

# Valoración de parámetros de edad eritrocitaria en enfermos hemodializados tras tratamiento con eritropoyetina

C. Solís \*, J. L. Miguel \*\*, F. Borrego \*\*, R. Selgas \*\*, M. A. Bajo \*\*, G. Caparrós \*\* y J. Muñoz \*\*  
Servicio de Bioquímica \* y Nefrología \*\*. Hospital La Paz. Madrid.

## RESUMEN

El hematíe tiene algunos componentes cuya concentración disminuye al envejecer la célula, debido a su limitada capacidad biosintética. Estos compuestos están íntimamente relacionados con la edad del hematíe, ya que se elevan en los eritrocitos jóvenes. Este estudio analiza la variación de algunos de estos compuestos, creatina, GOT y hexoquinasa eritrocitarias, tras el tratamiento con eritropoyetina (r-hEPO) de pacientes hemodializados. Los valores basales de los parámetros en estudio son significativamente más altos en los pacientes que en el grupo control. Tras el tratamiento se produce un incremento significativo de los reticulocitos en la segunda semana, que persiste hasta el segundo mes. La creatina se incrementa significativamente en la segunda semana y su elevación persiste hasta el tercer mes. Las enzimas estudiadas son menos sensibles. La GOT se incrementa significativamente en la sexta semana y la hexoquinasa la sexta semana y tercer mes. Las diferencias entre los valores basales de los pacientes y el grupo control pueden atribuirse a la moderada hemólisis de los primeros. El incremento de creatina tras el tratamiento es tan sensible como la estimación de reticulocitos y tiene la ventaja de que es un parámetro más persistente y exacto. Tanto los reticulocitos como la creatina se incrementan antes de la elevación de la Hb. Las enzimas estudiadas no han sufrido una variación estimable.

Palabras clave: **Eritropoyetina. Anemia de la insuficiencia renal. Creatina. GOT. Hexoquinasa eritrocitarias.**

## EVALUATION OF ERYTHROCYTIC AGE RELATED COMPOUNDS AFTER TREATMENT WITH ERYTHROPOIETIN OF HEMODIALYZED PATIENTS

### SUMMARY

The erythrocyte has some components whose concentration decreases as the cell ages due to its limited biosynthetic capacity. These components are closely related to the erythrocyte age since they are higher in young red cell populations. The present study analyzes the variation of some of these compounds, creatine, GOT, and Hexokinase, after treatment of chronically dialyzed patients with

*erythropoietin (r-hEPO). Before r-hEPO treatment, the values of reticulocytes, creatine, GOT and Hexokinase are significantly higher in the patients than the control group. After treatment of the patients group there is a significant increase of reticulocytes in the 2nd week. The elevation persists until the 2nd month. Creatine increases significantly also in the 2nd week and the elevation lasts until the 3rd month. GOT increases significantly in the 6th week and Hexokinase in the 6th week and 3rd month. The differences between the baseline values of the patients and the control group can be attributed to the mild hemolysis that the former have. The increase of creatine after treatment is as sensitive as the estimation of reticulocytes, being on the other hand a more persistent and accurate parameter. Both creatine and reticulocytes increase before Hb elevation. The enzymes studied are not very sensitive to the r-hEPO treatment.*

**Key words:** *Erythropoietin. Anemia of renal failure. Erythrocytic creatine. Erythrocytic GOT. Erythrocytic Hexokinase.*

## Introducción

La aparición de la r-HuEPO ha supuesto un avance definitivo en el tratamiento de la anemia de los pacientes con insuficiencia renal<sup>1</sup>. Se ha comprobado una rápida y brillante respuesta en las cifras de Hb de la mayor parte de los pacientes urémicos tratados<sup>2</sup>. El mecanismo de acción de esta hormona no está totalmente esclarecido, tanto a nivel celular como a nivel molecular. Aunque el proceso de maduración y envejecimiento del hematíe no es conocido totalmente, se sabe que algunos componentes eritrocitarios van disminuyendo a lo largo de él, debido, entre otras cosas, a la limitada capacidad biosintética de esta célula. Algunas proteínas eritrocitarias, muchas de ellas con actividad enzimática, y otros metabolitos, como la creatina, disminuyen notablemente al envejecer el hematíe<sup>3-5</sup>. Estos compuestos podrían en cierto modo indicar la vida media del eritrocito.

Nuestro trabajo analiza la variación de algunos de estos componentes eritrocitarios debida al tratamiento con r-HuEPO en pacientes en diálisis.

## Material y métodos

El grupo estudiado se componía de 39 pacientes en diálisis crónica, 16 de los cuales fueron tratados con r-HuEPO intravenosa por anemia con cifras de Hb < de 9 g/dl ( $x = 7,5 \pm 0,85$ , rango 6,5-9,4 g/dl); 13 se trataban mediante HD convencional y los restantes con hemo o biofiltración. Durante el tiempo de seguimiento ningún paciente recibió transfusiones. La r-HuEPO se administró i.v. al final de cada sesión de diálisis, con dosis iniciales de 50 U/kg, incrementándose en 25 U/kg cada tres semanas hasta conseguir una Hb de 10-12 g/dl. Si se alcanzaban los 12 g/dl se suspendía o reducía su administración; 39 sujetos sanos sirvieron como grupo control, con eda-

des y distribución por sexo similares a las del grupo estudiado.

Los parámetros analizados fueron: Hb, Hto, reticulocitos, creatina eritrocitaria, GOT eritrocitaria y hexokinasa eritrocitaria (HK). La Hb y el Hto se determinaron mediante autoanalizador H1 de Technicon. Los reticulocitos por conteo de 1.000 células, con tinción de azul cresil brillante, expresados en ‰. La creatina eritrocitaria mediante un método colorimétrico basado en la estimación del producto coloreado que se forma al actuar el peróxido de hidrógeno sobre un sistema cromógeno, expresada en mg/dl hematíe. Este peróxido de hidrógeno procede de la descomposición enzimática de la creatina. La determinación de GOT y HK eritrocitaria expresadas en U/g Hb, se hizo mediante el método de Beutler<sup>6</sup>. Las muestras de sangre se obtuvieron antes de la hemodiálisis correspondiente a la mitad de la semana. Las determinaciones analíticas se realizaron quincenalmente durante tres meses.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante ordenador, aplicando los test de la t de Student y ANOVA.

## Resultados

Los valores basales de los parámetros estudiados fueron significativamente más altos en los pacientes hemodializados que en el grupo control (tabla I). La evolución de los parámetros, tras el tratamiento con r-HuEPO, está descrita en la tabla II y las figuras 1, 2 y 3. Durante los dos primeros meses de tratamiento observamos una elevación en la cifra de Hb paralela a la dosis de r-HuEPO administrada, hasta que se alcanza el valor máximo deseado, manteniéndose ésta estable, a pesar de reducir generalmente la dosis (fig. 1). La respuesta reticulocitaria máxima se alcanza en la primera quincena de tratamiento, mante-

**Tabla I.** Valores de reticulocitos, creatina eritrocitaria, hexokinasa y GOT eritrocitarias en población control y pacientes en hemodiálisis. Corresponden a la media, apareciendo la desviación estándar entre paréntesis.

	Reticulocitos	Creatina	HK	GOT
Control (n = 39) .....	11,5 (5,9)	12,5 (4,1)	1,02 (0,42)	3,2 (0,93)
HD (n = 39) .....	16,4 (10,4)	18,9 (6,2)	1,40 (0,39)	4,1 (1,46)

**Tabla II.** Evolución de la Hb, reticulocitos, creatina eritrocitaria, hexokinasa y GOT eritrocitarias con el tratamiento con r-HuEPO en pacientes en hemodiálisis. Corresponden a la media, apareciendo la desviación estándar entre paréntesis.

	Hb	Retic.	Creatina	HK	GOT
Basal .....	7,7 (0,8)	14,4 (7,3)	17,4 (5,4)	1,3 (0,2)	3,8 (1,6)
15 días .....	8,0 (0,7)	26,6 (10,6)	23,2 (4,4)	1,7 (0,4)	3,9 (0,9)
30 días .....	8,6 (1,1)	25,4 (5,7)	25,5 (6,0)	1,7 (0,5)	4,4 (1,3)
45 días .....	9,3 (1,2)	31,6 (8,7)	22,0 (6,5)	1,9 (0,4)	5,0 (1,6)
60 días .....	10,3 (1,8)	24,3 (13)	24,4 (6,0)	1,7 (0,4)	4,2 (1,6)
75 días .....	10,5 (1,6)	18,2 (6,6)	27,6 (2,5)	1,4 (0,1)	3,9 (1,7)
90 días .....	10,5 (1,2)	21,2 (14,3)	24,3 (9,2)	1,9 (0,7)	4,4 (2,0)

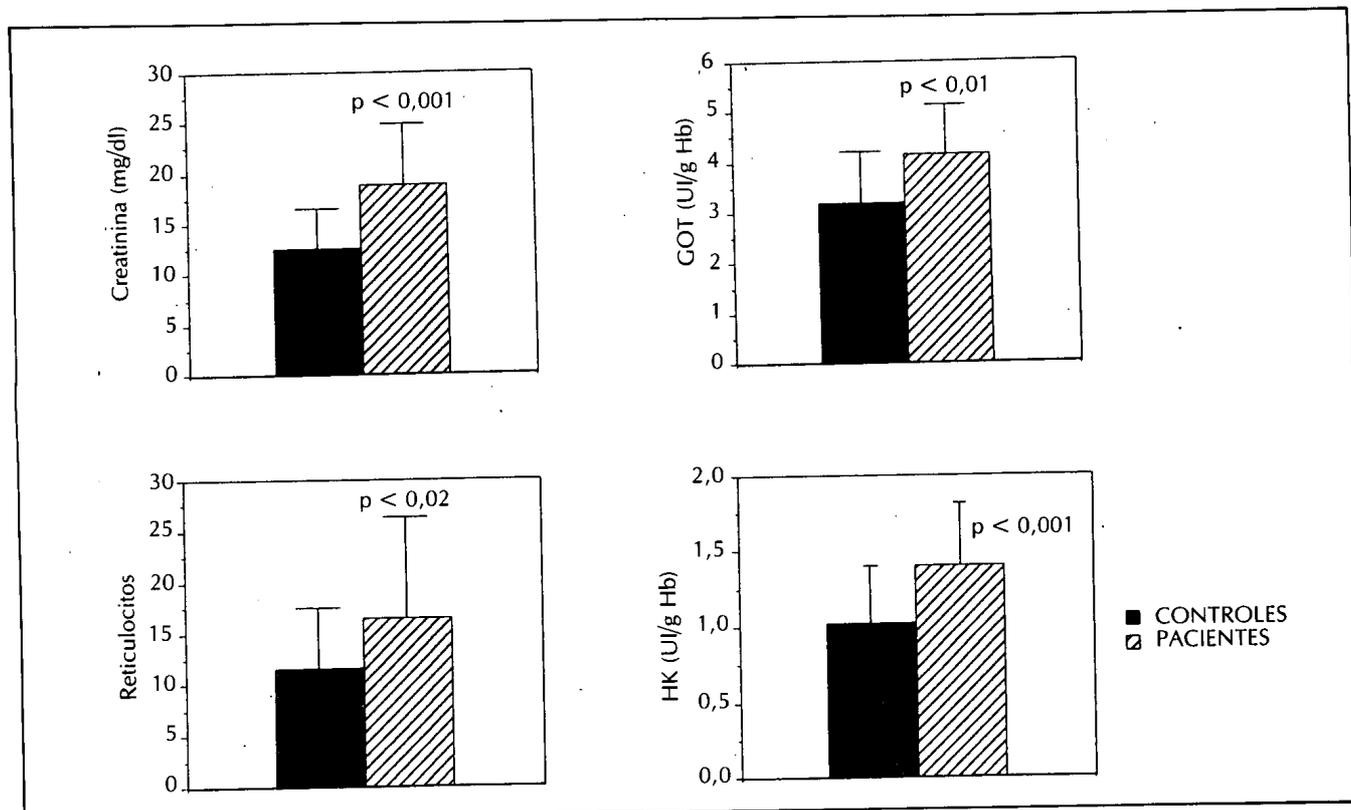


Fig. 1.—Valores basales del grupo control y pacientes en hemodiálisis.

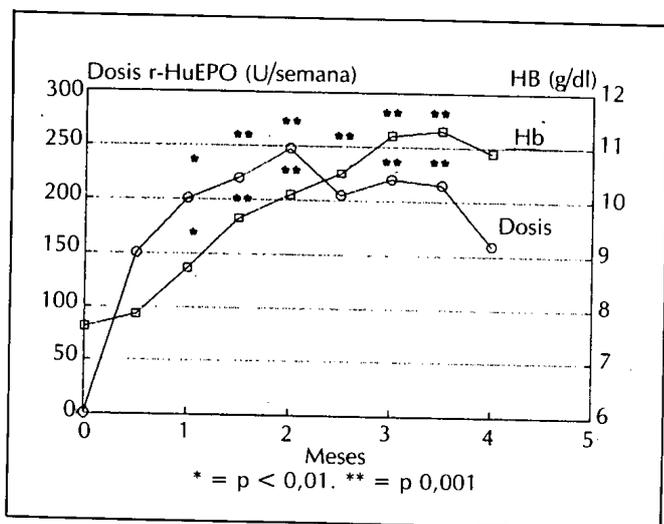


Fig. 2.—Evolución de la Hb y dosis administrada de r-HuEPO.

niéndose durante dos semanas y declinando después hasta mantenerse por encima de los valores basales (fig. 2). La elevación de la creatina eritrocitaria es también más precoz que la de la Hb, pues ya en la primera quincena se incrementa significativamente (fig. 2). Los valores máximos aparecen más tardíamente que los de los reticulocitos, coincidiendo con la máxima elevación de la tasa de Hb. Las enzimas eritrocitarias han sido menos sensibles al tratamiento con r-HuEPO (fig. 3). Cabe destacar únicamente un ligero aumento, aunque estadísticamente significativo, de la GOT en la tercera quincena de tratamiento y de la HK en el tercer mes, también con significación estadística, pero su carácter aislado hace difícil su interpretación (fig. 4).

### Discusión

El primer resultado sorprendente de este estudio fue el hallazgo de unos valores basales de los parámetros analizados superiores en los pacientes hemodializados respecto a los controles normales, incluidos los reticulocitos. Esto contrasta con otros trabajos en los que la cifra de reticulocitos corregidos está por debajo de lo normal<sup>7</sup>. Esta discrepancia puede deberse a la manera de expresar los reticulocitos. Nosotros no hemos corregido la cifra de reticulocitos por considerar que en los enfermos renales es extremadamente difícil aplicar los criterios de corrección. Estos tienen en cuenta dos factores: la anemia del sujeto y el tiempo de maduración de los reticulocitos en sangre periférica. El primero está claramente definido, dado el hematócrito del paciente, pero el segundo está precisamente influenciado por la eritropoyetina, que alarga el período madurativo al provocar una salida prematura de los mismos de la médula ósea<sup>8</sup>.

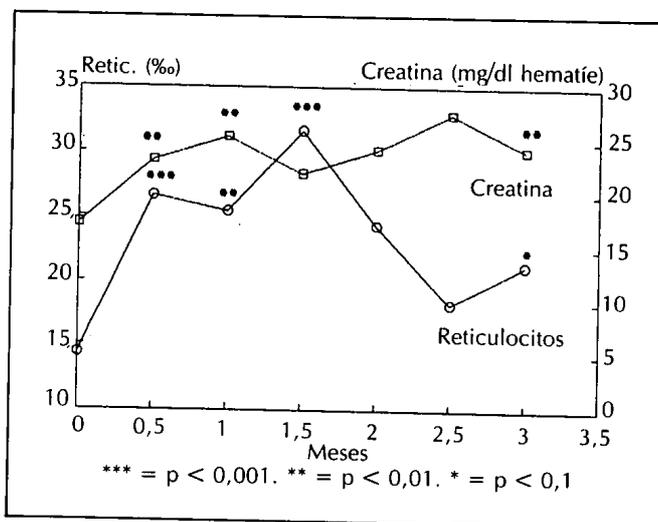


Fig. 3.—Evolución de los reticulocitos y creatina eritrocitaria en los pacientes tratados con r-HuEPO.

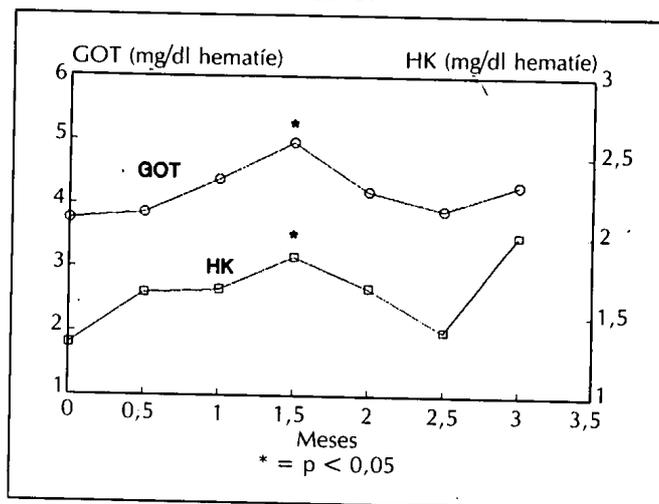


Fig. 4.—Evolución de la hexokinasa y GOT eritrocitarias de los pacientes en hemodiálisis tratados con r-HuEPO.

Siempre se ha aceptado en la anemia nefrogénica un componente de pereza medular, atribuido en parte a la falta de EPO y también al estado urémico. En nuestro estudio, los parámetros de edad eritrocitaria analizados sugerirían que el hemodializado tiene unos hematíes más jóvenes que el sujeto normal. Ello viene a reforzar la idea de un importante componente hemolítico en la anemia del paciente urémico<sup>9-12</sup>.

La etiología de esta hemólisis es actualmente objeto de estudio. Gran parte de los trabajos apoyan la teoría de una mayor susceptibilidad a la peroxidación por parte de la membrana eritrocitaria de estos pacientes<sup>11, 13, 14</sup>. Aparte del daño mecánico que la circulación extracorpórea supone para el hematíe del hemodializado, esta célula tiene que hacer frente a un gran ataque oxidativo frente al que actúa como agente amortiguador, atrapando los radicales superóxido generados por los granulocitos excitados a su

vez por el complemento activado durante el proceso de hemodiálisis<sup>14-16</sup>. No es de extrañar que esto provoque una modificación en las propiedades hemorreológicas del hematíe, facilitando su secuestro esplénico. A este respecto, los resultados de los distintos grupos de trabajo no son concordantes. Ello quizá se deba a la diversidad de la metodología utilizada. Mientras algunos grupos<sup>11, 17</sup> encuentran que la hemodiálisis y la uremia en general disminuye la deformabilidad del eritrocito, otros no hallan alteración alguna en este parámetro<sup>14, 18</sup>. De todos modos, la supervivencia eritrocitaria es menor en este tipo de pacientes, como lo demuestran varios estudios<sup>8, 10, 19</sup>. Los parámetros analizados por nosotros, indicadores de la vida media eritrocitaria, están de acuerdo con ello y manifiestan el componente hemolítico de la anemia nefrogénica, a pesar de la pobre respuesta medular que caracteriza este tipo de anemia y que visiblemente enmascara los parámetros analizados.

Con respecto a la evolución de este tipo de parámetros tras el tratamiento con r-HuEPO, destacaremos que en general se elevan en relación a los valores basales, pudiendo interpretarse esto como una acentuación de la hemólisis o bien como una respuesta medular incrementada. Nos inclinamos por lo segundo, apoyándonos en los datos encontrados por algunos autores que indican que la vida media eritrocitaria aumenta tras la administración de r-HuEPO<sup>19</sup>. No es fácil explicar este hecho y ello sugiere que esta hormona modifica la eritropoyesis no sólo cuantitativamente, sino también cualitativamente. Las modificaciones bioquímicas y funcionales provocadas estarían aún por determinar. Merece también un comentario la poca sensibilidad al tratamiento con r-HuEPO de las enzimas eritrocitarias estudiadas, y más concretamente de la GOT. Esta enzima fue la que mayor poder discriminatorio mostró como indicador de hemólisis en estudios previos realizados por nosotros<sup>20</sup>. Bien es verdad que un parámetro de edad eritrocitaria está relacionado no sólo con la destrucción precoz, sino también con la producción masiva de elementos jóvenes. En este contexto, y comparando los resultados de uno y otro estudio, cabría decir que dichas enzimas se afectan más por la destrucción acelerada que por la superproducción medular. En lo que concierne a la creatina eritrocitaria, a juzgar por los resultados de este trabajo, es un parámetro adecuado para ver la respuesta al tratamiento con r-HuEPO, ya que se eleva más precozmente que la Hb y tiene una respuesta más mantenida que los reticulocitos, presentando sobre este parámetro la ventaja de una mayor precisión en su determinación.

Todavía quedan muchas incógnitas por resolver en lo que se refiere al mecanismo de acción de la r-HuEPO. De todos modos sus efectos beneficiosos sobre la anemia del paciente urémico son incontestables.

No obstante, un mejor conocimiento de las modificaciones bioquímicas que podría causar en el hematíe sería de gran ayuda para prevenir los efectos secundarios indeseables que su administración produce.

#### Agradecimientos

Agradecemos al doctor A. Hernanz su ayuda en el tratamiento estadístico de los resultados y a la señorita M. José Becedas su experta asistencia técnica, así como a las ATS de la Unidad de Hemodiálisis.

#### Bibliografía

1. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK y Adamson JW: Correction of anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *New Engl J Med* 316:73-78, 1987.
2. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR y Cotes PM: Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* ii:1175-1178, 1986.
3. Sass MD, Vorsanger E y Spear PW: Enzyme activity as an indicator of red cell age. *Clin Chim Acta* 10:21-26, 1964.
4. Ferh J y Knob M: Comparison of red cell creatine level and reticulocyte count in appraisin the severity of hemolytic processes. *Blood* 53:966-976, 1979.
5. Griffiths WJ y Fitzpatrick M: The effects of age on the creatine in red cells. *Brit J Haematol* 13:175-180, 1967.
6. Beutler E: In Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. Grune and Stratton Inc., 1984.
7. Shaw AB y Scholes MC: Reticulocytosis in renal failure. *Lancet* 1:799, 1967.
8. Hillman RS y Finch CA: The misused reticulocyte. *Br J Haematol* 17:313-315, 1969.
9. Emerson CP y Burrows BA: The mechanism of anemia and its influence on renal function in chronic uremia (abstract). *J Clin Invest* 28:779, 1949.
10. Giovanetti S, Giagnoni P y Balestri PL: Red cell survival in chronic uremia: its relationship with the degree of anemia. *Experientia* 22:739-740, 1966.
11. Rosemund A, Binswanger U y Straub PW: Oxidative injury to erythrocytes, cell rigidity and splenic hemolysis in hemodialyzed uremic patients. *Ann Int Med* 82:460-465, 1975.
12. Eschbach JW, Korn D y Finch CA: 14C cyanate as a tag for red cell survival in normal and uremic man. *J Lab Clin Med* 89:823-828, 1977.
13. Yawata Y, Howe R y Jacob HS: Abnormal red cell metabolism causing hemolysis in uremia. A defect potentiated by tap water hemodialysis. *Ann Intern Med* 79:362-367, 1973.
14. Zachee P, Emonds MP, Goosens W, Daelemans R, Lins RL y Boogaert MA: Erythrocytes deformability (ED) and oxidative sensitivity (OS) in hemodialysis patients (HD). *Clin Hemoreol* (abstract) 7:413, 1987.
15. Haeffner-Cavaillon N, Fischer E, Bacle F, Carreno MP, Maillet F, Cavaillon JM y Kazatchkine MD: Complement Activation and induction of Interleukin-1 production during hemodialysis. *Contr Nephrol* 62:86-98, 1988.
16. Mujais SK e Ivanovich P: Membranes for extracorporeal therapy. En *Replacement of renal function by dialysis*, págs. 181-188. Maher JK. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, 1989.
17. Decamps A, Zandecki M, Ribiere M, Goudemand J, Dracon

- M, Tacquet A y Cosson A: Red cell filterability and chronic renal failure. *Scand J Clin Lab Invest* 41 (suppl.) 156:177-179, 1981.
18. Forman S, Bischel M y Hochstein P: Erythrocyte deformability in uremic hemodialyzed patients. *Ann Int Med* 79:841-843, 1973.
  19. Eschbach JW: The anemia of chronic renal failure: Pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin. *Kidn Intern* 35:134-148, 1989.
  20. Solís Villa C, Lasa D, Axpe M, Martín R y Gasalla R: Parámetros de edad eritrocitaria como indicadores de hemólisis. *Sangre* (abstract) 33:406, 1988.