

## Efecto del tratamiento con eritropoyetina sobre el consumo muscular de oxígeno (O<sub>2</sub>) y la bioenergética celular en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en hemodiálisis

Torregrosa JV, Campistol JM, Marrades R, Cases A, Díaz J, Barbera JA, Masclans JR, Cobos A, Rodríguez-Roisin R, Roca J.

### Resumen

El tratamiento con Eritropoyetina Humana Recombinante (rHuEp) resulta efectivo en el tratamiento de la anemia asociada a la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT). A pesar de la mejoría en la calidad de vida observada en los pacientes urémicos tratados con rHuEp, no se observa un aumento paralelo en el consumo periférico de oxígeno (O<sub>2</sub>) al incremento en la concentración de hemoglobina ([Hb]) observada. Para investigar, analizar y determinar el origen de esta discrepancia se han realizado dos protocolos de estudio distintos, incluyendo pacientes afectados de IRCT en programa de hemodiálisis antes y después del tratamiento con rHuEp. El primer protocolo fue un estudio convencional con ejercicio progresivo con cicloergómetro, determinando el consumo corporal y periférico de oxígeno. El segundo protocolo pretendía determinar la bionergética celular muscular utilizando un equipo de resonancia nuclear magnética con fósforo-<sup>31</sup> (<sup>31</sup>P-MRS). Ambos protocolos incluían un grupo de voluntarios sanos como grupo control.

Datos gasométricos a nivel de arteria y vena femoral y flujo sanguíneo venoso femoral, fueron obtenidos durante el estudio para determinar consumo y transporte de O<sub>2</sub>. En situación de consumo máximo de O<sub>2</sub> se observó una dependencia del consumo con respecto al aporte de O<sub>2</sub> al músculo que permitió calcular la conductancia muscular de O<sub>2</sub> del capilar a la mitocondria (DO<sub>2</sub>). A pesar de producirse un incremento del 60% en la [Hb] con rEpHu, el consumo máximo de O<sub>2</sub> únicamente aumentó un 30%, debido al descenso en el flujo sanguíneo de la pierna analizada, que limitó el incremento de aporte de O<sub>2</sub> a un 36%. También se observó que si bien la conductancia muscular de O<sub>2</sub> aumentó ligeramente con el tratamiento con rEpHu, fue un 33% inferior respecto al valor en sedentarios sanos.

El estudio de la bionergética celular en el paciente urémico en diálisis demostró la existencia de un alteración en el funcionamiento celular-mitocondrial por la existencia de un pH intracelular patológicamente bajo, que condicionaría una alteración funcional de la cadena mitocondrial. La normalización por el pH corregiría el funcionamiento mitocondrial y la bionergética celular. El tratamiento con rHuEp y la corrección de la anemia no modifican la bionergética celular muscular en el paciente urémico.

Unidad de Trasplante Renal. Servicio de Pneumología y Servicio de Nefrología, Hospital Clinic, Universidad de Barcelona, Barcelona

El presente estudio permite extraer básicamente dos conclusiones: (i) el incremento en la [Hb] provoca un descenso significativo en el flujo sanguíneo de la pierna, que limita el aporte periférico de O<sub>2</sub>; y (ii) la corrección de la anemia con rEpHu en la IRCT no se acompaña de una normalización en la conductancia muscular de O<sub>2</sub> sugiriendo la existencia de una alteración celular-mitocondrial y/o un déficit en la red capilar muscular (miopatía urémica).

PALABRAS CLAVE: EPO, O<sub>2</sub>, Hemodiálisis.

### The effect of treatment with erithropoietin on muscle oxygen (O<sub>2</sub>) consumption and cellular bioenergetics in haemodialysis patients with terminal chronic renal insufficiency

Erythropoietin (rHuEp) has proven to be effective in the treatment of anemia of chronic renal failure (CRF). Despite improving the quality of life, peak oxygen uptake after rHuEp therapy is not improved as much as the increase in hemoglobin concentration ([Hb]) would predict. We hypothesized that this discrepancy is due to failure of O<sub>2</sub> transport rates to rise in a manner proportional to [Hb]. To test this, eight patients with CRF undergoing regular hemodialysis were studied pre- and post-rHuEp ([Hb] = 7.5 +/- 1.0 vs. 12.5 +/- 1.0 g x dl<sup>-1</sup>) using a standard incremental cycle exercise protocol. A group of 12 healthy sedentary subjects of similar age and anthropometric characteristics served as controls. Arterial and femoralvenous blood gas data were obtained and coupled with simultaneous measurements of femoral venous blood flow (Qleg) by thermodilution to obtain O<sub>2</sub> delivery and oxygen uptake (VO<sub>2</sub>). Despite a 68% increase in [Hb], peakVO<sub>2</sub> increased by only 33%. This could be explained largely by reduced peak leg blood flow, limiting the gain in O<sub>2</sub> delivery to 37%. At peak VO<sub>2</sub>, after rHuEp, O<sub>2</sub> supply limitation of maximal VO<sub>2</sub> was found to occur, permitting the calculation of a value for muscle O<sub>2</sub> conductance from capillary to mitochondria (DO<sub>2</sub>). While DO<sub>2</sub> was slightly improved after rHuEPO, it was only 67% of that of sedentary control subjects. This kept maximal oxygen extraction at only 70%.

Cellular bioenergetics and its relationships with muscle O<sub>2</sub> transport, before and after rHuEp therapy, were examined in eight CRF patients (27 +/- 7.3 [SD] yr) studied pre- and post-rHuEp ([Hb] = 7.8 +/- 0.7 vs. 11.7 +/- 0.7 g x dl<sup>-1</sup>) during an incremental cycling exercise protocol. Eight healthy sedentary subjects (26 +/- 3.1 yr) served as controls. We hypothesize that uremic myopathy provokes a cytosolic dysfunction but mito-

chondrial oxidative capacity is not abnormal.  $^{31}\text{P}$ -nuclear magnetic resonance spectra ( $^{31}\text{P}$ -MRS) from the vastus medialis were obtained throughout the exercise protocol consisting of periods of 2 min exercise (at 1.67 Hz) at increasing work-loads interspersed by resting periods of 2.5 min. On a different day, after an identical exercise protocol, arterial and femoral venous blood gas data were obtained together with simultaneous measurements of femoral venous blood flow (Qleg) to calculate  $\text{O}_2$  delivery ( $\text{QO}_2\text{leg}$ ) and  $\text{O}_2$  uptake ( $\text{VO}_2\text{leg}$ ). Baseline resting [phosphocreatine] to [inorganic phosphate] ratio ([PCr]/[Pi]) did not change after rHuEPO (8.9  $\pm$  1.2 vs. 8.8  $\pm$  1.2, respectively), but it was significantly lower than in controls (10.9  $\pm$  1.5) ( $P = 0.01$  each). At a given submaximal or peak  $\text{VO}_2\text{leg}$ , no effects of rHuEPO were seen on cellular bioenergetics ([PCr]/[Pi] ratio, % [PCr] consumption halftime of [PCr] recovery after exercise), nor in intracellular pH (pHi). The post-rHuEPO bioenergetic status and pHi, at a given  $\text{VO}_2\text{leg}$ , were below those observed in the control group. However, at a given pHi, no differences in  $^{31}\text{P}$ -MRS data were detected between post-rHuEPO and controls. After rHuEPO, at peak  $\text{VO}_2$ , Qleg fell 20% ( $P < 0.04$ ), limiting the change in  $\text{QO}_2\text{leg}$  to 17%, a value that did not reach statistical significance. The corresponding  $\text{O}_2$  extraction ratio decreased from 73  $\pm$  4% to 68  $\pm$  8.2% ( $P < 0.03$ ).

The conclusions of the present study were: i) the increase in [Hb] produced by rHuEPO is accompanied by a significant reduction in peak blood flow to exercising muscle, which limits the gain in oxygen transport; ii) Even after restoration of [Hb],  $\text{O}_2$  conductance from the muscle capillary to the mitochondria remains considerably below normal; iii) Maximal  $\text{O}_2$  flow from microcirculation to mitochondria did not increase despite the 50% increase in [Hb] and explain how peak  $\text{VO}_2\text{leg}$  and cellular bioenergetics ( $^{31}\text{P}$ -MRS) did not change after rHuEPO; and iv) Differences in pHi, possibly due to lactate differences, between post-rHuEPO and controls appear to be a key factor in the abnormal muscle cell bioenergetics during exercise observed in CRF patients.

**KEY WORDS:** EPO,  $\text{O}_2$ , Haemodialysis.

## Introducción

La anemia constituye una complicación casi constante asociada a la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) (1, 2). La etiología de la anemia asociada a la IRCT es multifactorial, aunque el factor principal es déficit de eritropoyetina, de síntesis renal (1-3). Otros factores que intervienen en la anemia del paciente urémico, son déficits vitamínicos y minerales, acortamiento de la vida media de los eritrocitos y pérdidas hemáticas en relación con el tratamiento dialítico (1, 3). La introducción de la Eritropoyetina Humana Recombinante (rHuEPO) en la práctica clínica ha supuesto uno de los avances más notorios en el tratamiento y control de los pacientes afectados de IRCT. La terapia con rHuEPO ha permitido disminuir de forma significativa las necesidades transfusionales de los pacientes urémicos en diálisis, limitando de forma notoria los riesgos asociados: enfermedades transmisibles (hepatitis), hemosiderosis, sensibilización y reacciones transfusionales. El tratamiento con rHuEPO resulta eficaz en prácticamente todos los pacientes, siendo excepcionales los casos de resistencia a la rHuEPO (4).

La introducción del tratamiento con rHuEPO ha mejorado de forma significativa la calidad de vida de los pacientes urémicos en diálisis, aunque su utilización no está exenta de efectos secundarios, trombosis de la fístula arteriovenosa, hipertensión arterial, y reacciones locales

(5). Estudios fisiológicos y hemodinámicos sobre los efectos del tratamiento con rHuEPO en el paciente urémico sugieren que el aumento en la concentración de hemoglobina provoca una supresión del estado hipercinético circulatorio, propio de la anemia, y únicamente un moderado aumento en la capacidad aeróbica muscular al ejercicio (6-8). A pesar de ello, los efectos del aumento del contenido arterial de  $\text{O}_2$  sobre el consumo muscular de  $\text{O}_2$  son contradictorios y generalmente no se observa una mejoría significativa ni proporcional en la capacidad aeróbica muscular al ejercicio a pesar de la normalización en la concentración de hemoglobina (9-12). Esta limitación al ejercicio físico presente en el paciente urémico en diálisis y traducida clínicamente como fatigabilidad, podría explicarse por diversos factores etiopatogénicos: (i) el incremento en el aporte de  $\text{O}_2$  al músculo podría ser inferior al esperado; (ii) la conductancia muscular del  $\text{O}_2$  desde la microcirculación capilar hasta la mitocondria podría estar disminuida; y (iii) podrían existir defectos intrínsecos mitocondriales que limitarían el consumo muscular de  $\text{O}_2$  (13-15).

El objetivo del presente estudio fue analizar los factores que condicionan la limitación al ejercicio físico en el paciente urémico en diálisis y valorar el efecto del tratamiento con rHuEPO sobre el consumo muscular de oxígeno. Para la realización de este trabajo se determinó el consumo periférico de oxígeno a nivel muscular y un análisis de la bioenergética celular muscular valorada mediante espectroscopía con resonancia nuclear magnética con fósforo- $^{31}$  ( $\text{P}^{31}$ ), antes y después del tratamiento con eritropoyetina (rHuEPO). Para el desarrollo del mismo se han realizado dos protocolos independientes con pacientes distintos: Protocolo I consistía en la cuantificación de los cambios en el transporte convectivo de  $\text{O}_2$  ( $\text{QO}_2 =$  contenido arterial de  $\text{O}_2 \times$  flujo sanguíneo) y en el transporte difusivo de  $\text{O}_2$  a nivel de la microcirculación ( $\text{DO}_2$ ) después del tratamiento con rHuEPO, y analizar la contribución de  $\text{QO}_2$  y  $\text{DO}_2$  en el aumento del consumo máximo de  $\text{O}_2$  ( $\text{VO}_2\text{max}$ ) después del tratamiento con rHuEPO. Protocolo II, estudio de los cambios en la bioenergética celular en el cuádriceps después del tratamiento con rHuEPO. Se efectuaron mediciones de  $\text{H}^+$  y  $\text{P}^{31}$  (MRS) en condiciones basales y después de ejercicio máximo y submáximo. Se analizaron las relaciones entre los cambios producidos con el tratamiento con rHuEPO, en: 1) Consumo corporal de  $\text{O}_2$ ; 2) Consumo de  $\text{O}_2$  de la pierna durante el ejercicio; 3) Transporte de  $\text{O}_2$ ; 4) Niveles de ácido láctico en sangre y balance neto de ácido láctico del músculo; y 5) Los cambios observados en la bioenergética celular mediante espectroscopía con  $^{31}\text{P}$ -MRS. En definitiva: el objetivo común de ambos protocolos fue analizar las relaciones de los diferentes eslabones que intervienen en la transferencia de  $\text{O}_2$  desde la atmósfera a la célula (función pulmonar, hemoglobina, función cardiocirculatoria, intercambio periférico de  $\text{O}_2$ ) con las variables relacionadas con la capacidad energética celular ( $\text{VO}_2\text{max}$ , pH intracelular, cocientes fósforo orgánico/fósforo inorgánico)

después del incremento de la concentración de hemoglobina producida por la rHuEp.

## Pacientes y métodos

### PROTOCOLO I

**Población:** Se incluyeron 8 pacientes (edad  $24 \pm 4.5$  años) afectados de IRCT en programa de hemodiálisis y con anemia severa. Los datos antropométricos, función pulmonar, etiología IRC, y [Hb] antes y después del tratamiento con rHuEp se presentan en la Tabla 1. La dosis media de rHuEp utilizada durante el estudio fue de  $90.5 \pm 21$  UI.Kg-1.semana-1. Doce sujetos sedentarios sanos (11 hombres) (edad  $22 \pm 3.2$  a; altura  $174 \pm 8$  cm.; peso  $71 \pm 10$  Kg; [Hb]  $13.8$  gr.dl<sup>-1</sup>) estudiados previamente han sido utilizados como grupo control (16). Todos los participantes fueron informados de los riesgos y molestias del estudio, y dieron su consentimiento por escrito. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de nuestro Hospital.

**Diseño del estudio:** Inicialmente cada sujeto realizaba, sin catéteres, una prueba de esfuerzo convencional con cicloergómetro (incremento de 20 Watts cada dos minutos) hasta la claudicación clínica del paciente. En los estudios con catéteres pre y post-rHuEp realizados en el mismo día, los pacientes desarrollaban dos ejercicios distintos con cicloergómetro respirando a FiO<sub>2</sub> distintas. En el estudio pre-rHuEp, la FiO<sub>2</sub> fue del 0.21 y 1, mientras que en el estudio post-rHuEp la FiO<sub>2</sub> fue del 0.13 y 0.21, desarrollados de forma aleatorizada y con descanso intermedio hasta conseguir una completa recuperación. La carga máxima para cada paciente fue definida como la máxima carga soportada durante dos minutos consecutivos en el estudio preliminar sin catéteres. En todos los casos se insistía en mantener la misma actividad física día-

ria durante todo el período de estudio a pesar de mejorar la calidad de vida con la rHuEp.

Las determinaciones secuenciales de VO<sub>2</sub>, producción de CO<sub>2</sub>, ventilación (VE), cociente respiratorio (RER), frecuencia cardíaca (FC), y frecuencia respiratoria (FR) se realizaron con intervalos de 15 segundos y fueron representadas en un monitor para mostrar el "plateau" definitivo de VO<sub>2</sub> max. (falta de incremento del VO<sub>2</sub> al aumentar la carga del cicloergómetro). En los pacientes con IRCT las determinaciones en los estudios pre y post-rHuEp fueron realizadas en las siguientes condiciones: i) en reposo; ii) durante esfuerzo submáximo (30%, 60%, y 80%); y iii) durante esfuerzo máximo. En los voluntarios sanos, los estudios se realizaron en: i) reposo; ii) 60% esfuerzo máximo; y iii) esfuerzo máximo. Durante todos los estudios se determinaron los siguientes parámetros simultáneamente en arteria y vena femoral: PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, pH, saturación de oxígeno, [Hb] y concentración de lactato; y también flujo sanguíneo femoral (QEI) y tensión arterial. La conductancia muscular de O<sub>2</sub> traduciría la difusión directa del O<sub>2</sub> desde el capilar a la célula y posibles alteraciones en el VO<sub>2</sub> debidas a anomalías en el flujo sanguíneo capilar.

### PROTOCOLO II

**Población:** Se estudiaron ocho pacientes (7 hombres) (edad  $27 \pm 7.3$  años) afectados de IRCT en programa de hemodiálisis y con anemia severa. La dosis media de rHuEp utilizada durante el estudio fue de  $84 \pm 18$  UI.Kg-1.semana<sup>-1</sup>. Diez sujetos sedentarios sanos (8 hombres) (edad  $2 \pm 4$  a; altura  $176 \pm 4$  cm.; peso  $69 \pm 7$  Kg; [Hb]  $13.6$  gr.dl<sup>-1</sup>) fueron también incluidos en el estudio como grupo control. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de nuestro Hospital.

**Diseño del estudio:** El ejercicio físico se desarrollaba mediante un ergómetro especialmente diseñado para el presente estudio de material no magnético, en el cual el

TABLA I

### PARAMETROS ANTROPOMETRICOS, FUNCION PULMONAR, NEFROPATIA DE BASE Y CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA DE LOS PACIENTES INCLUIDOS EN EL PROTOCOLO I

PACIENTE (#)	EDAD (años)	Altura (cm)	Peso (Kg)	FEV1		PaO2 (mmHg)	NEFROPATIA	Pre-rHuEp [Hb]	Post-rHuEp [Hb]	Δ [Hb] g.dl <sup>-1</sup>	
				L	% pred.						
1	20	176	62	4.9	(109)	81	101	Glomerulo.	9.2	12.5	3.3
2	20	167	58	4.6	(114)	87	109	Glomerulo.	7.3	12.5	5.2
3	21	166	65	4.6	(114)	87	101	Glomerulo.	7.7	11.0	3.3
4	20	172	58	4.3	(99)	93	116	Glomerulo.	8.5	11.0	2.5
5	29	165	80	3.5	(92)	88	113	Glomerulo.	7.5	12.3	4.8
6	21	167	83	3.8	(95)	87	87	LES	7.7	14.2	6.5
7	29	172	70	3.6	(85)	81	100	IgA	6.5	13.8	7.3
8	29	169	63	2.9	(73)	79	111	Reflujo	5.9	12.7	6.8
Media	24	169	67	4.0	(98)	85	105		7.5	12.5	5.0
DS	5	5	10	0.7	15	4	9		1.0	1.0	1.8

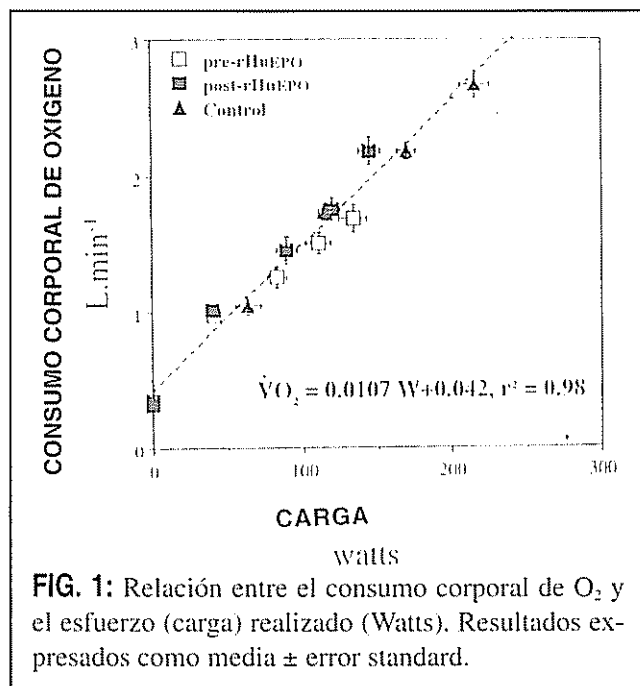
Características generales del grupo de pacientes con IRC. Resultados expresados como media  $\pm$  error standard.

paciente adoptaba una posición en decúbito supino movi-  
lizando de forma continua unos soportes mecánicos a  
modo de pedales. Mediante un dispositivo se aumentaba  
progresivamente la intensidad y carga del ejercicio físico.  
Cada individuo realizaba el ejercicio físico durante ci-  
clos de 2 minutos de duración con intensidades crecien-  
tes. El presente protocolo únicamente se realizó con un  
FiO<sub>2</sub> ambiental del 21%. La espectroscopia se realizó me-  
diante un equipo de resonancia nuclear magnética (RNM)  
tipo 1.5 T General Electric Sigma Advantage System  
(General Electric, Milwaukee, WI) trabajando a una fre-  
cuencia de 63.65 y 25.86 MHz para el hidrógeno-1 y para  
el fósforo-31, respectivamente. Se determinaron mediante  
espectroscopia con <sup>31</sup>P-MRS los siguientes parámetros de  
bionérgica celular, concentración de fosfo-creatina  
([PCr]), concentración de fósforo inorgánico ([Pi]), pH  
intracelular (pHi), relación entre la fosfo-creatina y el  
fósforo inorgánico ([PCr/Pi]), el porcentaje de consumo  
de fosfo-creatina (%[PCr]) y el tiempo medio de recupe-  
ración de la [PCr] después de cada carga. Las determina-  
ciones espectroscópicas se realizaron en reposo (3'')  
después de 2 minutos de ejercicio físico ergométrico  
continuo y progresivo.

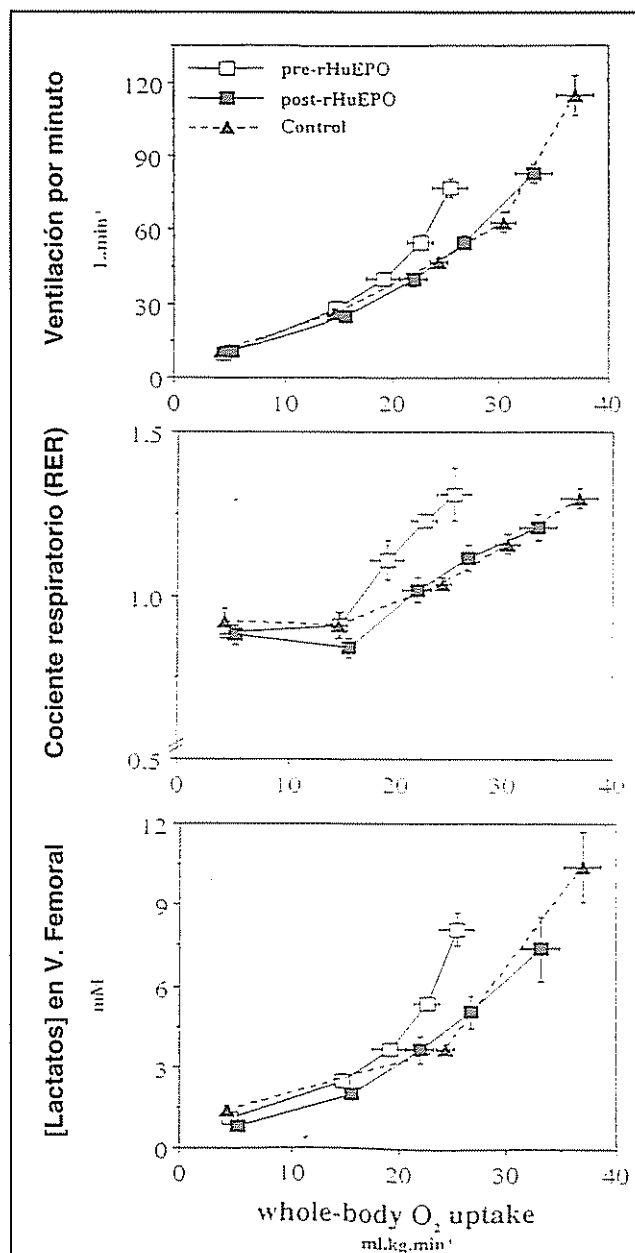
## Resultados

### PROTOCOLO I

Después del tratamiento con rHuEp, la [Hb] en los 8  
pacientes con IRCT se incrementó significativamente en  
5.0±1.8 g.dl<sup>-1</sup> (95% IC, 3.5 - 6.5 g.dl<sup>-1</sup>). Todos los pa-  
cientes tenían gasometrías arteriales normales, tanto en  
reposo como durante el esfuerzo. Por ello se produce un  
aumento paralelo entre la [Hb] (60%) y el contenido ar-



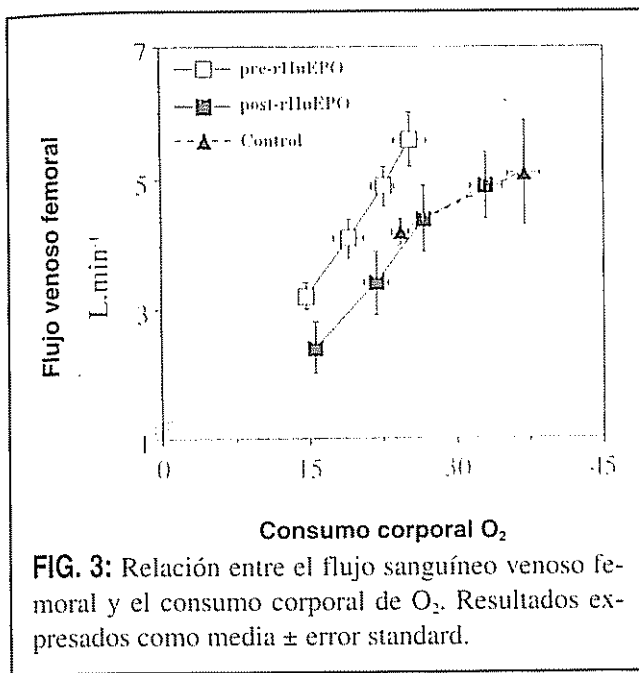
**FIG. 1:** Relación entre el consumo corporal de O<sub>2</sub> y el esfuerzo (carga) realizado (Watts). Resultados expresados como media ± error standard.



**FIG. 2:** Relación entre el consumo corporal de O<sub>2</sub> y la ventilación minuto (VE); cociente respiratorio (RER), y concentración de lactatos en vena femoral. Resultados expresados como media ± error standard.

terial de O<sub>2</sub> (57%) después del tratamiento con rHuEp.

**Características de la prueba de Esfuerzo:** Los datos de la prueba de esfuerzo en el grupo de pacientes y en el grupo control se presentan en la Tabla 2 y 3, y Figuras 1 y 4. Aunque resulta difícil poder definir un "plateau" estable de VO<sub>2</sub> durante el esfuerzo máximo en los pacientes con IRCT, el valor del cociente respiratorio (RER) y la producción y concentración de lactatos, sugieren que tanto pre como post-rHuEp se alcanzó un esfuerzo máximo en todos los pacientes. Después del tratamiento con rHuEp, el consumo corporal máximo de O<sub>2</sub> (VO<sub>2max</sub>) aumento un 29%, aunque seguía siendo un 12% inferior



al grupo control. Tanto en los pacientes con IRC (pre y post-rHuEp) como en el grupo control, se observó una relación lineal entre el consumo corporal de O<sub>2</sub> y el esfuerzo realizado.

Después del tratamiento con rHuEp y para cualquier consumo de O<sub>2</sub> la VE, RER y concentración venosa femoral de lactatos (Lav) disminuyó significativamente. En el estudio post-rHuEp, la relación entre estas variables y el consumo corporal de O<sub>2</sub> resultó similar al del grupo control. Por contra y para cualquier consumo de O<sub>2</sub>, no se observaron cambios significativos entre la producción de lactatos en extremidad inferior entre el grupo IRCT y el grupo control.

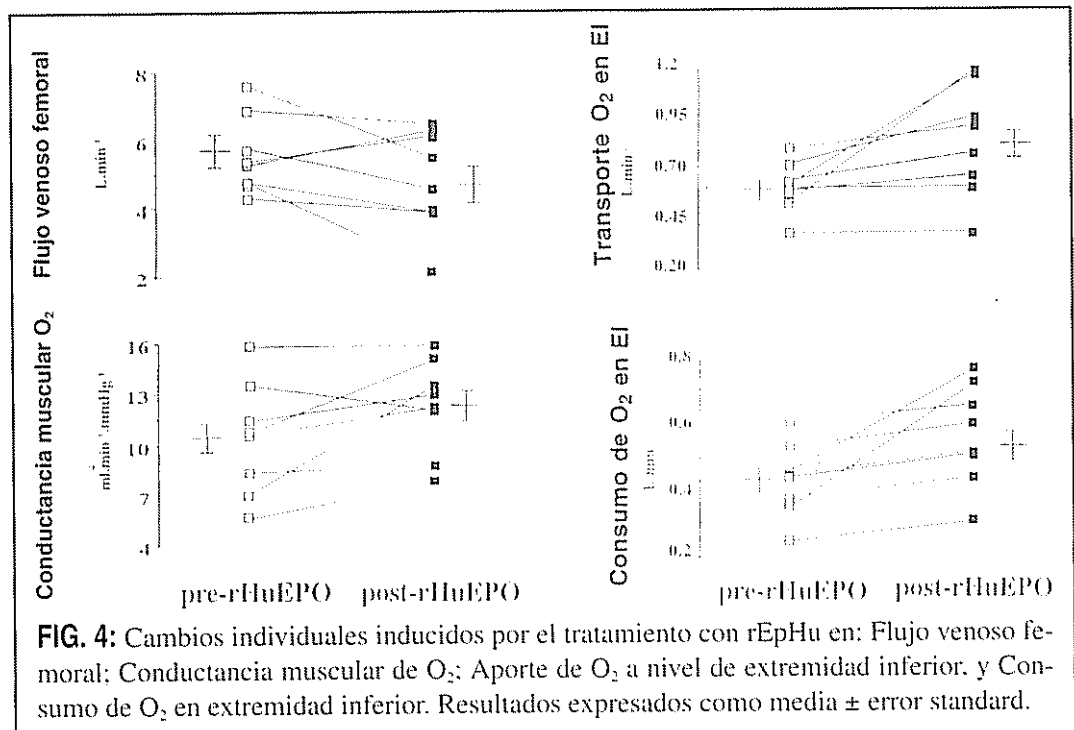
**Flujo sanguíneo en extremidad inferior y transporte de O<sub>2</sub>:** El flujo sanguíneo venoso femoral disminuyó significativamente después del tratamiento con rHuEp ( $p < 0.005$ ), con una disminución media de  $-0.70 \pm 0.9$  L.min<sup>-1</sup> durante el esfuerzo submáximo. Esta disminución en el flujo sanguíneo de la extremidad inferior observado después del tratamiento con rHuEp, contrarrestó el aumento en el contenido y aporte arterial de O<sub>2</sub>. Es por ello que el incremen-

to en el QO<sub>2</sub>El post-rEpHu y durante el ejercicio máximo fue únicamente de  $0.22 \pm 0.25$  L.min<sup>-1</sup> (36%) (Oseos 4).

**Consumo de O<sub>2</sub> en Extremidad Inferior:** El consumo de O<sub>2</sub> a nivel de la extremidad inferior estudiada aumentó significativamente con el tratamiento con rHuEp a cualquier esfuerzo desarrollado (Figura 3). Post-rHuEp, la VO<sub>2</sub>EI durante el esfuerzo máximo aumento  $0.13 \pm 0.13$  L.min<sup>-1</sup> (30%), aunque seguía siendo inferior en un 18% al valor observado en el grupo control ( $8.5 \pm 1.6$  y  $10 \pm 2.7$  ml.Kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>, respectivamente).

**Conductancia muscular de O<sub>2</sub> durante el esfuerzo máximo:** En el estudio post-rHuEp, la VO<sub>2</sub>EI y la PO<sub>2</sub> capilar durante el esfuerzo máximo determinada en hipoxia y la respiración ambiente mostraban una relación lineal y proporcional, que permitía determinar la conductancia muscular de O<sub>2</sub>. Esta relación lineal también se confirmó en los dos estudios realizados en hipoxia con el grupo control. La conductancia muscular de O<sub>2</sub> se incrementó un 25% después del tratamiento con rHuEp, de  $10.4 \pm 3.3$  a  $13.0 \pm 3.1$  ml.O<sub>2</sub>.min<sup>-1</sup>.mmHg (Figura 4). A pesar de ello, la conductancia muscular de O<sub>2</sub> post-rEpHu seguía siendo un 33% inferior respecto al grupo control.

**PO<sub>2</sub> en vena femoral y coeficiente extracción de O<sub>2</sub>:** Durante el esfuerzo máximo no se observaron cambios significativos en la PO<sub>2</sub> ni en la saturación de O<sub>2</sub> a nivel de vena femoral entre los estudios pre y post-rEpHu en los pacientes con IRCT. Los cambios observados en los estudios post-rHuEp serían debidos a un desplazamiento de la curva de disociación de la hemoglobina hacia la derecha inducida por la rHuEp. Este hecho junto con un pH venoso femoral inferior y una PCO<sub>2</sub> superior después del tratamiento con rHuEp, facilitarían la liberación de O<sub>2</sub> de la hemoglobina en el capilar muscular. A pesar de ello, no se han observado cambios en el grado



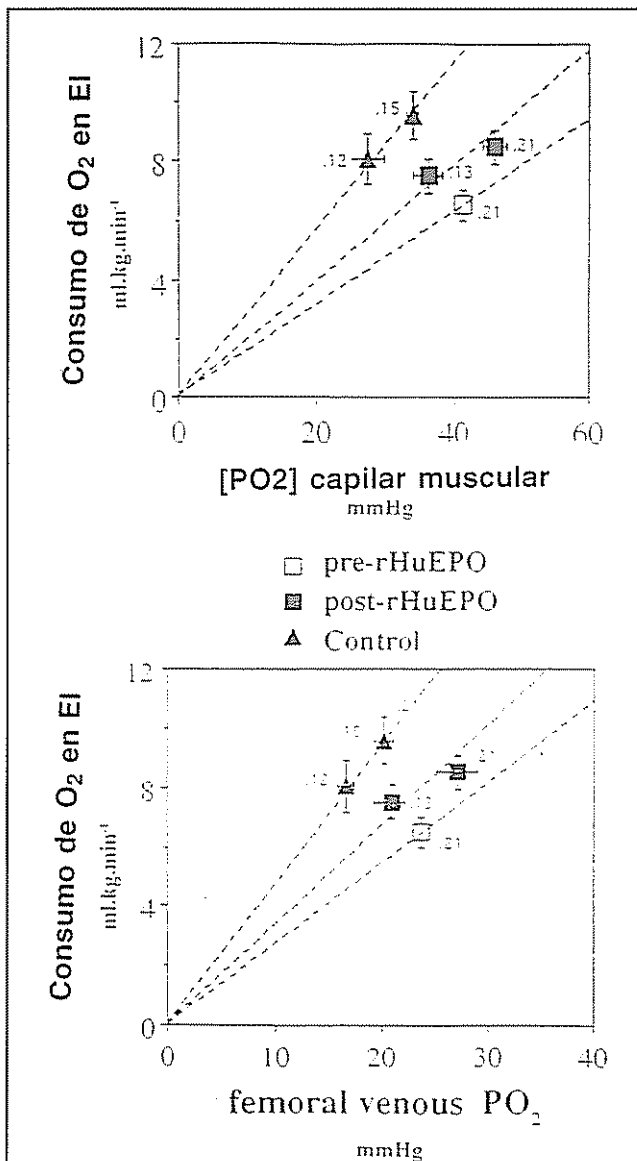


FIG. 5: Relación entre el consumo máximo de O<sub>2</sub> en extremidad inferior y la presión media de O<sub>2</sub> en capilar muscular (Superior) y la presión de O<sub>2</sub> en vena femoral (Inferior). Resultados expresados como media ± error standard.

de extracción de O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub>ER) durante el esfuerzo máximo (71±6 a 70±10, respectivamente). Después del tratamiento con rHuEp, el O<sub>2</sub>ER resultó ser ligeramente inferior al observado en el grupo control.

## PROTOCOLO II

Después del tratamiento con rHuEp, la [Hb] se incrementó significativamente en 4.0±1.1 g.dl<sup>-1</sup> (95% IC, 3.5 - 6.5 g.dl<sup>-1</sup>) en los 8 pacientes con IRCT. Todos los pacientes tenían gasometrías arteriales normales, tanto en reposo como durante el esfuerzo. Por ello se produce un aumento paralelo entre la [Hb] (50%) y el contenido arterial de O<sub>2</sub> (48%) después del tratamiento con rHuEp.

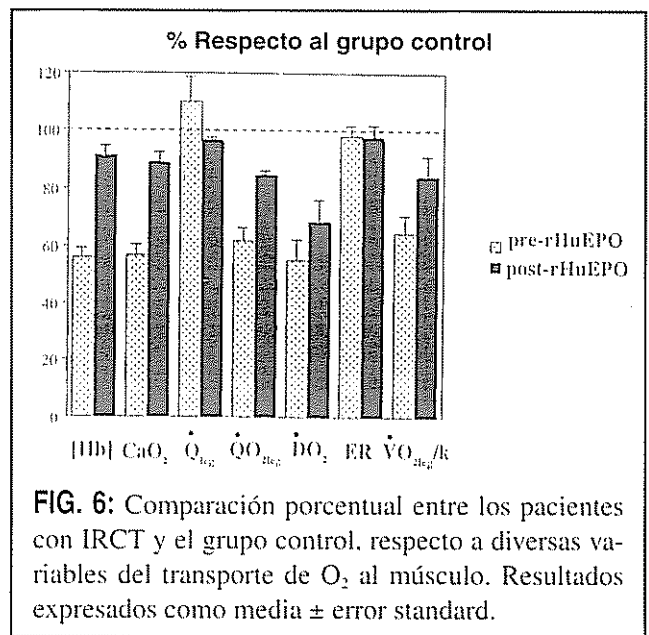


FIG. 6: Comparación porcentual entre los pacientes con IRCT y el grupo control, respecto a diversas variables del transporte de O<sub>2</sub> al músculo. Resultados expresados como media ± error standard.

El tratamiento con rHuEp no modificó significativamente la bioenergética celular, siendo la relación [PCr]/[Pi] idéntica pre y post-rHuEp. Tampoco se observaron cambios durante el ejercicio máximo y submáximo antes y después del tratamiento con rHuEp en las siguientes determinaciones: a) Consumo de [PCr] o %[PCr]; b) pH intracelular (pHi); c) Tiempo de recuperación de la [PCr]. Por contra, cuando comparamos la bioenergética celular entre grupo control y los pacientes urémicos pre/post-eritropoyetina valorada mediante los parámetros anteriormente referidos, se observan diferencias significativas siendo la relación [PCr]/[Pi] superior en el grupo control respecto a los pacientes urémicos post-rHuEp al igual que el pHi, por contra el %[PCr] consumida y el tiempo medio de recuperación de la PCr fueron significativamente superiores en los pacientes urémicos respecto al grupo control. Cuando corregimos las

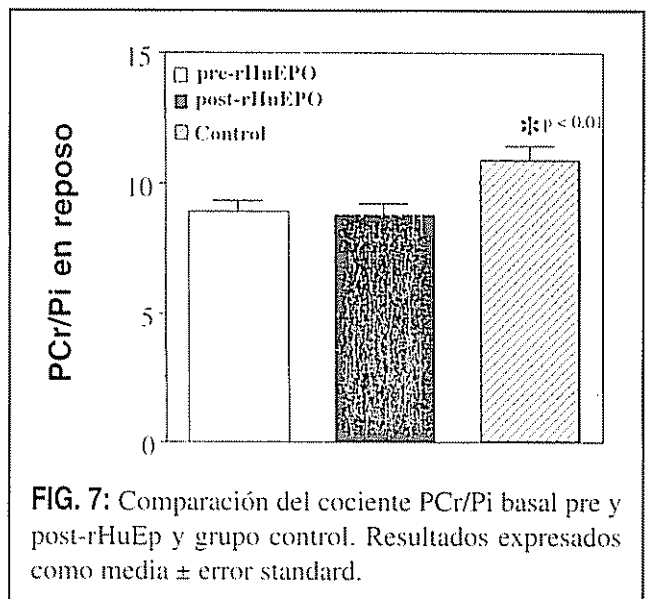
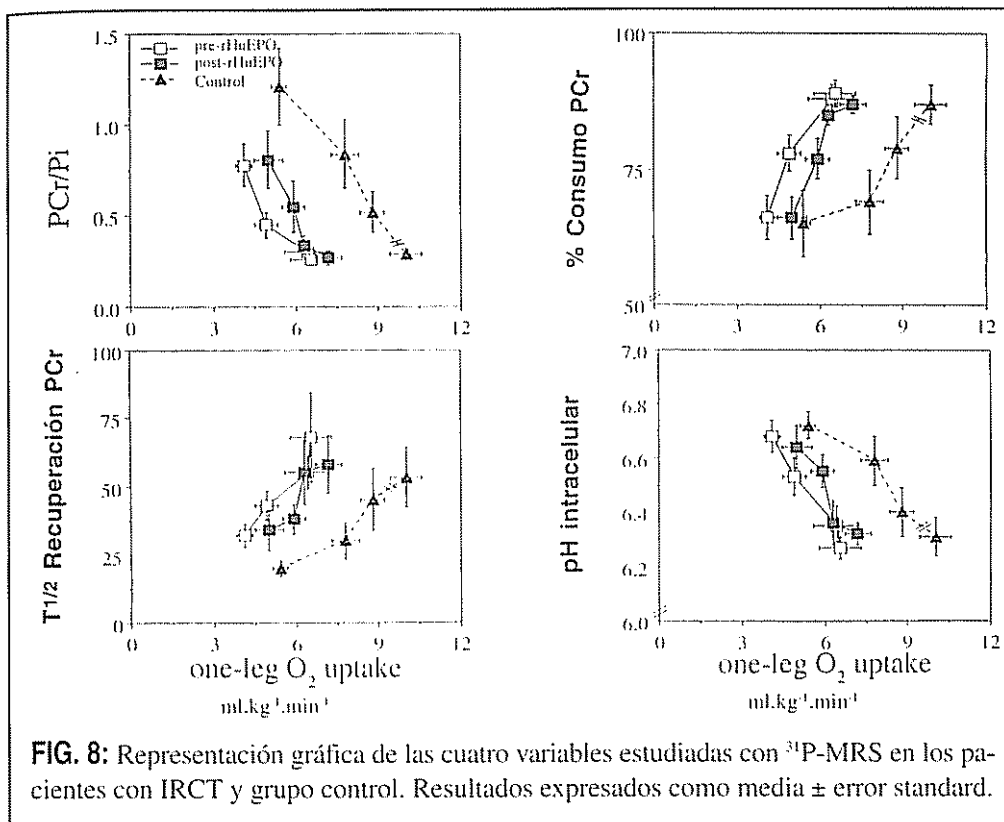


FIG. 7: Comparación del cociente PCr/Pi basal pre y post-rHuEp y grupo control. Resultados expresados como media ± error standard.



variables de bioenergética celular por el pHi, resulta que no existen diferencias significativas entre el grupo control y los pacientes urémicos pre/post-rHuEp.

## Discusión

El presente estudio demuestra que el tratamiento con rHuEp en los pacientes urémicos en diálisis induce un aumento significativo en la concentración de hemoglobina, produciéndose un descenso marcado en el flujo sanguíneo venoso femoral. Este descenso en el flujo sanguíneo en extremidad inferior sería debido a la normalización del estado hipercinético propio de la anemia (17, 18). La disminución en el flujo sanguíneo venoso femoral limitaría parcialmente el incremento en el aporte de oxígeno a la extremidad inferior que cabría esperar por el incremento en la [Hb] y en el contenido arterial de  $\text{O}_2$  post-rHuEp.

También se demuestra que el tratamiento con rHuEp incrementa la capacidad aeróbica al ejercicio físico ( $\text{VO}_2$  Corporal y  $\text{VO}_2\text{EI}$ ) durante el esfuerzo máximo y submáximo (Figura 2 y 3). A pesar de ello se observa una clara disociación entre la magnitud del incremento en el contenido arterial de  $\text{O}_2$  post-rHuEp y el aumento moderado en el consumo máximo de  $\text{O}_2$ . Esta disociación ocurre a pesar de aumentar los dos componentes del transporte de  $\text{O}_2$  de la atmósfera a la célula después del tratamiento con rHuEp: transporte convectivo ( $\text{QO}_2\text{EI}$ ) y difusivo ( $\text{DO}_2$ ).

**Interacciones entre el aporte de  $\text{O}_2$  y la conductancia muscular de  $\text{O}_2$ :** La disminución en el flujo sanguíneo venoso femoral (Figura 3) eliminaría parcialmente el efecto positivo del aumento de conductancia muscular de  $\text{O}_2$  inducida por el aumento en la [Hb] post-rHuEp. Diversos estudios realizados en voluntarios sanos y en animales de experimentación muestran que el incremento en la [Hb] produce un aumento en el consumo máximo de  $\text{O}_2$  por incremento simultáneo de los dos componentes del transporte de  $\text{O}_2$  aporte convectivo y conductancia muscular (19-21). El efecto de la disminución del flujo venoso femoral sobre la

conductancia muscular de  $\text{O}_2$  sería debido a una disminución del área capilar efectiva o por anomalías en la relación entre  $\text{QO}_2/\text{VO}_2$  a nivel de la microcirculación capilar muscular.

Piiper y Scheid describieron el modelo de la limitación del consumo máximo de  $\text{O}_2$  por déficit de aporte, validado en voluntarios sanos sedentarios después de un entrenamiento intensivo, sugiriendo que el grado de extracción de  $\text{O}_2$  dependería del transporte de  $\text{O}_2$  y de la conductancia muscular de  $\text{O}_2$  (22). El sistema más eficaz de mejorar la transferencia de  $\text{O}_2$  desde el capilar hasta la mitocondria ocurriría cuando se produce un incremento simultáneo en los dos componentes del transporte de  $\text{O}_2$ , con un mayor aumento relativo en la conductancia muscular de  $\text{O}_2$ . Por contra, los pacientes con IRCT muestran un incremento superior de  $\text{QO}_2$  (36%) que de  $\text{DO}_2$  (25%). Esto se traduciría en la falta de aumento en el consumo máximo de  $\text{O}_2$  ( $\text{VO}_2\text{max}$ ) independientemente del aporte de  $\text{O}_2$ .

**Comparación entre los estudios post-rHuEp y grupo control** (Figura 6): Después del tratamiento con rHuEp la [Hb] y el flujo sanguíneo venoso femoral son discretamente inferiores respecto al grupo control, sin que se observaran diferencia en la  $\text{PaO}_2$ , siendo la  $\text{QO}_2\text{EI}$  un 15% inferior en los pacientes con IRC respecto al grupo control. Resulta interesante remarcar que la conductancia muscular de  $\text{O}_2$  constituye la variable que con mayor intensidad se afecta en la IRCT. Esto explicaría porque la extracción de  $\text{O}_2$  post-rHuEp no sea superior a pesar de un flujo sanguíneo muscular inferior. Además, la

relación entre la conductancia y el aporte muscular de O<sub>2</sub> resultó ser inferior respecto al grupo de voluntarios sanos. El mayor aporte de O<sub>2</sub> y una conductancia muscular de O<sub>2</sub> superior observada en los controles sanos, explicaría el consumo de O<sub>2</sub> mayor respecto al grupo IRCT.

La alteración anatómica que justificaría la reducción en la conductancia muscular de O<sub>2</sub> en la IRCT no ha sido examinado en el presente trabajo, pero existen datos en la literatura que apoyan la hipótesis de una disminución en la red capilar muscular (14, 15, 23). Estudios previos demostraron que la superficie de la microcirculación muscular representa un factor determinante y limitante en la conductancia muscular de O<sub>2</sub>. A pesar de que el déficit de actividad aeróbica es un fenómeno complejo en los pacientes con IRCT, el presente estudio demuestra por primera vez que la alteración en el transporte de O<sub>2</sub> a nivel de la microcirculación muscular podría explicar parcialmente el efecto observado en el consumo máximo de O<sub>2</sub>.

El estudio de la bioenergética muscular analizado con espectroscopía con P<sup>31</sup> confirmó los datos del estudio convencional, observándose en el estudio prerHuEp un descenso significativo en la conductancia muscular de O<sub>2</sub>. El incremento en la [Hb] post-rHuEp fue del 50%, pero al disminuir un 20% el flujo sanguíneo venoso femoral, el aporte de O<sub>2</sub> únicamente aumentó un 17%. El consumo de O<sub>2</sub> de la pierna estudiada no aumentó de forma significativa en el estudio post-rHuEp. La bioenergética muscular fue estudiada mediante determinación de las siguientes variables: cociente fosfocreatina/fósforo inorgánico (PCr/Pi) en reposo y durante el ejercicio, tiempo medio de recuperación de la PCr consumida (T1/2 PCr), porcentaje de PCr consumida y pH intracelular. El análisis de los datos sugiere que el tratamiento con rHuEp no provoca cambios en la bioenergética muscular (Figuras 7 y 8). Cuando se comparan los resultados con el grupo control se aprecia un distinto comportamiento del músculo en los pacientes con IRCT, por lo que la presencia de una alteración del metabolismo oxidativo mitocondrial y/o un defecto metabólico inespecífico (miopatía urémica), no pueden ser completamente descartadas.

Se ha demostrado que el entrenamiento físico progresivo e intenso consigue un aumento en el consumo de O<sub>2</sub> en los pacientes con IRCT de aproximadamente un 25% (24, 25). A pesar de que el tratamiento con rHuEp en los pacientes con IRC mejora su calidad de vida, no se produce un aumento automático y paralelo en la actividad física de estos pacientes con IRC tratados con rHuEp (6-8). En el presente estudio se aconsejó de forma reiterativa que los pacientes no modificaran su actividad física durante el tratamiento con rHuEp, y que mantuvieran una actividad física similar a la previa al estudio. A pesar de ello, si se hubiera producido un ligero aumento en la actividad física, repercutiría en el efecto del tratamiento con rHuEp sobre la perfusión sanguínea de la pierna y en la conductancia muscular de O<sub>2</sub>, reduciendo las diferencias entre el estudio post-rHuEp y el grupo de sanos sedentarios.

**En resumen**, y en base a los datos de los dos estudios realizados podemos concluir, que la mejoría en la calidad de vida y el aumento en la capacidad física al ejercicio aeróbico observado por el tratamiento con rHuEp estarían directamente relacionados. Los cambios hemodinámicos observados por el incremento en la concentración de hemoglobina tendrían un papel fundamental en el aporte y captación de O<sub>2</sub> durante el esfuerzo máximo. La interacción entre el transporte convectivo y difusivo de O<sub>2</sub> al músculo explicarían el discreto incremento en el consumo muscular de O<sub>2</sub> comparado con el aumento en la [Hb], en base a una caída en la perfusión muscular y un fallo en la extracción de O<sub>2</sub> de la microcirculación capilar muscular. Esto ocurriría por un importante defecto en la conductancia muscular de O<sub>2</sub> en los pacientes con IRC, que sería un 33% inferior respecto al grupo control. La bioenergética muscular en el paciente urémico está alterada funcionalmente por un pH intracelular excesivamente bajo, que condicionaría una alteración funcional de la cadena mitocondrial. La normalización por el pH<sub>i</sub> (Figura 8) corregiría el funcionamiento mitocondrial y la bioenergética celular. El tratamiento con rHuEp y la corrección de la anemia no modifican la bioenergética celular muscular en el paciente urémico.

Todo ello sugeriría la existencia de una alteración en la microcirculación muscular secundaria a la propia IRCT que limitaría la actividad física aeróbica, con mayor severidad que la anemia existente. La falta de correlación existente entre el incremento en la [Hb] y el consumo de O<sub>2</sub> demostrado en el presente estudio en los pacientes con IRC, sugeriría que la concentración óptima de hemoglobina en los pacientes urémicos en tratamiento con rHuEp sería probablemente inferior a la deseada en la población general, con la idea de optimizar al máximo el consumo muscular de O<sub>2</sub> y evitar los efectos secundarios inherentes al propio tratamiento con rHuEp.

## Bibliografía

1. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM. 1986. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic hemodialysis. *Lancet* 2:1175-78.
2. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. 1987. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N. Engl. J. Med.* 316:73-8.
3. Eschbach JW, Mladenovic J, Garcia JF, Wahl PW, Adamson JW. 1984. The anemia of chronic renal failure in sheep: response to erythropoietin-rich plasma in vivo. *J. Clin. Invest.* 74:434-441.
4. Eschbach JW, Adamson JW. 1988. Recombinant human erythropoietin: implications for nephrology. *Am. J. Kidney Dis.* 11:203-9.
5. Canadian Erythropoietin Study Group. 1990. Association between recombinant human erythropoietin and



- quality of life and exercise capacity of patients receiving haemodialysis. *Br. Med. J.* 300:573-8.
6. Mayer G, Thum J, Graf H. 1989. Anaemia and reduced exercise capacity in patients on chronic haemodialysis. *Clin. Sci.* 76:265-8.
  7. Macdougall IC, Lewis NP, Saunders MJ, Cochlin DL, Davies ME, Hutton RD, Fox KAA, Coles GA, Williams JD. 1990. Long-term cardiorespiratory effects of amelioration of renal anaemia by erythropoietin. *Lancet* 335:489-93.
  8. Robertson HT, Haley NR, Guthrie M, Cardenas D, Eschbach JW, Adamson JW. 1990. Recombinant erythropoietin improves exercise capacity in anemic hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 15:325-32.
  9. Satoh K, Masuda T, Ikeda Y, Kurokawa Sh, Kamata K, Kikawada R, Takamoto T, Marumo F. 1990. Hemodynamic changes in recombinant erythropoietin therapy in hemodialyzed patients. *Hypertension* 15:262-266.
  10. Metra M, Cannella G, La Canna G, Guaini T, Sandrini M, Gaggiotti M, Movilli E, Dei Cas L. 1991. Improvement in exercise capacity after correction of anemia in patients with end-stage renal failure. *Am. J. Cardiol.* 68:1060-6.
  11. Lundin AP, Akerman MJH, Chesler RM, Delano BG, Goldberg N, Stein RA, Friedman EA. 1991. Exercise in hemodialysis patients after treatment with recombinant human erythropoietin. *Nephron* 58:315-9.
  12. McMahon LP, Johns JA, McKenzie A, Austin M, Fowler R, Dawborn JK. 1992. Haemodynamic changes and physical performance at comparative levels of haemoglobin after long-term treatment with recombinant erythropoietin. *Nephrol. Dial. Transplant.* 7:1199-206.
  13. Davenport A. 1993. The effect of treatment with recombinant human erythropoietin on skeletal muscle function in patients with end-stage renal failure treated with regular hospital hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 22:685-90.
  14. Moore GE, Parsons B, Stray-Gundersen J, Painter PL, Brinker KR, Mitchell JH. 1993. Uremic Myopathy limits aerobic capacity in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 22:277-87.
  15. Diesel W, Emms M, Knight BK, Noakes TD, van Zyl Smit R, Kaschula R OC, Sinclair-Smith CC. 1993. Morphologic features of the myopathy associated with chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 22:677-684.
  16. Roca J, Agustí AGN, Alonso J, Poole DC, Viegas C, Barbera JA, Rodríguez-Roisin R, Ferrer A, Wagner PD. 1992. Effects of training on muscle O<sub>2</sub> transport at V.O<sub>2</sub>max. *J. Appl. Physiol.* 73:1067-76.
  17. Rosberg B, Wulff K. 1979. Regional blood flow in normovolaemic and hypovolaemic haemodilution. *Br J Anaesth* 51:423-30.
  18. Fan FCH, Chen R YZ, Schuessler GB, Chien S. 1980. Effects of hematocrit variations on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog. *Am. J. Physiol.* 238 (Heart Circ. Physiol. 7):H545-H552.
  19. Hogan MC, Bebout DE, Wagner PD. 1991. Effect of hemoglobin concentration on maximal O<sub>2</sub> uptake in canine gastrocnemius muscle in situ. *J. Appl. Physiol.* 70:1105-12.
  20. Schaffartzik W, Barton ED, Poole DC, Tsukimoto K, Hogan MC, Bebout DE, Wagner PD. 1993. Effect of reduced hemoglobin concentration on leg oxygen uptake during submaximal exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 75:491-8.
  21. Tenney SM. 1993. Effect of reduced hemoglobin concentration on leg oxygen uptake during submaximal exercise in humans (Editorial). *J. Appl. Physiol.* 75:489-90.
  22. Piiper J, Scheid P. 1981. Model for capillary alveolar equilibration with special reference to O<sub>2</sub> uptake in hypoxia. *Respir Physiol* 46:193-208.
  23. Moore GE, Bertocci LA, Painter PL. 1993. <sup>31</sup>P-magnetic resonance spectroscopy assessment of subnormal oxidative metabolism in skeletal muscle of renal failure patients. *J. Clin. Invest.* 91:420-4.
  24. Painter P. 1994. The importance of exercise training in rehabilitation of patients with end-stage renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 24(suppl 1): pS2-9.
  25. Clyne N, Ekholm J, Jogestrand T, Lins, LE, Pehrsson SK. 1991. Effects of Exercise Training in Predialytic Uremic Patients. *Nephron* 59:84-89.