

Aptitud del complejo Fe/transferrina para transferir Fe a los reticulocitos en la anemia nutricional

J. L. Scaro*, M. C. Buys y L. Guerra

Instituto de Biología de la Altura
Departamento ERITAL (CONICET)
Universidad Nacional de Jujuy
4600 San S. de Jujuy (Argentina)

(Recibido el 25 de septiembre de 1992)

J. L. SCARO, M. C. BUYS and L. GUERRA. *Ability of the Fe/Transferrin Complex to Transfer Fe to the Reticulocytes in Nutritional Anemia*. Rev. esp. Fisiol., 49 (2), 125-130, 1993.

Using an *in vitro* technique the ability of the Fe/Transferrin complex in the serum of calories and proteins in chronically deprived adult males was investigated. The study included the behavior of the same function in the sera of other types of anemias. A significant reduction of the Fe donating capacity was found in the sera of patients suffering from nutritional anemia (NA), whereas this change was absent in the sera of other type of anemias. A deterioration of the iron donating function of the Fe/Transferrin complex caused by malnutrition, is postulated. The participation of this alteration in the production of NA is considered.

Key words: Iron, Transferrin, Anemia, Malnutrition.

Estudios previos han puesto en evidencia que la anemia que se presenta en niños afectados de malnutrición calórico-proteica crónica (MCPC) se relaciona no solamente con una deficiencia de hierro en el organismo sino también con un aumento de la TIBC y una disminuida capacidad de cesión de hierro de la transferrina a los eritrocitos (2, 9).

Se presentan resultados de estudios sobre la capacidad de donación de Fe del suero de varones adultos afectados de ane-

mia nutricional y de otros tipos de anemias.

Material y Métodos

Se ha realizado el estudio con personas de una zona geográfica en la cual la malnutrición es una condición endémica, habiéndose seleccionado sujetos en los que tal carencia se evidenciaba por la convergencia de varios indicadores (2, 4, 5, 7). Las muestras de sangre se obtuvieron en sujetos en ayuno, por punción de la vena cubital, con material libre de hierro. Una

* A quien debe dirigirse toda la correspondencia (Tel.: 1-54-0882-27244. Fax 28061).

vez separados los sueros se congelaron hasta su uso. Como valor control se utilizó el suero de sujetos normales (SN).

Para evaluar la donación de Fe de los sueros en estudio se recurrió a un método de incubación ya descrito (8, 10). Después de inactivados a 56 °C, los sueros fueron marcados con Fe⁵⁹. Para modificar el nivel de saturación de la transferrina se agregó Fe⁵⁶ a algunos sueros de MCPC. En todos los casos, el Fe agregado se unió a la transferrina utilizando la técnica de CAVIL (3). Como captadores de hierro se utilizaron eritrocitos de ratones normales, lavados dos veces con solución salina equilibrada (1) de la siguiente composición (g/100 ml): NaCl, 0,8; KCl, 0,075; CaCl₂, 0,037; MgCl₂ · 6H₂O, 0,031; KHPO₄ · 2H₂O, 0,006; NaHPO₄ · 2H₂O, 0,006 y glucosa, 1.

La incubación se llevó a cabo en tubos de hemólisis en los que se colocaron 100 µl de eritrocitos lavados y 100 µl del suero problema. La fase gaseosa en el tubo fue aire con 3 % de CO₂. Una vez suspendidas las células, los tubos se incubaron durante 90 min a 36 °C en un baño de agua con agitación suave, procesándose cada muestra por duplicado. A continuación se midió el pH de la mezcla, descartándose las muestras con pH no comprendido entre 7,30 y 7,40 (5 % del total). La radiactividad medida en el tubo se consideró como 100 % del trazador unido a la transferrina en cada suero. A continuación, las células se lavaron dos veces con solución NKM y la radiactividad remanente se calculó como porcentaje de la original. Utilizándose este valor porcentual y el de la ferremia del suero se calculó el hierro disponible al comienzo de la incubación en cada tubo, así como la cantidad incorporada por las células, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$(0,005 \times \text{Ferremia} + 0,125) \times \text{Incorporación de Fe}^{59} = \text{ng}$$

En algunos casos se procedió a extraer la fracción hemo desde el hemolizado de

las células (6) y la radiactividad recuperada en la misma se expresó en % de la original.

En un grupo de sueros de MCPC, con capacidad de donación significativamente menor que la del SN, se agregó una cantidad adecuada de Fe⁵⁶ para elevar la saturación de la transferrina al nivel de la del SN antes de efectuar el marcaje con Fe⁵⁹.

En otros casos, al término de la incubación se procedió a hemolizar los eritrocitos por congelación y descongelación rápida. La mezcla de suero y hemoglobina obtenida se centrifugó y luego se sometió a electroforesis con un tampón de fosfatos de pH 6,6, intermedio a los puntos isoelectricos de la Hb y de la transferrina, de tal manera que la separación de ambas se efectuó por migración en sentido opuesto.

Otros sueros se incubaron con eritrocitos con demandas crecientes de hierro, obtenidos por mezcla de células de ratones normales con cantidades adecuadas de eritrocitos de animales cuya eritropoyesis había sido fuertemente estimulada por una sangría efectuada cuatro días antes. Para reducir la demanda de los eritrocitos de dadores normales, se mezclaron con los de dadores policitémicos, por transfusión efectuada cinco días antes.

En otros experimentos se incubó una mezcla, en volúmenes iguales, de suero de MCPC con SN. En algunos casos, la fracción marcada fue la del SN y, en otros, el suero de MCPC. El valor del hierro sérico se determinó por el método de SCHADE *et al.* (12) y la TIBC por sobresaturación y precipitación con CO₃Mg y por inmunodifusión (11).

Resultados

En la figura 1 se muestran las cantidades de Fe, expresadas en % del valor normal, transferidas desde sueros de sujetos afectados de MCPC, anemia hemorrágica crónica, anemia hemolítica y anemia arregenerativa. Sólo en los sueros de anemias de la MCPC se evidencia claramente una me-

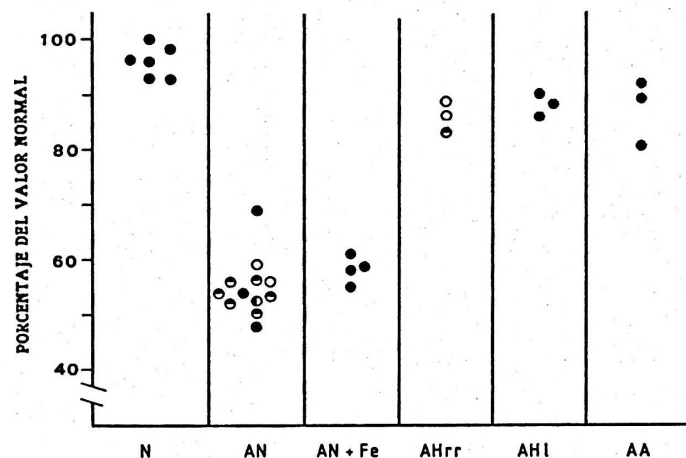


Fig. 1. Donación de hierro desde el complejo Fe/Transferrina a los reticulocitos.

Sueros: N = normal. AN = anemia nutricional. AN + Fe = anemia nutricional con ferremia ajustada a los valores del suero normal; AHrr = anemia por hemorragia crónica; AHI = anemia hemolítica; AA = anemia arregenerativa. Los círculos llenos indican valores de hierro sérico por encima de 100 µg/dl; los círculos con una mitad llena, ferremia entre 100 y 50 µg/dl y los blancos, ferremia por debajo de 50 µg/dl.

nor cesión del metal a las células. En este mismo sentido tras lisis celular y separación por electroforesis de hemoglobina y transferencia sanguínea, se observa menor cantidad de Fe unida a la hemoglobina y mayor a la transferrina en la sangre de individuos MCPC que en los SN (datos no mostrados).

Los resultados con sueros de MCPC, antes y después de haberse normalizado

las ferremias, indican que las cantidades de Fe cedidas después de la normalización de dicho parámetro siguen siendo bajas e inferiores a las normales (tabla I). En la tabla II se muestra la donación de Fe desde sueros de MCPC y de SN incubados con células con amplia gama de valores de la demanda de Fe. Puede observarse que la donación aumenta al aumentar la demanda en ambos sueros, aunque en los de MCPC

Tabla I. Transferencia de Fe desde el suero normal y MCPC a los reticulocitos

Entre paréntesis número de sueros utilizados en este experimento. Significación estadística: * $p < 0,005$, respecto del suero normal; NS no significativo, respecto del suero MCPC. ^a Suero de MCPC con ferremia ajustada a la del suero normal.

Suero	Ferremia (mg/100 dl)	Fe donados (ng)
Normal	103-135 (4)	18,2
MCPC	45-55 (9)	9,4*
MCPC + Fe ^{56a}	98-123 (4)	9,9*NS

Tabla II. Transferencia de hierro (%) desde suero normal y de MCPC a células con demandas crecientes de hierro por aumento progresivo de reticulocitos

Suero normal	Suero de MCPC
4,3	1,8
28,2	16,8
61,0	35,3
92,5	65,0
>100,0	78,1
	91,1
	>100,0

Tabla III. *Transferencia de Fe⁵⁹ (%) a las células desde el SN y de MCPC solos o de mezclas de ambos.*

Entre paréntesis se indica el número de suero en cada grupo.

Suero	Fe ⁵⁹ incorporado	P
Normal (4)	24,2	
MCPC (7)	16,2	<0,002 ^a
Normal* + MCPC (7)	35,3	<0,01 ^b
Normal + MCPC* (5)	8,8	<0,01 ^c

* Suero portador de la marcación radiactiva. ^a Respecto del suero normal. ^b respecto del suero normal solo. ^c Respecto del suero de MCP solo.

el incremento se mantiene siempre por debajo del de los SN. Cuando la demanda era baja, el remanente no utilizado de Fe en los sueros, era superior al 90 % del total contenido en el medio, y cuando la demanda se eleva suficientemente, todo el Fe de ambos sueros puede ser transferido a las células, aunque en SN se lleva a cabo con demandas significativamente inferiores.

La tabla III muestra los resultados de experimentos en los que se utilizaron mezclas de sueros SN y de MCPC, comprobándose que, cuando el marcaje se había efectuado sobre los SN, se producía un aumento en la transferencia de Fe⁵⁹ a las células en comparación con la correspondiente a SN, y que ocurría lo contrario cuando el marcaje correspondía a los sueros de MCPC.

Discusión

Con excepción de la anemia por malnutrición, en ninguna de las otras aquí estudiadas se observó disminución de la aptitud del suero para la donación de hierro, a pesar de la diversidad de valores de hierro sérico. Los presentes resultados muestran que los sueros de sujetos afectados de MCPC tienen una menor capacidad del

complejo Fe/transferrina para ceder el metal, hecho que se asocia a valores bajos de hierro sérico. Esto lleva a considerar la posibilidad de que la diferencia encontrada sea causada solamente por una insuficiente oferta de hierro en estos sueros, sin que se encuentre involucrada una reducción de la capacidad de la transferrina para ceder el metal.

Esta hipótesis, sin embargo, no es compatible con los presentes resultados. El hierro disponible no es sólo el que aporta el suero de la MCPC sino que debe agregar la cantidad contenida en la solución marcadora compuesta por una mezcla de Fe⁵⁶ y Fe⁵⁹. Este aporte lleva la cantidad de hierro disponible en los sueros de MCPC a valores cercanos a los que aportaría un suero con ferremia de alrededor de 50 µg por dl, cantidad superior a la demanda celular estimada por la cantidad transferida a las células desde el suero normal.

La diferente donación férrica persiste al modificar los niveles de demanda y si se incrementa, se consigue transferir el 100 % del hierro contenido en el suero, aunque se requieren mayores demandas para lograr la donación total en el caso de los sueros MCPC.

Cuando la demanda se redujo a niveles muy bajos, el remanente de Fe sérico no utilizado llegó hasta el 95 % del hierro disponible en ambos tipos de sueros, pero en igualdad de condiciones, y a pesar de que la oferta estaba muy por encima de la demanda, las células tomaban desde los sueros de la MCPC una cantidad inferior a la cedida por los sueros SN.

No parece, por tanto, que la reducción observada en la cantidad absoluta de Fe transferida pueda relacionarse con la baja ferremia de los sueros de MCPC, ya que quedaría sin explicar por qué las células no utilizan todo el hierro disponible en el medio, lo que implicaría la transferencia de la totalidad de la fracción marcadora.

Los resultados de los experimentos en que se incubaban reticulocitos en propor-

ciones variables de sueros SN y MCPC, pero cuya ferremia conjunta era la normal, confirman lo anteriormente expuesto.

Se observa claramente asimetría en la entrega de Fe desde una u otra fracción de la mezcla, con aumento de la transferencia de Fe⁵⁹, cuando procedía de la fracción SN y menor capacidad de donación de Fe⁵⁹ incorporado a la fracción de suero MCPC.

Estos resultados indican que, a la reducción cuantitativa del Fe en el organismo, en la MCPC se asocia una disminuida cesión plasmática del metal, lo que se sumaría a la deficiencia de Fe como causa de la anemia nutricional. Además, permiten comprender mejor la ineficacia que en gran número de casos tiene la ferroterapia, para corregir defectos de los valores hemáticos.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por un subsidio del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina. Agradecemos a la Srta. Isabel Zingariello su excelente asistencia técnica.

Resumen

Utilizando un método *in vitro* se estima en el suero de varones adultos afectados de malnutrición crónica la capacidad para donar hierro del complejo Fe/transferrina. Paralelamente se estudia en el suero de pacientes con anemias hemolítica, hemorrágica y crónica y arregenerativa. Se comprueba una disminución de dicha capacidad sólo en el suero de sujetos con

malnutrición. Se postula, como interpretación para la mencionada reducción, un efecto ocasionado por la carencia nutricional sobre las funciones de la transferrina como portadora del hierro para la eritropoyesis.

Palabras clave: Hierro, Transferrina, Anemia, Malnutrición.

Bibliografía

1. Borsook H., Lingrel, R., Scaro, J. L. y Millete, R.: *Nature*, 196, 347-350; 1962.
2. Buys de Jorge, M. C., Contrini, M. A., Miranda, C., Carrera, M. A., Torrejon, I., Martin, B. y Scaro, J. L.: *Sangre*, 33, 97-101, 1988.
3. Cavil, I.: *J. Clin. Pathol.*, 24, 472-477, 1971.
4. Cook, J. D., Alvarado, A., Gutnizky, A., Jaurra, M., Labardini, J., Layrisse, M., Linares, J., Loria, A., Marquez, V., Restrepo, R., Reynafarge, C., Sánchez Medal, L., Velez, H. y Viterin, F.: *Blood*, 36, 391-397, 1971.
5. Cook, J. D., Finch, C. A. y Smith, N. J.: *Blood*, 48, 449-453, 1976.
6. Kassenaar, A., Morell, H. y London, I. M.: *J. Biol. Chem.*, 229, 423-429, 1957.
7. Koerper, M. A., Dallman, R.: *J. Pediat.*, 91, 670-675, 1977.
8. O'Brien, R. T., Pearson, H. A.: *J. Pediat.*, 79, 132-136, 1971.
9. Scaro, J. L., Miranda, C., Carrera, M. A., Torrejon, I. y Martin, B.: *Medicina* (Buenos Aires), 44, 458-462, 1987.
10. Scaro, J. L., Martin, B. y Torrejon, I.: *Sangre*, 29, 287-293, 1984.
11. Scaro, J. L., Carrera, M. A., Miranda, C., Martin, B. y Torrejon, I.: *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoamer.*, 35, 129-134, 1985.
12. Schade, A. L., Oyama, J., Reinhart, R. W. y Miller, J. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 87, 443-447, 1954.

