

MODIFICACIONES DE LA ERITROPOYESIS Y DEL METABOLISMO DEL HIERRO DESPUES DE LA IRRADIACION (*)

Changes of erythropoiesis and iron metabolism after irradiation.

GEORGE HODGSON e IRMA ESKUCHE

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Casilla 653, Santiago.

Recibido para su publicación el 31 de Julio de 1967.

RESUMEN

Se demostró que el aumento de la captación femoral de hierro observado en ratas irradiadas con 200 r después de un tratamiento con fenilhidracina no era consecuencia de eritropoyesis inefectiva y que se debía a un desplazamiento de la captación de hierro de la sangre circulante a la médula.

La concentración de hierro plasmático aumentó cuando se deprimió la eritropoyesis por irradiación. El aumento era proporcionalmente menor mientras mayor era la eritropoyesis en el momento de la irradiación.

La captación de hierro por los tejidos no eritropoyéticos aumentó cuando aumentaba la ferremia. En el caso del hígado la captación se estabilizó en un valor máximo cuando la ferremia era alrededor de 4 µg/ml. La captación por el resto de los tejidos no eritropoyéticos, presumiblemente intestino, aumentó inicialmente para caer después, posiblemente como una consecuencia de la muerte celular por irradiación.

INTRODUCCIÓN

En un trabajo anterior nos llamó la atención que ratas tratadas con fenilhidracina y luego irradiadas con 200 rad γ , mostraran una mayor captación femoral de hierro que ratas no irradiadas (1). Como en ese experimento no se midió la cantidad de ^{59}Fe que aparecía posteriormente en los eritrocitos circulantes, era posible que la mayor captación medular reflejara eritropoyesis inefectiva (2). Si éste fuera el caso, la entrega de glóbulos rojos marcados debería ser menor. En el presente trabajo se estudiaron los efectos de la irradiación γ sobre la eritropoyesis, midiendo en unos animales la captación de ^{59}Fe por la médula, a las 3 horas después de inyectar el trazador y en otros del mismo grupo el contenido de ^{59}Fe de los eritrocitos a las 24 y 48 horas después de la inyección del trazador. Se analizó, además, el efecto de la irradiación sobre

la ferremia, y el recambio de hierro no eritropoyético.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas machos A x C de 160 a 180 g. Para la irradiación se utilizó una fuente cesio 6 rad/min (3). La prueba de distribución de ^{59}Fe a las tres horas (3) se realizó en unas ratas (por lo menos 5 animales) de un grupo y a otras sólo se les sacó una muestra de sangre de la cola, a las 3 y 24 horas, y luego se desangraron por la aorta 48 horas después de la inyección del trazador. Se determinó el contenido de ^{59}Fe de los eritrocitos lavados con un detector de centelleo. El régimen de inyecciones de fenilhidracina fue el mismo descrito en un trabajo anterior (3).

Cálculos:

1. La captación total de hierro por el tejido eritroide se calculó: a) de los datos de la prueba de las tres horas con la fórmula publicada anteriormente (3) y b) de los de la captación de ^{59}Fe de los eritrocitos a las 48 horas, como el producto de ^{59}Fe eritrocitos por el recambio de hierro plasmático (éste fue calculado a partir de los datos obtenidos en los animales sangrados a las tres horas).

2. El recambio de hierro no-eritropoyético, se calculó como la diferencia entre el recambio de hierro plasmático y la captación de hierro por el tejido eritroide.

* Trabajo subvencionado en parte por la Comisión de Energía Atómica de U.S.A. Grant NYO-AT (30-1)-2488-12.

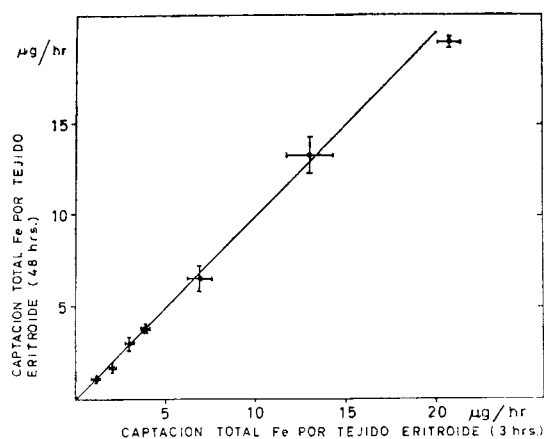


Fig. 1: Relación entre la captación total de hierro por tejido eritroide, calculado como producto del recambio plasmático y ^{59}Fe en los eritrocitos a las 48 horas en un grupo de ratas y la captación calculada a partir de la prueba de distribución de ^{59}Fe a las tres horas de inyectar el trazador en otro grupo (3). La línea es la teórica que corresponde a la igualdad entre las dos captaciones. Las líneas horizontales y verticales que se interceptan en los puntos, representan más y menos un error típico.

RESULTADOS

La Fig. 1 muestra la correlación entre la captación total por el tejido eritroide, calculada a partir de la captación de ^{59}Fe por los eritrocitos a las 48 horas y la observada en la prueba de tres horas. La línea representa la igualdad teórica entre los dos cálculos. Los puntos con sus errores tipo, representan los datos obtenidos. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de los dos métodos para calcular la captación de hierro.

La Fig. 2 muestra los efectos de la irradiación sobre la captación total de hierro por el tejido eritroide, en: (a) ratas pretratadas con fenilhidracina previamente a la irradiación y (b) ratas no pretratadas con fenilhidracina. La captación se expresa como porcentaje de la captación total del correspondiente grupo no irradiado. La curva a) está claramente desplazada a la derecha de la curva b). Esta última presenta escaso "hombro" (1) y la captación medular no sobrepasa el nivel de preirradiación como sucede en a).

La captación de hierro por el tejido eritroide se puede dividir en tres partes: una primera parte que es captada por los eritrocitos en circulación, una segunda parte que es captada por elementos in-

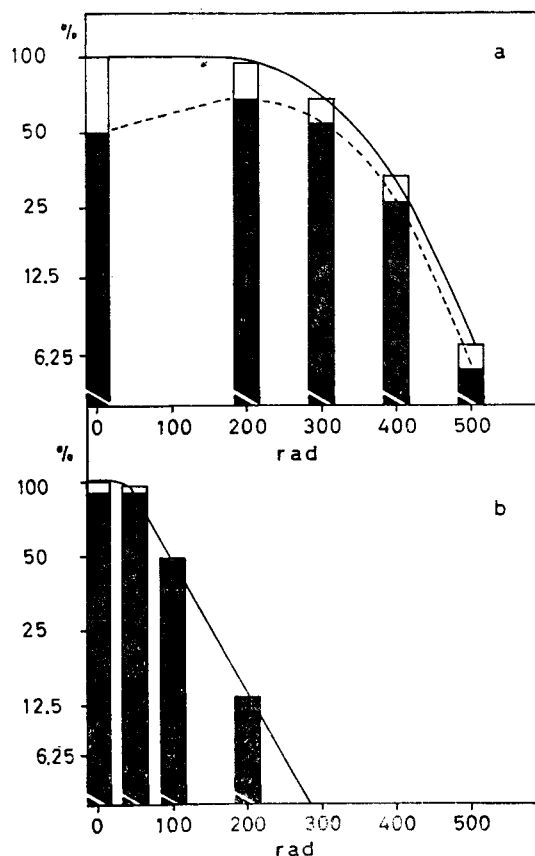


Fig. 2: Ordenada: captación total de Fe por tejido eritroide (altura de la barra) de animales irradiados expresada como porcentaje de la captación en animales no irradiados. La parte negra de las barras corresponde a la suma de la captación por médula y bazo. La blanca, a la captación, medida a las 3 horas, de los eritrocitos circulantes. Abscisa: dosis irradiación en rad. La Fig. 2 a corresponde a animales irradiados al día siguiente de recibir la última de 5 inyecciones de fenilhidracina. La Fig. 2 b a animales normales irradiados. El ^{59}Fe se inyectó dos días después de la irradiación.

tramedulares, que aparecerán como glóbulos rojos circulantes, entre 3 y 24 horas, y una tercera que está tomada por elementos más inmaduros que aparecerán como eritrocitos entre las 24 y 48 horas (Fig. 3). En una rata normal los eritrocitos circulantes captan menos de 10% del total del hierro y los otros dos componentes captan alrededor de 40% cada uno. Bajo los efectos del tratamiento con fenilhidracina se produce un marcado desplazamiento de la captación hacia los glóbulos rojos (reticulocitos) circulantes que toman un 50% y el resto lo toma el 2º contingente medular, con casi

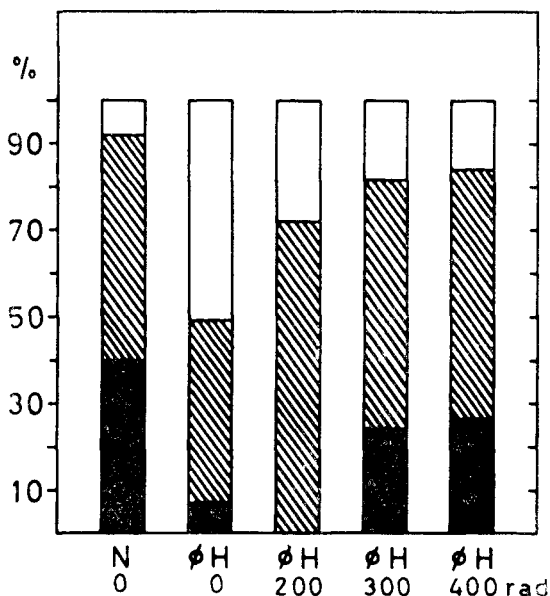


Fig. 3: Distribución de la captación de ⁵⁹Fe entre: eritrocitos circulantes (Rectángulo blanco); ⁵⁹Fe de eritrocitos que aparece en circulación entre 3 y 24 horas después (achurado) y entre 24 y 48 horas (negro) de inyectar el trazador. N = Normal. ϕH = Animales tratados con 5 inyecciones de fenilhidracina.

desaparición de la captación por el tercer componente. Bajo los efectos de 200 rad y se reduce la captación por los eritrocitos circulantes y aumenta la captación por el segundo componente medular (Fig. 3), con mayores dosis de irradiación, la distribución entre los tres componentes tiende a un patrón más cercano al normal.

La Fig. 4 muestra las variaciones de la ferremia cuando se reduce la captación de hierro por el tejido eritroide a causa de la irradiación. Mientras mayor es la eritropoyesis en el momento de la irradiación, menor es el aumento de la ferremia, para un mismo decremento de la captación de hierro por el tejido eritroide.

En la Fig. 5 se observa que cuando aumenta la ferremia como consecuencia de la depresión de la eritropoyesis por irradiación, aumenta el recambio de hierro no-eritropoyético, para llegar a un valor máximo y luego caer. Si se observa sólo la curva de captación de Fe por el hígado, se ve que ésta no sufre caída.

DISCUSIÓN

Los resultados experimentales expuestos indican que la mayor captación por el

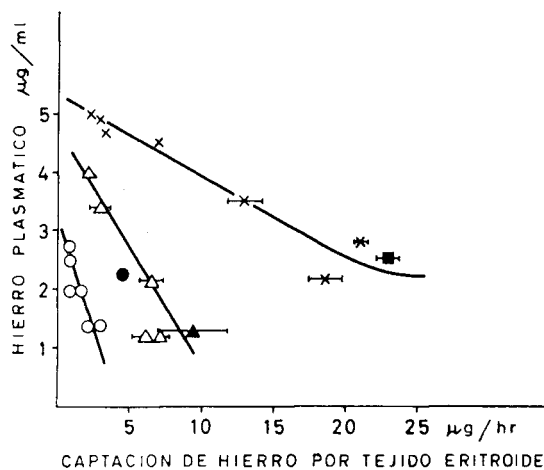


Fig. 4: Relación entre captación total de ⁵⁹Fe por el tejido eritroide y ferremia. ■ Animales tratados con fenilhidracina. x—x Animales tratados con fenilhidracina y luego irradiados. |—| Error típico de la captación (cuando no se indica cae dentro del símbolo). La medida de la captación se practicó 2 días después de la irradiación. La ferremia se midió en mezcla de plasma de todos los animales de un grupo. ▲ Animales esplenectomizados 10 días antes de iniciar el tratamiento con fenilhidracina. Δ Animales esplenectomizados tratados con fenilhidracina y luego irradiados. ● Animales normales. O Animales normales irradiados.

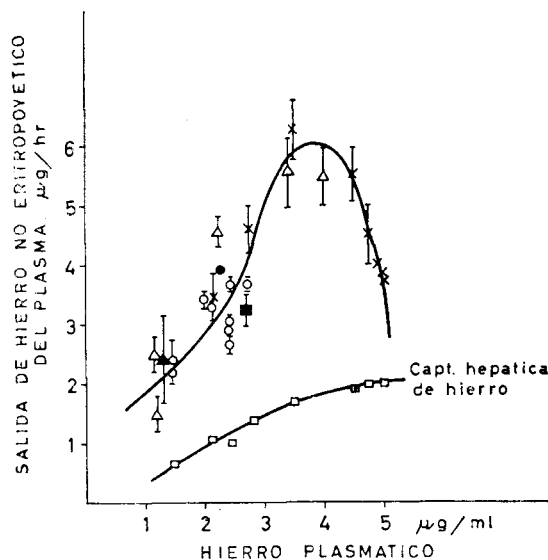


Fig. 5: Relación entre concentración de hierro plasmático y captación de hierro por tejido no eritroide. □ Captación por hígado. Resto de los símbolos iguales a los de la Fig. 4.

tejido medular en la rata irradiada pretratada con fenilhidracina (1) no es consecuencia de una eritropoyesis inefectiva. Esta mayor captación refleja un aumento de la captación de Fe por el tejido medular, a expensas de una reducción de la captación por la sangre circulante. En los animales cuya eritropoyesis ha aumentado a consecuencia de la anemia hemolítica por fenilhidracina, el aumento de la velocidad de maduración (4) de la serie roja se caracteriza porque alrededor de 50% de la captación de Fe se realiza en los reticulocitos en circulación y el 50% restante en células que entrarán en circulación dentro de las 24 horas. El componente más sensible a la irradiación es la entrega de reticulocitos a la circulación. En condiciones normales se reduce a un 37% con dosis de sólo 25 rad (1). En los animales irradiados en fase de eritropoyesis máxima, se reduce con una dosis de 200 rad, que no produce disminución en la población eritroide total; ésto trae como consecuencia un aumento de la población eritroide intramedular, por encima de la de los testigos no irradiados. Una interpretación posible de estos resultados se puede basar en la hipótesis de la "presión de población intramedular" (5). Las paredes de la cavidad ocupada por la médula ósea son rígidas. Cuando aumenta la proliferación celular, la única posibilidad de crecer que tiene el tejido, una vez reemplazadas las células adiposas, es la emigración de células. En la anemia hemolítica por fenilhidracina ésto se manifiesta por aumento de la población leucocitaria (6) y por la aparición en la circulación de elementos eritroides jóvenes con gran capacidad de síntesis de Hb. Cuando el estímulo (anemia) a la proliferación celular desaparece, estas células permanecen en la médula ósea y se nota una disminución súbita de ellas en la sangre y un aumento en la médula (1). Lo mismo ocurre con la irradiación: al crear ésta un "hueco" en la médula no emigran los reticulocitos inmaduros; permanecen en la médula y, en consecuencia, aumentan la captación de hierro por este tejido. Debe recordarse que estos elementos son radioresistentes. Otra manifestación de la emigración celular en la anemia hemolítica es el aumento notable de células "troncales" en la sangre y su "anidamiento"

en el bazo con aumento de la eritropoyesis esplénica (6).

Es un hecho conocido que aumenta la ferremia cuando se deprime la eritropoyesis (7). Lo que se demuestra en el presente trabajo es que el valor de la ferremia por sí sola no es un buen índice del estado de la eritropoyesis, pues mientras menor es la eritropoyesis en el momento que se inicia la depresión, en este caso por irradiación, más rápidamente sube la ferremia. Así se puede tener, para un mismo valor alto de ferremia, valores muy dispares de eritropoyesis.

Se sabe que los mecanismos bioquímicos de captación de hierro por la célula no son sensibles a irradiaciones de hasta 5000 rad (8); por eso no es de extrañar que cuando aumenta la ferremia aumenta la captación de hierro por los tejidos no eritropoyéticos, formados principalmente por el hígado y el epitelio intestinal. Las células hepáticas son las más resistentes de las dos poblaciones y su número no cae después de las dosis de irradiación usadas, no así las del intestino que siguen a la médula en radiosensibilidad (9). La caída de la captación por los tejidos no eritropoyéticos, con dosis de irradiación más altas, reflejaría probablemente la disminución del número de células intestinales.

La concentración de hierro en que ocurre la captación máxima de Fe por el hígado, 4 a 5 $\mu\text{g/ml}$ es bastante mayor que la del tejido medular 2 μg (10). Ésto y la mayor captación por los tejidos no eritropoyéticos cuando aumenta la ferremia (Fig. 5) podrían interpretarse como mecanismos de defensa a la sobrecarga de hierro plasmático cuando falla el tejido eritropoyético.

SUMMARY

The increase in iron uptake by femur over that of non irradiated controls observed in rats irradiated 200 rad, after a course of phenylhydrazine treatment (1), was shown to represent a shift in iron uptake from the peripheral blood to the marrow (Fig. 2, 3). This shift is discussed in relation to marrow population pressure. Ineffective erythropoiesis (2)

was not involved. A one to one relation was found between: a) iron uptake by erythroid tissue calculated as the product of plasma iron turnover and the fraction of ^{59}Fe in RBC at 48 hours and b) iron uptake calculated from the 3 hours ^{59}Fe distribution assay (Fig. 1).

Plasma iron concentration increased as iron uptake by erythroid tissue decreased as a consequence of irradiation (Fig. 4). The slope of the line relating these two variables was smaller the higher the initial iron uptake.

Iron uptake by liver increased as function of plasma iron concentration to stabilize at maximum value at about 4 to 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The uptake of other non erythroid tissue, presumably intestine, rose at first, but then dropped dramatically, possibly as a consequence of cell death due to irradiation (Fig. 5).

REFERENCIAS

- 1.—ESKUCHE, I. y HODGSON, G. — En Proc. V Interamerican Symposium on Peaceful uses of Nuclear Energy. Pan American Union, Washington, D.C., 1965, pag. 163.
- 2.—FINCH, C. A. — Ann. New York Acad. Sc., 77:410, 1959.
- 3.—HODGSON, G. y ESKUCHE, I. — Arch. Biol. Med. Exper., 3:85, 1966.
- 4.—FINCH, C. A., HANSON, M. y DONOHUE, D. — Am. J. Physiol. 97:761, 1959.
- 5.—FISCHER, S. — Erythropoiesis. Jacobson and Doyle, Ed. Grune & Stratton, N. Y., 1962, pag. 204.
- 6.—HODGSON, G. — Trabajo en preparación.
- 7.—MOORE, C. V., DOAN, C. y ARROWSMITH, C. A. — J. Clin. Invest., 16:613, 1937.
- 8.—LAJTHA, L. G. y SUIT, M. D. — Brit. J. Haemat., 1:55, 1955.
- 9.—SMITH, L. H. y CONGDON, C. C. — Radiation, Protection and Recovery. Pergamon Press, Oxford, 1960 pag. 242.
- 10.—HODGSON, G., YUDILEVICH, D., ESKUCHE, I. y PERRETTA, M. — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 114:438, 1960.