubación, sesenta minutos. Se detuvo la incubación introduciendo rápidamente los tubos en hielo y centrifugándolos a 3.000 rpm y 4° C durante veinte minutos. Se desechó el sobrenadante y los glóbulos rojos obtenidos tras la incubación fueron lavados tres veces y resuspendidos en PBS bajo las mismas condiciones experimentales descritas anteriormente, obteniéndose suspensiones de glóbulos rojos tras la incubación con XXO. En una alícuota de estas suspensiones se cuantificó el Hto y la Hb según técnicas estándar. A partir de ese momento ambos tipos de suspensiones de hematíes, sin y con tratamiento con XXO, fueron procesadas en paralelo para la cuantificación de MHb y MDA.

2. Métodos

Un mililitro de sangre completa fue destinado a la cuantificación de los parámetros hematológicos generales mediante técnicas estándar automatizadas (Technicon-H1, Technicon): recuento de hematíes, concentración de hemoglobina (Hb), hematócrito (Hto), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y recuento de leucocitos. Un mililitro fue centrifugado a temperatura ambiente durante veinte minutos a 3.000 rpm, analizándose las concentraciones plasmáticas de sodio (Na⁺), potasio (H⁺) y nitrógeno ureico sanguíneo (NUS).

La MHb se cuantificó según técnicas previamente descritas²². A una muestra de 200 μl de suspensión de hematíes se le añadieron 10 ml de un tampón fos-

Tabla II. Parámetros hematológicos generales y bioquímica plasmática en las diálisis con CU y AC. Se muestran los valores prediálisis (PRE) y los valores al cabo de 180 min del procedimiento dialítico

	CU		AC	
	PRE	180	PRE	180
GR ($\times 10^{12}/l$)	2,90 \pm 0,68	3,16 \pm 0,48*	2,87 \pm 0,48	3,16 \pm 0,49*
Hto (%)	25,5 \pm 4,6	27,4 \pm 3,5*	25,0 \pm 4,8	27,3 \pm 5,3*
Hb (g/dl)	9,9 \pm 1,4	10,8 \pm 0,6*	9,8 \pm 1,5	10,6 \pm 1,0*
VCM (fl)	87,8 \pm 6,5	86,7 \pm 6,8	86,8 \pm 7,2	86,6 \pm 6,0
HCM (pg)	33,8 \pm 4,1	34,0 \pm 4,5	33,9 \pm 4,6	33,7 \pm 5,1
Na ⁺ (mM)	134,0 \pm 3,8	139,1 \pm 1,5*	133,6 \pm 1,8	138,5 \pm 1,4*
K ⁺ (mM)	5,8 \pm 1,8	3,2 \pm 0,6*	5,9 \pm 1,6	3,0 \pm 0,4*
NUS (mg %)	110,8 \pm 16,1	46,3 \pm 5,4*	114,9 \pm 11,9	41,5 \pm 6,1*

GR: número de glóbulos rojos por unidad de volumen. Hto: hematocrito. Hb: concentración de hemoglobina. VCM: volumen corpuscular medio. HCM: hemoglobina corpuscular media. NUS: nitrógeno ureico sanguíneo. * $p < 0,05$ vs PRE.

fato hipotónico (TFH: K_2HPO_4 , 6 mH; KH_2PO_4 , 11 mH; pH, 6,6) que contenía 50 μ l de Triton X-100. Tras mezclar cuidadosamente y esperar quince minutos a temperatura ambiente, se separaron dos alícuotas de 4 ml. En la primera se midió la absorbancia a 630 nm sin (A_1) y con adición de 50 μ l de KCN al 10 % (A_2), considerando el TFH como blanco. Después se añadieron 5 mg de FeKCN a la segunda alícuota y a los cinco minutos se midieron las absorbancias en las mismas condiciones descritas anteriormente (A_3 y A_4). La concentración de metahemoglobina se calculó según la fórmula:

$$MHB \text{ (mg/dl)} = Hb \text{ (mg/dl)} \times (A_1 - A_2) / (A_3 - A_4)$$

La concentración de MDA en la membrana de los hematíes se cuantificó por la técnica del ácido tiobarbitúrico²³. Para obtener membranas libres de hemoglobina²⁰ se resuspendieron 600 μ l de hematíes lavados en 10 ml de TFH. Tras mezclar y esperar treinta minutos se centrifugaron los tubos a 20.000 g y 4° C durante cuarenta minutos, desechándose los sobrenadantes, y lavándose otras tres veces con TFH bajo las mismas condiciones. Las membranas así obtenidas se resuspendieron en 1 ml de PBS, añadiendo 0,5 ml de ácido tricloroacético al 25 % (TCA). Estas muestras fueron centrifugadas a 3.000 rpm durante veinte minutos, recogiendo los sobrenadantes, que se almacenaron a 20° C hasta el momento de su análisis. Para la cuantificación del MDA se tomaron 1,25 ml de sobrenadante, incubándose durante quince minutos a 100° C con 0,25 ml de ácido tiobarbitúrico (0,67 % en NaOH 0,05 M), leyéndose posteriormente las absorbancias a 532 nm. Se utilizaron concentraciones conocidas de tetrametoxipropano (0,04-3,02 μ M) para la curva estándar. Los valores obtenidos se corrigieron con respecto al volumen total de células rojas utilizando los hematocritos.

3. Métodos estadísticos

Los datos se expresan como $\bar{x} \pm eem$. Los resulta-

dos a los veinte y ciento ochenta minutos del comienzo de la diálisis se expresan en tanto por ciento de los valores a tiempo 0. Se utilizaron la *t* de Student para datos pareados, la prueba de Friedman y el análisis de varianza de doble entrada para comparar los distintos resultados. Se consideró como significativa una $p < 0,05$.

Resultados

La tabla II recoge los parámetros hematológicos generales en las diálisis con CU y AC. Después de tres horas de diálisis el recuento de glóbulos rojos, el hematocrito y la concentración de hemoglobina aumentaron significativamente con respecto a los valores iniciales, pero los cambios fueron comparables con ambos tipos de membrana. No se observaron diferencias significativas en los índices eritrocitarios. El recuento de leucocitos disminuyó significativamente a los veinte minutos tanto en la diálisis con CU (leucocitos tiempo 0: 8.260 \pm 340; leucocitos tiempo 20: 1.982 \pm 140; $p < 0,05$) como en la de AC (leucocitos tiempo 0: 7.995 \pm 240; leucocitos tiempo 20: 3.361 \pm 200; $p < 0,05$). No obstante, la disminución observada con la membrana de AC (58 \pm 5 %) fue menor que la de CU (76 \pm 7 %), siendo las diferencias entre los valores de ambos grupos a los veinte minutos estadísticamente significativas. Los parámetros bioquímicos generales también se recogen en la tabla II. Como era de esperar, se observó una tendencia a la normalización de los parámetros evaluados, no observándose diferencias significativas con la utilización de CU o AC. La tolerancia clínica de las diálisis con CU y AC fue comparable, y la media de la ultrafiltración total, evaluada según la pérdida de peso intradiálisis, teniendo en cuenta los ingresos orales e intravenosos en las diálisis experimentales, fue totalmente superponible (CU: 3,31 \pm 0,82 kg; AC: 3,42 \pm 0,64 kg).

Tabla III. Concentraciones plasmáticas de metahemoglobina (MHb) y concentraciones intraeritrocitarias de malondialdehído (MDA) antes de comenzar el procedimiento dialítico con membranas de cuprophan (CU) o de acetato de celulosa (AC) en condiciones basales (B) y en presencia de xantina más xantin-oxidasa (XXO)

	CU		AC	
	B	XXO	B	XXO
MHb (g/dl)	0,16 ± 0,04	1,10 ± 0,11**	0,18 ± 0,03	1,16 ± 0,25**
MDA (nmol/mlGR)	1,91 ± 0,1	2,3 ± 0,2*	2,00 ± 0,3	2,4 ± 0,1*

* p < 0,05 vs B. ** p < 0,01 vs B.

Tabla IV. Variaciones intradiálisis en las concentraciones plasmáticas de metahemoglobina (MHb) y en las concentraciones eritrocitarias de malondialdehído (MDA), con membrana de cuprophan (CU) o de acetato de celulosa (AC), en presencia o no de xantina más xantin-oxidasa

	CU			AC		
	PRE	20	180	PRE	20	180
MDA (B)	100	109 ± 11	115 ± 12	100	97 ± 10*	91 ± 10*
MDA (XXO)	100	107 ± 6	130 ± 15	100	98 ± 8*	86 ± 5**
MHb (B)	100	87 ± 8	90 ± 5	100	88 ± 10	84 ± 13
MHb (XXO)	100	90 ± 6	95 ± 8	100	93 ± 5	93 ± 8

Los resultados se expresan en todos los casos en % de los valores prediálisis (PRE). 20: valores a los veinte minutos del comienzo de la diálisis. 180: valores a los ciento ochenta minutos del comienzo de la diálisis. B: valores en condiciones basales. XXO: valores en presencia de xantina más xantin-oxidasa.

* p < 0,05 vs los mismos valores en el grupo CU. ** p < 0,01 vs los mismos valores en el grupo CU (comparación realizada con análisis de varianza de doble entrada en función del tiempo de diálisis y de la membrana utilizada).

No hubo diferencias en las concentraciones PRE de MHb y MDA en función del tipo de dializador utilizado, como puede observarse en la tabla III. En esa misma tabla se recogen los resultados del tratamiento de los hematíes obtenidos prediálisis con un sistema generador de radicales libres, evidenciándose un incremento significativo de la MHb y del MDA, independientemente de la membrana utilizada.

A lo largo de la diálisis se observó una tendencia a la disminución en las concentraciones de MHb, tanto basalmente como tras tratamiento con XXO, similar en ambos grupos experimentales, no existiendo en ningún momento diferencias estadísticamente significativas (tabla IV). No obstante, las diálisis con membranas de CU indujeron un incremento en las concentraciones eritrocitarias de MDA, mientras que el AC condicionó una disminución de las mismas, siendo las diferencias entre ambos grupos estadísticamente significativas (tabla IV). Estas diferencias se magnificaron tras el tratamiento con XXO (tabla IV).

Discusión

Los presentes experimentos se diseñaron con el fin de intentar evaluar las posibles consecuencias de una falta de biocompatibilidad sobre la capacidad antioxidante de los eritrocitos. Se comparó para ello la

membrana estándar de CU con la de AC, con prestaciones dialíticas similares (tabla I), pero con una mejor biocompatibilidad. Estos aspectos fueron verificados experimentalmente, comprobando que las variaciones intradiálisis de pequeñas moléculas eran comparables con ambos tipos de membrana, siendo posible demostrar también que la reducción en el recuento leucocitario era discretamente menor con el AC que con el CU^{4, 5}. En ambos tipos de diálisis se comprobó también un discreto aumento en el recuento de hematíes, hemoglobina y hematócrito, sin modificaciones en los índices eritrocitarios, como era de esperar por la ultrafiltración asociada a la diálisis.

Para intentar cuantificar el estrés oxidativo asociado a la diálisis con membranas de baja biocompatibilidad decidimos determinar las concentraciones de MHb y de MDA. El primero de estos compuestos se produce por la oxidación de la hemoglobina²⁴, mientras que el segundo es la consecuencia del efecto de las sustancias oxidantes sobre los ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana²⁵. Se puede postular que a mayor producción de metabolitos oxidantes, mayor concentración eritrocitaria de MHb y MDA. No obstante, esto no es totalmente cierto, ya que el eritrocito dispone de una determinada dotación antioxidante²⁶ que puede contribuir al manejo de los metabolitos tóxicos, evitando el incremento en

la MHb y el MDA. En estas condiciones, los eritrocitos perderían parte de su dotación enzimática antioxidante y, dado que su capacidad de síntesis es limitada²⁷, su reserva antioxidativa disminuiría. En estos eritrocitos, y con una oxidación controlada, sería posible inducir una mayor formación de MHb y MDA, poniendo así de manifiesto lo que podría haber quedado encubierto en condiciones basales. Por estas razones se cuantificaron las concentraciones de MHb y MDA tanto basalmente como tras la incubación con un complejo generador de radicales libres, tras poner en contacto la sangre de los pacientes con las membranas de diálisis.

No se observaron variaciones significativas ni a lo largo de la diálisis, ni en función de la membrana utilizada, en las concentraciones de MHb. No obstante, el hecho de que las concentraciones de Hb aumentaran en ambos tipos de diálisis, junto con la tendencia a la disminución de la MHb, nos hizo pensar que quizá la proporción de MHb con respecto a la Hb total podría disminuir como consecuencia de la diálisis. El análisis de estas proporciones (datos no mostrados) no demostró diferencias significativas a ningún nivel. Tras la incubación con xantina más xantin-oxidasa, como era de esperar, se observó un aumento general en las concentraciones de MHb, pero las variaciones intradialíticas con ambas membranas fueron totalmente similares.

Las membranas de CU indujeron un incremento significativo en las concentraciones de MDA con respecto al AC, efecto que fue magnificado con la adición de xantina más xantin-oxidasa. En una primera lectura estos resultados sugieren que la capacidad oxidativa de las membranas de CU es superior a la de AC, probablemente como consecuencia de la existencia de grupos hidroxilo no presentes en el caso del AC²⁸. No obstante, existen otras posibilidades que deben ser tenidas en cuenta. En primer lugar, se sabe que determinadas células sanguíneas, en particular los leucocitos, son capaces de sintetizar elevadas cantidades de metabolitos activos del oxígeno tras entrar en contacto con membranas de baja biocompatibilidad²⁹. Así pues, la fuente de la agresión oxidativa eritrocitaria podría no ser la membrana en sí, sino los metabolitos celulares liberados como consecuencia de la falta de biocompatibilidad. Pero además existe la posibilidad de que los efectos observados no tengan ninguna relación con la biocompatibilidad y sean sólo la consecuencia de una depuración metabólica más eficaz asociada a la utilización de membranas más biocompatibles. En efecto, en líneas generales las membranas más biocompatibles tienen una mayor capacidad de aclaramiento de moléculas tóxicas, en particular las de peso molecular medio, y no es difícil aceptar que a mayor mejoría de la uremia, mejor situación metabólica de los eritrocitos. No obstante, en el presente caso esta posibilidad nos

parece poco probable por diversas razones. No hemos sido capaces de detectar variaciones significativas, en función de la membrana utilizada, en los metabolitos de bajo peso molecular, y aunque no se han realizado mediciones directas de otras moléculas más grandes, las prestaciones de los dializadores utilizados, con respecto a este tipo de moléculas, fueron totalmente comparables. Además, las ultrafiltraciones totales en ambos grupos experimentales fueron muy similares, por lo que se puede afirmar que las fuerzas de convección, importantes en el transporte de moléculas de tamaño medio, fueron superponibles. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se puede sugerir que las membranas de CU, bien directamente, bien mediante la activación de determinados elementos celulares, pueden condicionar un cierto grado de agresión oxidativa de los eritrocitos, manifestada por un aumento en las concentraciones de MDA, y que este efecto puede ser prevenido mediante la utilización de membranas más biocompatibles, como es el caso del AC.

Las consecuencias de estos fenómenos fisiopatológicos distan mucho de estar aclaradas. Es posible que la agresión oxidativa repetida acabe determinando una disminución en la vida media de los hematíes, con lo que la falta de biocompatibilidad podría estar implicada en la patogénesis de uno de los factores condicionantes de la anemia de los individuos en programa de hemodiálisis, como es la disminución en la supervivencia eritrocitaria. No obstante, no existe una demostración directa de este fenómeno. Determinados datos experimentales³⁰ demuestran que la utilización crónica de membranas de poliacrilonitrilo (AN 69) disminuyen los requerimientos transfusionales de los pacientes en hemodiálisis, si bien existen múltiples factores que podrían estar implicados en esta mejoría. Sería preciso realizar una evaluación directa de la vida media eritrocitaria, controlando adecuadamente una serie de variables, con el fin de responder de una forma definitiva a esta pregunta.

En resumen, se puede sugerir que la utilización de membranas de baja biocompatibilidad puede favorecer la oxidación eritrocitaria, con la subsiguiente reducción de la vida media de los hematíes, si bien la importancia cuantitativa de estos fenómenos es difícil de evaluar a la vista de los presentes resultados. Estudios a largo plazo y con otras membranas de mayor biocompatibilidad, actualmente en curso, pueden contribuir a responder adecuadamente a estos planteamientos.

Agradecimientos:

Queríamos dar las gracias a los ATS de la Unidad de Diálisis del Hospital de Alcalá de Henares por su ayuda en la obtención de muestras y en el control de las diálisis ex-

perimentales. El trabajo fue realizado con una ayuda de investigación del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social. I. Duque Marín es una becaria de esa misma Institución.

Bibliografía

- Kaplow LS y Goffinet JA: Profound neutropenia during the early phase of hemodialysis. *JAMA* 203:133-135, 1968.
- Toren M, Goffinet JA y Kaplow LS: Pulmonary bed sequestration of neutrophils during hemodialysis. *Blood* 36:337-340, 1970.
- McGregor RR: Granulocyte adherence changes induced by hemodialysis endotoxin, epinephrine and glucocorticoids. *Ann Intern Med* 86:35-39, 1977.
- Craddock PR, Fehr J, Brigham KL, Kronenberg RS y Jacob HS: Complement and leukocyte mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis. *N Engl J Med* 296:769-774, 1977.
- Craddock PR, Fehr J, Dalmaso AP, Brigham KL y Jacob HS: Hemodialysis leukopenia: Pulmonary vascular leukostasis resulting from complement activation by dialyzer cellophane membranes. *J Clin Invest* 59:879-888, 1977.
- Jacob AI, Gavelles G, Zarco R, Pérez G y Bourgoignie JJ: Leukopenia, hypoxia and complement function with different hemodialysis membranes. *Kidney Int* 18:505-509, 1980.
- Aljama P, Martín-Malo A, Garín JM, Torres A, Castillo D, Fuentes M y Gómez JM: Granulocyte adherence changes: An index of biocompatibility. *Kidney Int* 33 (24):68-72, 1988.
- Craddock PR, Hammerschmidt DE, White JG, Dalmaso AP y Jacob HS: Complement (C5a)-induced granulocyte aggregation in vitro: A possible mechanism of complement-mediated leukostasis and leukopenia. *J Clin Invest* 60:260-264, 1977.
- Aljama P, Bird PAE, Ward MK, Feest TG, Walker W, Tanboga H, Sussman M y Kerr DNS: Hemodialysis induced leukopenia and activation of complements: Effects of different membranes. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 15:144-153, 1978.
- O'Falgerty JT, Craddock PR y Jacob HS: Effect of intravascular complement activation on granulocytes adhesiveness and distribution. *Blood* 51:731-739, 1978.
- Levin RD, Kwaan HC e Ivanovich P: Changes in platelet function during hemodialysis. *J Lab Clin Med* 92 (5):779-786, 1978.
- Adler AJ y Berlyne GM: Beta-Thromboglobulin and platelet factor-4 levels during hemodialysis with polyacrylonitrile. *Asaio Journal* 4 (3):100-105, 1981.
- Addonizio VP, Smith JP, Guid LR, Strauss II JF, Colman RW y Edmunds LH: Thromboxane synthesis and platelet protein release during simulated extracorporeal circulation. *Blood* 53:6-10, 1979.
- Skubitz KM y Craddock PR: Reversal of hemodialysis granulocytopenia and pulmonary leukostasis. *J Clin Invest* 67:1383-1391, 1981.
- Chenoweth DE, Cheung AK y Henderson LW: Anaphylotoxin formation during hemodialysis: Effects of different dialyzer membranes. *Kidney Int* 24:764-769, 1983.
- Schwartz A, Keller F y Seifert S: Carpal tunnel syndrome: A major complication in long-term hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 22:133-137, 1984.
- Brown EA, Arnold JR y Gower PE: Dialysis arthropathy: complication of long term treatment with hemodialysis. *Br Med J* 292:163-166, 1986.
- Bardin T, Cingraff J, Kuntz D y Druke T: Dialysis-related amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1:151-154, 1986.
- Hauglustaine D, Waër M y Michielsen P: Hemodialysis membranes, serum beta-2-microglobulin and dialysis amyloidosis. *Lancet* i:1211-1212, 1986.
- Fairbanks G, Theodore L, Steck L y cols.: Electrophoretic analysis of the major polypeptides of human erythrocyte membrane. *Biochemistry* 110:2606-2617, 1971.
- Hertz F y Cloarec A: Pharmacology of free radicals: Recent views on their relation to inflammatory mechanism. *Life Sci* 34:713-720, 1984.
- Brown BA: Routine Hematology Procedures. In Hematology: Principles and Procedures. 29-71. Lea & Febiger, Philadelphia, 1984.
- Stocks J y Dormandy TL: The autooxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Brit Journal Haem* 20:95, 1971.
- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ y Rundles W: Methemoglobinemia and sulfhemoglobinemia. *Hematology* 54:491-494, 1977.
- Dawbrowski A, Gabhryelewicz A, Wereszczynska-Siemiatkowska U y Chyczewski L: Oxygen-derived free radicals in cerulein-induced acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 23:1245-1249, 1988.
- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ y Rundles: Energy metabolism and maintenance of erythrocytes. *Hematology* 19:177-189, 1977.
- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ y cols.: Synthesis and metabolism of nucleic acids and nucleotides. *Hematology* 14:142-145, 1977.
- Drukker W, Parsons FM y Mazher JF: Membranes. Replacement of renal function by dialysis. *Boston* 4:97-105, 1983.
- Koda Y, Hirasawa Y, Suzuki M y Nakajima M: *In vitro* respiratory burst activity of polymorphonuclear leukocyte (PMN) in long-term hemodialysis (HD) patients. *Kidney Int* 37 (1):305, 1990.
- Melin JP: An-69 membrane and short dialysis. Long term results. Experience of a hemodialysis unit over a period of five years. Thesis for Certificate of Nephrology, Necker Hospital, Paris, 1978.