

Estado redox en pacientes infectados por VIH/sida con insuficiencia renal crónica sometidos a hemodiálisis

The redox state of VIH/AIDS patients suffering chronic renal failure and undergoing hemodialysis

Dra. Olga Castaño Araujo, Dra. Lizette Gil del Valle, Lic. Daysi Agete Estrada, Lic. Maite Caballero Góngora, Lic. Yoandra Abad Lamothe, Lic. Odalys Calderón Fuentes, Lic. Wilder Rodríguez Soto, Dra. Daymé Hernández Requejo, Dr. Rolando Tápanes Peraza

Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el balance redox alterado en el curso de la insuficiencia renal crónica ha sido considerado un factor contribuyente a la morbilidad y mortalidad de la enfermedad y un factor asociado a la progresión de la infección por sida.

Objetivo: valorar el estado redox en pacientes infectados por VIH con insuficiencia renal crónica que requirieron hemodiálisis.

Métodos: se realizó un estudio de casos y controles en 20 pacientes VIH/sida con insuficiencia renal crónica y 40 individuos aparentemente sanos. Se realizaron determinaciones de malondialdehído, glutatión, superóxido dismutasa, catalasa, productos avanzados de la oxidación de proteínas, hidroperóxidos y potencial de peroxidación, conjuntamente con los marcadores de progresión: conteo de linfocitos T CD4+ y carga viral y una serie de determinaciones hemoquímicas y hematológicas. El análisis se realizó antes, a los 30 min y a los 240 min del tratamiento dialítico. Estadísticamente se verificaron los supuestos de igualdad de varianza y normalidad de las variables, y en dependencia se aplicó una prueba paramétrica o no paramétrica. El resultado fue significativo para $p < 0,05$.

Resultados: los indicadores del estado redox se encontraron alterados en los pacientes estudiados con respecto al grupo supuestamente sano antes de la hemodiálisis. Se mostró un valor mayor significativo ($p < 0,05$) de los índices malondialdehído, productos avanzados de la oxidación de proteínas, superóxido dismutasa, y un valor menor de catalasa y glutatión a los 240 min de realizada la

diálisis, con la excepción de los hidroperóxidos que no mostraron cambios. La carga viral plasmática disminuyó de manera significativa en el proceso.

Conclusiones: los resultados sugieren que el proceso dialítico en este tipo de pacientes favorece el estrés oxidativo, conjuntamente con una disminución de la carga viral plasmática. El estudio aporta valor metodológico en el manejo de estos pacientes y en la búsqueda por mejorar su calidad de vida.

Palabras clave: hemodiálisis, VIH, estrés oxidativo, malondialdehído.

ABSTRACT

Introduction: the altered redox balance in chronic renal failure has been considered a contributing factor to morbidity and mortality from this disease and as an AIDS progression-associated factor.

Objective: to assess the redox state in HIV patients suffering chronic renal failure that requires haemodialysis.

Methods: a case-control study was conducted in 20 HIV/AIDS patients with chronic renal failure and in 40 apparently healthy individuals. Estimations of malonildialdehyde, glutathione, superoxide dismutase, catalase, advanced products from protein oxidation, hydroperoxides and peroxidation potentials, as well as progression markers such as T CD4+ lymphocyte count, viral load and a series of hemochemical and hematological determinations were all made. The analysis was made before, 30 minutes and 240 min after the dialysis. The assumptions of variance equality and variable normality were verified, and accordingly, a parametric or non-parametric test was applied. The result was significant for $p < 0,05$.

Results: the redox state indicators were found to be altered in the studied patients when they were compared to the supposedly healthy group before hemodialysis. It was shown that the values of malondialdehyde, advanced products from protein oxidation, superoxide dismutase were high and significant whereas catalase and glutathione had lower values after 240 minutes of dialysis, except for hydroperoxides that did not change. The plasma viral load decreased significantly in this process.

Conclusions: the results suggested that the dialysis in this type of patients favors the oxidative stress, together with the reduction of the plasma viral load. The study grants some methodological value to the management of these patients and to the search for a better quality of life.

Key words: hemodialysis, HIV, oxidative stress, malondialdehyde.

INTRODUCCION

El estrés oxidativo (EO) se define como la pérdida del equilibrio entre la generación de oxidantes y la actividad antioxidante del sistema a favor de los primeros.¹

Las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres y otras especies reactivas que se denominan especies reactivas de oxígeno

(ERO). La mayor parte de estas sustancias derivan del anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$). El mismo proviene de la cadena respiratoria y es continuamente producido por la membrana interna de las mitocondria en cantidades pequeñas. Pero esta situación cambia en respuesta a un estímulo, aumentando la producción de este anión a través de la NADPH oxidasa (nicotinamida adenina dinucleotido fosfato oxidasa).²⁻⁴

En la patogenia y evolución de las enfermedades renales agudas o crónicas se ha corroborado la participación de ERO, con generación de un estado prooxidante, la presencia aumentada de daño oxidativo y la disminución de los antioxidantes.⁵⁻⁸ Esta condición así como otros factores constituyen dianas que con medidas apropiadas pudieran contrarrestar el deterioro de los órganos involucrados y del organismo en general.

Durante la insuficiencia renal crónica (IRC) se acumulan toxinas que no pueden ser eliminadas por el riñón y necesitan de terapias de reemplazo de la función renal (hemodiálisis [HD] o diálisis peritoneal) para ser eliminadas.

En el proceso se pierden toxinas urémicas pero simultáneamente también hay pérdidas importantes de aminoácidos, glucosa, péptidos de bajo peso molecular y otros. Por consiguiente particularmente en las técnicas de alta eficacia se produce una pérdida de solutos entre ellos de sustancias antioxidantes.^{9,10}

En el 2000, *Biasoli* publica un trabajo en el cual compara el efecto de seis diferentes membranas sobre la actividad antioxidante del plasma y de los eritrocitos, y comunica que algunas membranas tienen efectos individuales.¹¹ La influencia sobre la peroxidación lipídica es menor durante el empleo de hemophan que con diacetato y sobre el sistema antioxidante del hematíe, el polimetilmetacrilato, incide con menor magnitud que el resto de las membranas.¹²⁻¹⁴

En un intento de restaurar las condiciones basales en el paciente con IRC o en pacientes que están sometidos a HD, los médicos prescriben sustancias que pueden empeorar el EO. La administración de hierro (Fe^{IV}) como metal de transición es la principal fuente de radicales hidroxilos a través de la reacción de Fenton con la formación del anión superóxido.¹⁵ Además de los factores inherentes a cada individuo por la enfermedad que lo condujo al IRC, se añaden otros asociados a fenómenos ateroscleróticos e inflamatorios.¹⁶⁻¹⁹

En el caso de los pacientes VIH/sida que tienen evidencias moleculares y clínicas de un estado inflamatorio crónico y algunos llevan tratamiento antirretroviral, los factores que influyen en la persistencia del EO tienen influencia de los aspectos metabólicos asociados a la infección viral.²⁰⁻²²

Este trabajo se propuso el objetivo de valorar el estado redox en pacientes infectados por VIH con insuficiencia renal crónica que requirieron hemodiálisis.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de casos y controles, prospectivo de los pacientes cubanos infectados por VIH de octubre de 2009 a mayo de 2011. Se consideraron incluidos adultos diagnosticados con un ELISA reactivo para VIH (ELISA-UNIFORM VIH I/II plus Organon Teknica). Este primer diagnóstico positivo fue confirmado por el ensayo Western Blot (DAVIH BLOT VIH-I, DAVIH Lab). El grupo estuvo compuesto por 20 pacientes entre los 21 y los 58 años de edad residentes todos en La Habana.

Como grupo control se utilizó un grupo de 40 adultos supuestamente sanos, verificados por su condición clínica al momento de la captación y por exámenes de laboratorio dentro de los intervalos de referencia considerados como normales. Todos residentes en La Habana, del mismo intervalo de edad y género que el grupo infectado por VIH (relación 1:2). Todos los individuos acuden al Servicio del Hospital del Instituto "Pedro Kouri" (IPK).

Las causas que originaron la IRC son nefropatías asociadas al VIH con etiología no filiada y otros.

Todos los pacientes llevaban tratamiento dialítico en máquinas de HD FRESenius 4008S, Alemania. Se empleó dializadores de polisulfona, durante 12 h semanales y catéter tunelizado consiguiendo unos parámetros correctos de dosis de diálisis (Kt/V de Goth mínimo de 1.2). Los individuos en estudio recibieron eritropoyetina 12 000 U semanales y 100 mg de Fe intravenoso.

Los datos de la evolución clínica de estos individuos fueron por seguimiento activo del facultativo especialista médico y enfermeras y se reflejaron en un cuaderno de recogida de datos elaborado al efecto y en las historias clínicas correspondientes.

Se les realizó una extracción de sangre previa a la diálisis, a los 30 minutos y a las 4 h de las que se obtuvo sangre total, suero y plasma.

Se utilizó sangre total para la determinación de las subpoblaciones linfoides y el suero y extractos de linfocitos y hematíes fue utilizado para la determinación de los índices del estado redox, hemoquímicos y plasma para la carga viral.

Todos los procedimientos fueron realizados según lo aprobado por los Comités Internacionales para ensayos en humanos (Declaraciones de Helsinki), los de ética de manejo del paciente VIH/sida, y de acuerdo con las regulaciones nacionales establecidas.

El protocolo fue sometido a la consideración y fue aprobado por la Comisión Científica Especializada del Hospital y el Comité de Ética Médica del IPK. Los individuos involucrados firmaron un consentimiento informado de acuerdo con su participación en el estudio después de conocer de manera escrita y verbal los posibles riesgos y métodos a seguir.

Cuantificación de los niveles de ARN viral

Se utilizó el sistema NucliSens HIV-1 QT de la casa comercial Biomerieux, París, Francia siguiendo los procedimientos recomendados por el fabricante.

Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias

Se determinaron por citometría de flujo, usando un citómetro FACScan de Becton Dickinson, California, Estados Unidos.

Los valores relativos de los linfocitos T CD3+, CD4+, CD8+ se cuantificaron utilizando técnicas estándar para triple marcaje, anticuerpos monoclonales y el programa CellQuest de Becton Dickinson.

Cuantificación de índices hemoquímicos y hematológicos

Las variables utilizadas para el estudio fueron hemoglobina, eritrosedimentación, conteo de leucocitos con diferencial, plaquetas, transaminasa pirúvica, urea, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina, índice albúmina/globulina, colesterol y triglicéridos.

En la determinación de la función hematológica se utilizó el contador hematológico micro 60 de la firma ABX Diagnostic, Montpellier, Francia, cuyos reactivos están certificados, y la eritrosedimentación se hizo por el método clásico de Wintrobet basado en la proporción anticoagulante sangre tratada con citrato al 3,8 (1,8 molar) y montado en una pipeta de Westergreen.

Los reactivos utilizados para la función hepática y renal son comercializados por Boehringer Mannheim Roche Diagnostic GmH-D-68298 Mannheim, Alemania, y se utilizó un analizador automático (BM/Hitachi 912).

Para todas estas determinaciones se utilizó el Manual de procedimientos del Departamento de Laboratorio de Diagnóstico Clínico del Hospital del IPK.

Cuantificación de índices del estado redox

Para la cuantificación de glutatión (GSH), se empleó una modificación de la técnica descrita por *Riddles* (1983)²³ en la que se utiliza el reactivo de Ellmans. A 200 μ L de plasma deslipidado se le adicionaron 50 μ L de una solución recién preparada compuesta por DTNB [5,5'-ditiobis (2 ácido nitrobenzoico) y acetona. Se evaluó la absorbancia a una longitud de onda de 412 nm.

Para la determinación de malondialdehído (MDA), se utilizó la técnica descrita por *Erdelmeier* y otros, 1998.²⁴ A 200 μ L de muestra se le adicionaron 650 μ L de una solución recién preparada compuesta por 38 mg de n-metil 2 fenil indol en 18 mL de acetonitrilo y 6 mL de metanol. La mezcla se agitó y se le añadió 150 μ L de ácido clorhídrico (HCl), luego se agitó nuevamente, incubándose a 45 °C durante 40 min. Después de este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó a 300 g durante 15 min. Cada solución resultante se leyó a 586 nm.

Para la determinación de la susceptibilidad a la peroxidación lipídica (PP), se siguió la técnica de *Ozdemirler* y otros, 1995.²⁵ Se incubaron muestras de suero con una solución de sulfato de cobre II (2 mM, concentración final) a 37 °C por 24 h. El PP se estimó sustrayendo del valor de concentración de MDA determinado a las 24 h el obtenido a tiempo cero.

Para la determinación de los hidroperóxidos totales (HPO) se empleó el estuche diagnóstico de Bioxytech H₂O₂-560 cat. 21024 (Oxis international Inc. Portland USA). El ensayo se basó en la oxidación del ion ferroso a férrico por los peróxidos orgánicos y el H₂O₂ en condiciones ácidas.

La determinación de productos avanzados de oxidación de proteínas (PAOP), se realizó según la técnica de *Witko-Sarsat* y otros, 1998,²⁶ evaluando la transformación de los iones yodo a yodo diatómico que provocan los PAOP siguiendo el cambio de densidad óptica (DO) a 340 nm. Se utilizó como patrón cloramina T y los resultados se expresaron como μ M de cloramina T.

La medición de la actividad enzimática de las enzimas SOD y CAT se realizó en linfocitos. SOD según el método de Beyer y Fridovich, 1987.²⁷ Como fuente de aniones superóxido se utilizó la descomposición catalítica de la xantina por parte de la enzima xantina oxidasa. Se mide la disminución de la reducción del citocromo C mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 546 nm, y se expresa el resultado en $\mu\text{/mg}$ de proteína x min.

La actividad de catalasa (CAT) se determinó según el método de Clairbone, basado en la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno a través de la CAT, medido por espectrofotometría a 240 nm; se expresó en $\mu\text{/g}$ de proteína x min.²⁸

Para llevar a cabo las determinaciones se utilizó un espectrofotómetro Ultrospec 2000, de Pharmacia Biotech, Cambridge, Inglaterra.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS 13 y el programa Minitab 14. Los valores se presentan como media \pm desviación estándar (DE). Se verificó la normalidad de la distribución de cada variable (prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra). Para evaluar la diferencia entre los dos grupos sida y controles, a pesar de la distribución normal de la mayoría de las variables, se empleó la prueba U de Mann Whitney dado el tamaño de la muestra. La diferencia entre las medias de los índices a los diferentes tiempos de extracción se verificó mediante la prueba paramétrica t de Student para muestras pareadas en caso de homogeneidad de las varianzas o la de Wilcoxon en caso contrario. Para las variables cualitativas se utilizó la prueba chi cuadrado. El resultado fue considerado como significativo para $p < 0,05$.

RESULTADOS

El análisis de las actividades enzimáticas antioxidantes en linfocitos muestra diferencias significativas entre los controles y los pacientes en HD (tabla 1). Los valores de SOD antes de la HD están significativamente disminuidos respecto a los controles ($p < 0,05$). En cuanto a CAT los valores son significativamente mayores. El tratamiento hemodialítico produce un aumento significativo de la SOD que llega a valores sin diferencias significativas respecto a los controles sanos. En el caso de CAT se produce una disminución significativa ($p < 0,05$).

La concentración plasmática de GSH está significativamente reducida en los pacientes antes de la HD respecto a los controles ($p < 0,05$). Después de esta, existe una disminución del tripéptido todavía inferiores a los del grupo control (tabla 1).

En los pacientes urémicos también encontramos un aumento de la peroxidación lipídica expresada por la producción aumentada de MDA e HPO. El tratamiento con HD produce un aumento significativo en el MDA ($p < 0,05$) y no produce modificación en los valores de HPO ($p > 0,05$).

En el análisis de los valores de PP se pudo observar que son significativamente mayores los valores iniciales de los pacientes con IRC con respecto a los controles. La HD produce un aumento significativo de estos ($p < 0,05$).

En cuanto a los PAOP, los valores de los pacientes son superiores de manera significativa respecto a los controles ($p < 0,05$). La HD tiene como efecto un aumento significativo de los mismos ($p < 0,05$).

Tabla 1. Descripción de los parámetros de estrés oxidativo por diagnóstico

Variables	Control	Preinicio HD	30 min HD	240 min HD
No de pacientes	40	20	20	20
Malondialdehído (μM)	2,30 \pm 0,40	4,77 \pm 0,64 ^a	4,26 \pm 0,72 ^b	6,48 \pm 0,76 ^{c, d}
Potencial de peroxidación (μM)	6,68 \pm 0,64	8,68 \pm 0,82 ^a	8,84 \pm 1,19	13,22 \pm 1,28 ^{c, d}
Hidroperóxidos (μM)	116,91 \pm 3,50	151,22 \pm 31,45 ^a	164,78 \pm 23,97 ^b	141,33 \pm 18,07 ^c
Glutación (mg L^{-1})	1 218,84 \pm 314,68	419,33 \pm 9,95 ^a	418,60 \pm 16,20	329,61 \pm 43,15 ^{c, d}
Superóxido dismutasa (U g^{-1} de hemoglobina x min)	5,41 \pm 0,16	3,71 \pm 1,15 ^a	3,55 \pm 1,35	5,60 \pm 1,72 ^{c, d}
Catalasa (U g^{-1} de hemoglobina x min)	146,45 \pm 26,21	270,0 \pm 44,72 ^a	429,0 \pm 40,12 ^b	207,0 \pm 67,0 ^{c, d}
Productos avanzados de la oxidación de proteínas (μM cloramina T)	105,47 \pm 3,44	121,93 \pm 5,10 ^a	119,01 \pm 5,41	130,47 \pm 5,35 ^{c, d}

^a Representa diferencia significativa $p < 0,05$ entre los valores del diagnóstico al inicio y los controles.

^b Representa diferencia significativa $p < 0,05$ entre los valores del diagnóstico al inicio y a los 30 min de iniciada la HD

^c Representa diferencia significativa $p < 0,01$ entre los valores del diagnóstico a los 30 min y los 240 min de iniciada la HD.

^d Representa diferencia significativa $p < 0,01$ entre los valores del diagnóstico a al inicio y los 240 min de iniciada la HD.

Media \pm DE.

En la tabla 2 se muestra el análisis de cada parámetro de EO para establecer los valores de corte. El proceso anterior fue llevado a cabo considerando el 90 percentil de la media de la población supuestamente sana. Lo que nos permitirá evaluar en cada paciente el grado de EO y la influencia de la HD en la extensión del proceso. Este análisis también se presenta en la tabla 2. La mayoría de los índices fueron evaluados como moderados. La HD no tuvo una influencia significativa sobre la extensión del daño oxidativo en estos pacientes.

Tabla 2. Valores de corte y grado de estrés oxidativo en los pacientes con IRC

		MDA	PP	GSH	CAT	PAOP	HPO	SOD
N	Válidos	40	40	40	40	40	40	40
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0
Media		2,30	6,75	1218,84	146,45	105,46	116,90	5,40
Desviación típica		0,40	0,32	217,98	26,21	3,43	3,50	0,16
Percentiles 90		3,07	7,04	1557,72	182,44	111,38	121,71	5,67
N	Válidos	20	20	20	20	20	20	20
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0
Inicio		M-10	L-3 M-7	S-10	M-10	L-3 M-7	L-2 M-8	L-10
30 min		L-3 M-7	L-2 M-8	M-10	M-10	L-5 M-5	L-1 M-9	L-10
240 min		M-10	M-10	S-10	M-10	M-10	M-10	L-10

N: número de pacientes; MDA: malondialdehído; PP: potencial de peroxidación; GSH: glutación;

CAT: catalasa; PAOP: productos avanzados de la oxidación de proteínas;

HPO: hidroperóxidos; SOD: superóxido dismutasa; M: moderado; S: severo.

No se encontraron diferencias significativas en el análisis estadístico $p > 0,05$.

En la tabla 3 se presentan los parámetros bioquímicos y hematológicos. Se observa una diferencia significativa en hemoglobina, polimorfonucleares, leucocitos, monocitos, eosinófilos, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina y linfocitos T CD4+ al inicio de la HD con respecto a los controles ($p < 0,05$). En estos indicadores se producen alteraciones propias asociadas al proceso de HD sin que representen modificaciones significativas en la totalidad de ellos respecto al valor inicial previo a la HD y no se detectó influencia en el conteo de linfocitos T CD4+. Se presentan modificaciones significativas beneficiosas en urea, ácido úrico, creatinina y albúmina durante la HD ($p < 0,05$).

Tabla 3. Descripción de los parámetros bioquímicos y hematológicos por diagnóstico

Variables	Referencia	Control	Inicio HD
No. de pacientes		40	20
Hemoglobina (g·L ⁻¹)	110 - 150	134,4 ± 6,36	96,90 ± 25,30 ^a
Leucocitos (U·10 ³ ·mm ⁻³)	4 - 10	6,65 ± 1,65	6,09 ± 2,01
Polimorfonucleares (%)	40 - 74	47,95 ± 5,26	0,61 ± 0,10 ^a
Linfocitos (%)	19 - 48	37,76 ± 5,04	0,32 ± 0,10 ^a
Monocitos (%)	6	5,41 ± 0,94	0,032 ± 0,02 ^a
Eosinófilos (%)	4 - 10	4,12 ± 0,78	0,023 ± 0,021 ^a
Plaquetas (U·10 ³ ·mm ⁻³)	280	268,36 ± 13,6	282,20 ± 63,60
Ácido úrico (μM)	142 - 416	361,23 ± 44,44	442,32 ± 138,27 ^a
Creatinina (μmol·L ⁻¹)	44 - 106	79,23 ± 14,0	666,70 ± 342,25 ^a
Proteínas totales (g·dL ⁻¹)	6,6 - 8,7	7,67 ± 0,66	70,30 ± 11,40 ^a
Urea (mmol·L ⁻¹)	1,7 - 8,3	4,71 ± 1,8	24,38 ± 2,66 ^a
Triglicéridos (mmol·L ⁻¹)	0 - 2,26	1,26 ± 0,63	2,52 ± 0,61 ^a
Colesterol (mmol·L ⁻¹)	0 - 5,2	2,75 ± 0,71	4,5 ± 0,8 ^a
Albúmina (g·dL ⁻¹)	3,5 - 5	5,22 ± 1,65	2,89 ± 1,13 ^a
Carga viral	-	-	8127,5 ± 939,15
Linfocitos T CD4+	689 - 1566	1323,3 ± 249,84	270,70 ± 105,77 ^a

^a Representa diferencia significativa $p < 0,05$ entre los valores del diagnóstico al inicio y los controles.
Media ± DE.

En cuanto al análisis de la carga viral al inicio y al final de la diálisis se puede observar en la tabla 4 una disminución significativa ($p < 0,05$).

Tabla 4. Estadística descriptiva y de contraste para el diagnóstico de carga viral en los pacientes con IRC y sida

	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Estadística de contraste
Carga viral inicial	20	8127,50	18 939,181	ND	54 950	(Z) - 2,524
Carga viral final	20	2945,50	6 518,141	ND	19 000	Sig. asintót. (bilateral) 0,012

ND: no detectable.

DISCUSIÓN

Existen estudios previos que constatan la existencia de EO asociado a la infección por VIH^{22,29,30} y además en los pacientes con IRC.^{3,8,31-33} En ambos se manifiesta un aumento de los índices de oxidación y disminución de las capacidades antioxidantes.

El hallazgo principal del estudio es el aumento significativo de oxidantes lipídicos y proteicos en una población sida con IRC durante el proceso de HD, así como el déficit de las defensas antioxidantes.

El estudio del EO en estos individuos en diálisis tuvo como intención fundamental demostrar el efecto o no de la técnica en este aspecto. Sin embargo, la población con IRC y VIH se caracterizan por la confluencia de múltiples factores capaces por sí solos de provocar este estrés.

En las últimas dos décadas ha aumentado el interés en evidenciar las causas de la elevada morbilidad y mortalidad cardiovasculares de los individuos con IRC.^{14,17,19,34-36} Por ello, el EO ha sido objeto de múltiples estudios, en virtud de las pruebas que lo posicionan en el centro de la fisiopatología de la placa de ateroma. Sin embargo, la mayor parte de los trabajos de los que se disponen se centran en escasos biomarcadores oxidativos, y muchas veces en poblaciones de características heterogéneas.³⁷

Para valorar la existencia de EO lo ideal sería poder cuantificar la generación de radicales libres producidos (O_2^- , OH^- , H_2O_2 , etc.), pero esto es muy difícil técnicamente debido a la vida media corta de los mismos además de ser determinaciones inespecíficas. Por tanto, lo más adecuado es medir los resultados del daño que producen estos radicales libres en las diferentes biomoléculas y valorar el estado antioxidante.^{4,28,38}

Cuando los radicales libres superan la barrera antioxidante, pueden interactuar con las estructuras fosfolipídicas entre otras biomoléculas, produciendo en este caso la peroxidación lipídica (POL). Uno de los productos de esta reacción es el MDA y como intermediarios se producen los HPO, cuya cuantificación da una idea de la extensión de la POL. Es importante destacar que además del MDA y HPO como marcadores de POL existen otros productos como por ejemplo TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) y los F2 isoprostanos que evalúan en otra medida la extensión del proceso.^{14,28,36,38}

La principal fuente de aterogénesis se ha demostrado que es POL que conlleva la activación *in situ* de los monocitos y macrófagos, generación de las células espumosas y proliferación de las células musculares de la pared vascular que pueden mediar eventos vasculares. Estos eventos pudieran estar vinculados a la evolución de la enfermedad renal en los pacientes y se encuentran subdiagnosticados.

Varios autores han encontrado niveles elevados de POL en pacientes con IRC y en HD.

De manera similar en el presente trabajo se encontraron niveles significativamente elevados en el grupo de IRC y VIH con respecto a una población supuestamente sana. Sin embargo, a pesar del MDA ser un marcador válido de la magnitud de daño a consecuencia del EO, es una molécula de bajo peso molecular e hidrosoluble, por lo que puede sufrir aclaración renal o ser dializada. En el estudio este indicador aumentó significativamente al final del proceso dialítico, pero no

ocurriendo así con el valor de HPO que disminuyó aunque no significativamente respecto al valor inicial. Los resultados en los pacientes de esta investigación coinciden con los de otros autores respecto a una POL aumentada.^{10,39,40}

El componente lipídico de las membranas es una de las biomoléculas donde se produce el daño celular por EO, este fenómeno podría explicar el acortamiento de la vida media de los hematíes y también podría ser un factor que limitaría la respuesta a la Eritropoyetina. Sin embargo hay que tener en cuenta que la sobrecarga de Fe suministrada contribuye a un estado prooxidante⁴¹ que potencia los hallazgos, pero que resulta necesaria para mantener los valores metabólicos de hemoglobina en estos individuos.

El daño oxidativo sobre las proteínas se estudió según Witko-Sarsat y cols. que identificaron los productos finales de la oxidación proteica avanzada (PAOP).²⁶

Los pacientes en estudio presentaban valores elevados de PAOP en comparación con el grupo de individuos sanos, lo cual es indicativo de daño a proteínas plasmáticas por mecanismos clorinantes y constituyen elementos capaces de amplificar la activación de monocitos. Este resultado está relacionado con la actividad de la mieloperoxidasa de las células fagocíticas, la única enzima capaz de generar oxidantes clorinados.³⁷ Al final de la HD los valores de PAOP aumentaron significativamente. Este hallazgo coincide con lo reportado por otros autores en pacientes con IRC,²⁶ no encontrando reportes de este tipo de estudio con pacientes VIH/sida e IRC. El hallazgo sugiere un aumento de la generación de oxidantes clorinados durante el proceso de HD y activación de neutrófilos circulantes.^{26,42}

La evaluación del EO se completó con el análisis de la actividad de las principales enzimas antioxidantes, así como del GSH en su estado reducido. El glutatión es un tiol tripeptídico que se encuentra en la mayoría de las especies animales y que es probablemente el antioxidante celular más importante. El glutatión oxidado (GSSG) es muy tóxico para las células por lo que el organismo tiende a la reducción del GSSG a GSH mediante la glutatión-reductasa. Los pacientes presentan niveles disminuidos de GSH antes de realizar la HD y este valor disminuyó al final de la misma con respecto al valor inicial, lo que coincide con lo informado por otros autores.^{2,8,35}

En condiciones normales, la concentración de antioxidantes es bastante superior a la concentración de productos oxidantes, de manera que la generación continua de radicales libres, derivados del metabolismo celular, queda regulada y neutralizada por ellas. Una protección antioxidante eficaz requiere la actuación sincronizada de varias enzimas entre ellas estudiamos: SOD y CAT. Encontramos la actividad de SOD significativamente disminuida en el grupo al inicio, y CAT aumentada, con respecto al grupo sano, reflejo del desbalance que existe entre los factores oxidantes y antioxidantes en la condición de IRC. La actividad de SOD aumentó con el proceso dialítico y la actividad de CAT disminuyó. El aumento encontrado en la actividad de SOD conjuntamente con el déficit de actividad de la enzima CAT, conducirían a un aumento en la disponibilidad de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Esta disponibilidad aumentada de peróxido de hidrógeno puede estar relacionada con el incremento del daño a las diferentes biomoléculas evidenciada por el aumento de los índices redox evaluados como MDA, PAOP y en relación también con la disminución de las capacidades antioxidantes evaluadas como GSH y en relación con un aumento de PP. Por lo que las modificaciones observadas en los índices están relacionadas.^{4,38}

Por las características de la técnica de HD se sugiere que en la medida que se pierden toxinas urémicas también hay pérdidas de otras sustancias importantes

para el metabolismo.^{1,40} Particularmente aquellas de alta eficiencia con membranas altamente permeables producen una pérdida de sustancias antioxidantes,³⁴ lo que pudiera estar contribuyendo a los resultados en el presente estudio.

Algunos investigadores han encontrado recientemente un descenso de hasta un 50% en los valores de actividad de las enzimas y moléculas con capacidad antioxidante en una muestra de pacientes en HD, frente a un grupo control.^{6,7,39} Además, reportan que una sesión de HD no logra normalizar sus niveles. Los efectos que una sesión de HD puede producir en el EO es tema de controversia. Para algunos autores la HD agravaría el EO debido a la activación de células inflamatorias causada por el uso de algunas membranas, por pérdidas netas de antioxidantes solubles en agua o por un incremento en la generación de radicales libres.^{4,9,10,15,17} En sentido contrario se señala la disminución de MDA con la HD y los trabajos realizados por Himmelfarb y cols sugieren el efecto beneficioso de la HD sobre los principales aminoácidos plasmáticos (cisteína, homocisteína, cistenuil-glicina y glutatión) importantes marcadores de la oxidación y algunos de ellos antioxidantes.⁴² Biasioli y otros estudian el efecto que ejercen durante la HD el uso de distintos tipos de membrana y además de observar una disminución del EO a lo largo de la HD con diversas membranas, realizan determinaciones post-diálisis, con mejoría de los distintos marcadores y a los 30 minutos después de realizado el proceso donde los valores de MDA tienden a asemejarse a los valores prediálisis.¹¹

Los resultados en los pacientes sida con IRC en una sesión dialítica reportados en este trabajo coinciden con el primer grupo de autores^{4,9,10,15,17} y muestran que los valores tanto de los marcadores antioxidantes como los prooxidantes se alteran durante la HD, de manera no beneficiosa para los pacientes. Estos valores siguen siendo diferentes significativamente con respecto a los controles sanos y aunque las modificaciones se producen de manera significativa no repercuten en la extensión del proceso. De acuerdo con estos resultados se puede deducir que las diferencias encontradas entre los tiempos de análisis se deberían a la existencia de solutos antioxidantes que se eliminan en la HD y a la posible generación de ERO durante el proceso.

El prevenir o reducir el EO resulta tarea primordial después de vistos los factores patogénicos involucrados, lo que requiere mejorar la biocompatibilidad de los sistemas de HD y suplementar de manera eficaz la deficiencia de antioxidantes.⁴³

Los resultados sugieren que el proceso dialítico en este tipo de pacientes favorece el EO conjuntamente con una disminución de la carga viral plasmática. El estudio aporta valor metodológico en el manejo de estos pacientes y en la búsqueda por mejorar su calidad de vida.

Es necesario realizar trabajos prospectivos en pacientes tratados en HD con determinaciones prediálisis, posdiálisis y a las 24 h para poder realizar un perfil oxidativo entre dos sesiones del proceso. Y también evaluar el posible efecto con el uso de fístula arteriovenosa, de otras membranas y otros procedimientos que pudieran influir en el proceso de EO.

Conflictos de interés

No existen conflictos de intereses potenciales en este documento, ni se recibieron apoyos financieros para su desarrollo.

Agradecimientos

Se agradece a todos los pacientes sida cubanos y familiares que aceptaron participar del estudio y a todos los profesionales y técnicos del Hospital del IPK que contribuyeron a su desarrollo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zocalli C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patients outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18:1272-80.
2. Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood Purif*. 1999;17:58-65.
3. Mircescu G. Oxidative stress of chronic kidney disease. *Acta Endocrin (Buc)*. 2008;4(4):433-46.
4. Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage. Applications in experimental animals and in humans. *Free Rad Biol Med*. 1999;26(1/2):202-26.
5. Ward R, McLeish K. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? *Artif Organs*. 2003;27(3):230-6.
6. Himmelfarb J. Oxidative stress in hemodialysis. *Contrib Nephrol*. 2008;161:132-7.
7. Himmelfarb J. Uremic toxicity, oxidative stress, and hemodialysis as renal replacement therapy. *Semin Dial*. 2009;22(6):636-43.
8. Clermont G, Lecour S, Lahet J, Siohan P, Vergely C, Chevet D, Rifle G, Rochette L. Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovasc Res*. 2000 Aug 18;47(3):618-23.
9. Samouilidou E, Graspá E. Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure. *Blood Purif*. 2003;21:209-12.
10. Paul JL, Roch-Arveiller M, Man NK, Luong N, Moatti N, Raichvarg D. Influence of uremia on polymorphonuclear leukocytes oxidative metabolism in end-stage renal disease and dialyzed patients. *Nephron*. 1991;57:428-32.
11. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, Cavallini L, Cavalcanti G, De Fanti E, Zambello A, Borin D. Role of cellulosic and noncellulosic membranes in hyperhomocysteinemia and oxidative stress. *ASAIO J*. 2000 Sep-Oct;46(5):625-34.
12. Pupim LB, Himmelfarb J, McMonagle E, Shyr Y, Ikizler TA. Influence of initiation of maintenance hemodialysis on biomarkers of inflammation and oxidative stress. *Kidney Int*. 2004;65:2371-9.

13. Annuk M, Zilmer M, Lind L, Linde T, Fellstrom B. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:2747-52.
14. Bolton CH, Downs LG, Victory JG, Dwight JF, Tomson CR, Mackness MI, Pinkney JH. Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:1189-97.
15. Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int.* 2000;(Supl 76):5126-32.
16. Ziouzenkova O, Sevanian A. Oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) in HD patients: role in electronegative LDL formation. *Blood Purif.* 2000;18(3):169-76.
17. Cachofeiro V, Goicochea M, Garcia de Vinuesa S, Oubina P, Lahera V, Luno J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2008;74:54-9.
18. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin Am Soc Nephrol.* 2008;3:505-21.
19. Kendrick J, Chonchol MB. Non-traditional risk factor for cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2008;4:672-81.
20. Winston JA. HIV and CKD epidemiology. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2010;17:19-25.
21. Novak JE, Szczech LA. Management of HIV infected patients with ESRD. *Adv Chron Kid Dis.* 2010;17:101-10.
22. Pasupathi P, Ramachandran T, Sindhu PJ, Saravanan G, Bakthavathsalam G. Enhanced oxidative stress markers and antioxidant imbalance in HIV infection and AIDS patients. *J Sci Res.* 2009;1(2):370-80.
23. Riddles PW, Blakely RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Methods Enzymol.* 1983;91:49-60.
24. Erdelmeier I, Gerard MD, Yadan JC, Chaudiere J. Reactions of N-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol.* 1998;11(10):1184-94.
25. Ozdemirler G, Mehmetcik G, Oztezcan S, Toker G, Sivas A, Uysal M. Peroxidation potential and antioxidant activity of serum in patients with diabetes mellitus and myocardial infarction. *Metab Res.* 1995;271:194-6.
26. Witko-Sarsat V, Friedlander M. Advanced oxidation protein product as novel mediators of inflammation and monocytes activation in chronic renal failure. *J Immunol.* 1998;161:2524-32.
27. Beyer W, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem.* 1987;161:559-66.

28. Clairborne A. Catalase activity. En: Green-Wald RA, ed. Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Ratón, FL: CRC Press Inc; 1986. p. 283-4.
29. Gil L, Martínez G, González I, Tarinas A, Álvarez A, Giuliani A, et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res.* 2003;47:217-24.
30. Gil L, Lewis L, Martinez G, Tarinas, González I, Alvarez A, et al. Effect of increased dietary micronutrient intake on oxidative stress indicators in HIV/AIDS patients. *Int J Vit Nut Res* 2005;75(1):19-27.
31. Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood Purif.* 1999;17:58-65.
32. Dakshinamurty KV, Srinivas Rao, PVLN, Saibaba KSS, Sheela RB, Venkataramana G, Shyam C, Sreekrishna V. Antioxidant status in patients on maintenance hemodialysis. *Ind J Nephrol.* 2002;12:77-80.
33. Nissel R, Faraj S, Sommer K, Henning L, van der Giet M, Querfeld U. Oxidative stress markers in young hemodialysis patients- a pilot study. *Clin Nephrol.* 2008;70(2):135-43.
34. González M, Puchades MJ, Garcia R, Saéz G, Tormos MC, Miguel A. Effects of hemodialysis therapy on oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Nefrología.* 2006;26(2):218-25.
35. Jung HH, Choi DH, Lee SH. Serum malondialdehyde and coronary artery disease in hemodialysis patients. *Am J Nephrol.* 2004;24:537-42.
36. Ceballos-Picot J, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med.* 1996;21:845-53.
37. Orhan H, van Holland B, Krab B. Mocken J, Vermeulen NP, Holander P, et al. Evaluation of a multiparameter biomarker of oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radic Res.* 2004;38:1269-79.
38. Tsimikas S. Measures of oxidative stress. *Clin Lab Med.* 2006;26(3):571-90.
39. Durak I, Kacmaz M, Elgun S, Serdar H. Oxidative stress in patients with chronic renal failure: effects of hemodialysis. *Med Princ Pract.* 2004;13:84-7.
40. Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G. Effects of hemodialysis on the oxidative stress and antioxidants. *Clin Chem Lab Med.* 2005;40(10):1009-13.
41. Ahmad A, Sadat M, Soulati M, Marashian M, Rahbar K, Aziz F. Effects of heparin and dalteparin on oxidative stress during hemodialysis in patients with end-stage renal disease. *IJKD.* 2009;3:162-7.
42. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int.* 2000;58:2571-8.

43. Bhogade RB, Suryakar AN, Katkam RV. Effects of antioxidant therapy on oxidative stress with special reference to hemodialysis. *Biom Res.* 2009; 20(2): 105-8.

Recibido: 21 de marzo de 2012.

Aprobado: 23 de mayo de 2012.

Olga Pomier Suárez. Laboratorio de Farmacología Clínica. Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, km 6 ½, Marianao 13, PO Box 601, La Habana, Cuba. Correo electrónico: olgap@ipk.sld.cu