

## Efecto de la anemia o de la poliglobulia aguda sobre el flujo sanguíneo y el aporte de hierro a la médula ósea

A. Celada \*

Division of Hematology  
Department of Medicine  
University of Washington, Seattle

(Recibido el 23 de abril de 1985)

A. CELADA. *Effect of Acute Anemia or Polycythemia on Blood Flow and Iron Supply to the Bone Marrow*. Rev. esp. Fisiol., 42, 77-84. 1986.

Iron has been shown to be the limiting factor for erythropoiesis. The anemia and polycythemia effect on iron supplied to the bone marrow has been studied in a group of rabbits, by modifying the hematocrit without altering of the blood volume. The cardiac output and the percentage of blood flow to the skeleton was measured using  $^{57}\text{Co}$  and  $^{113}\text{Sn}$  radiolabelled microspheres, before and after the exchange of blood by plasma or red blood cells concentrates. In addition, ferrokinetic measurements were performed with  $^{55}\text{Fe}$  and  $^{59}\text{Fe}$ . The production of an acute anemia induced an increase in the cardiac output from  $156 \pm 35$  to  $239 \pm 89$  ml/min/kg and a decrease in the percentage of the total blood flow to the skeleton from  $7.58 \pm 2.51$  to  $4.63 \pm 1.8$ . The production of an acute polycythemia induced a decrease in the cardiac output ( $97 \pm 28$  ml/min/kg) and an increase in the percentage of the total blood flow to the bone marrow ( $11.69 \pm 4.03$ ). However, in both cases, the absolute amount of blood flow and iron flow to the bone marrow were similar to the controls. These studies demonstrate that anemia or polycythemia *per se* do not determine the iron supply to the bone marrow.

**Key words:** Anemia, Blood flow, Bone marrow, Iron metabolism, Polycythemia.

La cantidad de hierro circulante depende de la que se libera al plasma a través de los parénquimas y del sistema reticuloendotelial (8). La transferrina tiene un papel pasivo como proteína transportadora de hierro desde los depó-

sitos o mucosa intestinal a la médula ósea. Dependiendo del índice de saturación de la transferrina, los precursores de los hematíes son capaces de incrementar la captación de hierro (14, 15). Esto se debe, probablemente, a una mayor afinidad de la transferrina diférrica en relación con la monoférrica por el receptor de la membrana de la célula.

La cantidad de hierro que recibe la médula ósea es el factor limitante de la eritropoyesis (9, 13, 16, 18). En anemias

\* Dirección actual: La Jolla Cancer Research Foundation, 10901 North Torrey Pines Road, La Jolla, 92037 California, USA.

en las que aumenta la eritropoyesis, como las hemolíticas o tras sangría, el flujo sanguíneo de la médula ósea aumenta, probablemente, con el fin de incrementar el aporte de hierro (5, 19, 21). Se ha pensado que esto es debido a la acción de la eritropoyetina (7, 10); sin embargo, no se ha evaluado el efecto de la anemia por sí misma independiente de las alteraciones de la volemia. El objeto del presente trabajo es el estudio de las modificaciones agudas del hematocrito (anemia y poliglobulia) sin alteraciones de la volemia, sobre el flujo sanguíneo y el aporte de hierro a la médula ósea.

### Material y Métodos

Se utilizaron conejos de raza de Nueva Zelanda de 2,8 y 3,2 kg, alimentados con una dieta de Purina.

La medida del flujo sanguíneo se llevó a cabo con microesferas radiomarcadas con  $\text{Co}^{57}$  y  $\text{Sn}^{113}$ , de unas 15  $\mu\text{m}$  aproximadamente (New England, Boston, MA, USA), tamaño que no puede atravesar las anastomosis arterio-venosas en los huesos del conejo (11). En cada experimento se inyectaron entre 4 y 8 millones de microesferas.

Los animales se anestesiaron con pentobarbital y bajo respiración asistida, se penetró en la cavidad pulmonar a través del tercer espacio intercostal y se instaló un catéter de polivinilo en la aurícula izquierda siguiendo la técnica de WARREN y LEDINGHAM (25). El catéter se suturó bajo la piel de la parte posterior del cuello y la cavidad pulmonar fue cerrada. Los animales se recuperaron en cuatro semanas durante las cuales el catéter se limpió diariamente con una solución salina conteniendo heparina.

El día del experimento los animales fueron inmovilizados en una jaula especial. En la arteria central de la oreja se introdujo un catéter de 2-3 cm y el terminal subcutáneo del catéter instalado

en la aurícula izquierda se extrajo de la piel. Las microesferas previamente pesadas fueron inyectadas en 30 s a través del catéter en la aurícula izquierda. Treinta segundos antes de la inyección y durante dos minutos se obtuvo sangre arterial a través del catéter de la oreja mediante una bomba a una velocidad de 3,5 ml/minuto. Con la radiactividad de esta muestra y la del material inyectado se calculó el gasto cardiaco según ARCHIE *et al.* (1).

Al acabar la ferrocínética, el animal fue sacrificado mediante intercambio de sangre por solución salina en volúmenes de 50 ml a través de la aorta abdominal. Tras retirar la piel y vísceras, el resto del animal se puso en un autoclave durante 18 h a 130 °C y a una presión de 1,4 kg/m<sup>2</sup>. Inmediatamente después, se separaron los huesos del esqueleto y se limpiaron de los tejidos.

El flujo sanguíneo total que va a la médula ósea (Fsm) se obtuvo con las fórmulas siguientes  $\text{Fsm (\% del total)} = \text{Actividad total del esqueleto} \times 100$  por N.º de cuentas inyectadas.

$\text{Fsm (ml/min/kg)} = \text{Gasto cardiaco (ml/min/kg)} \times \text{Fsm \%}$ .

La medida de la ferrocínética se llevó a cabo según se ha descrito previamente (2, 4). En la vena marginal de la oreja se inyectó una solución de  $\text{Fe}^{55}$  y de  $\text{Fe}^{59}$  y después se obtuvieron 5 o 6 muestras de la arteria central de la oreja. Parte de las muestras de sangre se utilizaron para medir la sideremia. Cuando el 90 % del hierro radiomarcado había desaparecido de la circulación, se sacrificaron los animales. El recambio del hierro plasmático se calculó según CELADA *et al.* (5).

La cantidad de hierro que pasa a través de la médula ósea se calculó según la fórmula siguiente:  $\text{Flujo de Fe en la médula ósea } (\mu\text{g/min/kg}) = \text{Fsm (ml/min/kg)} \times \text{Sideremia } (\mu\text{g/ml})$ .

La cantidad de hierro plasmático captada por la médula ósea (Fe m) se calculó a partir del recambio del hierro plas-

mático y la proporción de hierro radiomarcado inyectado y depositado en la médula ósea (cuando el 90 % había desaparecido de la circulación):

$Fe\ m\ (\text{mg/dl sangre total/día}) = \text{Recambio del Fe plasmático (mg/dl sangre total/día)} \times \text{Radiactividad médula ósea (\%)}$ .

La cantidad de hierro extraída del plasma circulante por la médula ósea se calculó a partir de la fórmula siguiente: Extracción (%) =  $Fe\ m\ (\mu\text{g/min/kg}) \times 100 / \text{Flujo de Fe a través de la médula ósea } (\mu\text{g/min/kg})$ .

El  $Fe^{59}$ ,  $Co^{57}$  y  $Sn^{113}$  en la sangre y los tejidos se midieron directamente mediante un contador gamma. Las muestras de plasma conteniendo  $Fe^{55}$  y/o  $Fe^{59}$  se prepararon añadiendo 0,25 ml de plasma a 0,5 ml de ácido perclórico 0,1 N y centrifugándose a continuación. Del sobrenadante se añadieron 500  $\mu\text{l}$  a 10 ml de Aquasol (New England Nuclear). Las muestras se contaron en un espectrofotómetro de escintilación Tricarb (Packard, modelo 2405). Los tejidos o glóbulos rojos conteniendo  $Fe^{55}$  y/o  $Fe^{59}$  fueron solubilizados según el método de EAKINS y BROWN (6). Se hicieron correcciones para la radiactividad cruzada entre los distintos isótopos y para la geometría de distribución.

La sideremia y la capacidad total de fijación del hierro en el plasma se determinaron según procedimientos detallados previamente (3). El hematocrito se determinó mediante una microtécnica.

Los cálculos estadísticos se llevaron a cabo mediante métodos no paramétricos: Wilcoxon para valores emparejados (23).

## Resultados

La distribución de hierro radiomarcado y de microesferas se estudió en el fémur de cinco conejos. Los animales fueron inyectados con  $Fe^{59}$  y microesferas y se sacrificaron cuando el 90 % del hierro radiactivo había desaparecido de

la circulación. En la cortical se encontró menos del 1 % del hierro radiactivo y, aproximadamente, el 15 % de las microesferas. De estos cálculos se dedujo que prácticamente todo el hierro radiactivo era retenido por la médula ósea, pero que el 15 % del flujo sanguíneo correspondía a la cortical del hueso. Por esta razón, en los cálculos del flujo de la médula ósea total, se incluyó un factor de corrección de 0,85.

Para evaluar si la distribución del  $Fe^{59}$  y de las microesferas era homogénea, se comparó la radiactividad de los huesos de la parte derecha de ocho animales con sus homólogos de la parte izquierda. En ambos casos se obtuvo una correlación altamente significativa ( $r = 0,98$  y  $0,97$ ;  $p < 0,001$  respectivamente).

Para estudiar la eficacia de la perfusión de los animales con solución salina tras el *exitus*, dos grupos de tres conejos fueron inyectados con hematíes marcados *in vivo* con  $Fe^{59}$ . Media hora más tarde se sacrificaron los animales y en uno de los grupos se intercambiaron volúmenes de 50 ml de solución salina por sangre. Mediante esta técnica, el  $0,3 \pm 0,1$  % de los hematíes radiomarcados se encontraron en el esqueleto, mientras que en los controles en los que no se realizó el intercambio sanguíneo, se halló el  $3,5 \pm 0,4$  %. Utilizando este método se midió la cantidad de hierro radiomarcado que se encuentra en el parénquima, descartando el hierro en forma de transferrina en la sangre circulante o unido a los hematíes.

La tabla I muestra el efecto de los intercambios de sangre total por plasma sobre el volumen total y eritrocitario. Tras el intercambio, se observó una disminución del 48 % del hematocrito y del 50 % del volumen eritrocitario. Sin embargo, el volumen sanguíneo prácticamente no se alteró.

Para conocer los efectos de la anemia o poliglobulia en situación aguda, los animales fueron estudiados en situación

Tabla I. Efecto de los intercambios de sangre total por plasma sobre el volumen sanguíneo (Mean  $\pm$  DS).

Cuatro animales fueron inyectados con hematíes radiomarcados *in vivo* con Fe<sup>55</sup> (5) y albúmina marcada con I<sup>125</sup>. Tras medir el volumen plasmático y el eritrocitario, se intercambiaron sangre total por plasma en volúmenes de 20 ml. Posteriormente se infectaron hematíes marcados con Fe<sup>55</sup> y albúmina con I<sup>125</sup> y se determinaron los volúmenes plasmático y eritrocitario.

	Hematocrito (%)	Volumen eritrocitario (ml/kg)	Volumen sanguíneo (ml/kg)
Antes del intercambio	37,5 $\pm$ 1,3	17,2 $\pm$ 2,3	55,4 $\pm$ 7,5
Después del intercambio	19,5 $\pm$ 1,8	8,3 $\pm$ 1,2	53,5 $\pm$ 4,0
Disminución %	48	50	4

basal y tras el intercambio sanguíneo por plasma o concentrados de hematíes. En situación basal, la ferrocínética se llevó a cabo con Fe<sup>55</sup> y se utilizaron microesferas marcadas con Co<sup>57</sup>. Tras el intercambio sanguíneo, la ferrocínética se determinó con Fe<sup>59</sup> y con microesferas marcadas con Sn<sup>113</sup>.

En un primer grupo de 10 animales se estudió el efecto de la anemia aguda sobre el aporte de hierro a la médula

ósea (tabla II). La disminución del hematocrito produjo un aumento del gasto cardíaco (53 %), de valor similar al de la disminución del porcentaje del flujo sanguíneo en la médula ósea (39 %). La combinación de estos dos factores hace que la cantidad de hierro que llega a la médula ósea sea parecida a la del control.

El efecto de la poliglobulia aguda sobre el aporte de hierro a la médula ósea

Tabla II. Efecto de la anemia aguda por intercambio de sangre total por plasma sobre el aporte de hierro a la médula ósea de conejo.

Un grupo de 10 conejos fue sometido a intercambios de sangre total por plasma para disminuir el hematocrito. En condiciones basales, la ferrocínética se midió con Fe<sup>55</sup> y el gasto cardíaco y flujo sanguíneo en la médula ósea con microesferas marcadas con Co<sup>57</sup>. Tras el intercambio de sangre por plasma, la ferrocínética se estudió con Fe<sup>59</sup> y las microesferas utilizadas estaban marcadas con Sn<sup>113</sup>.

Parámetros	Basal	Anemia aguda
Hematocrito (%)	34,80 $\pm$ 2,60	20,90 $\pm$ 2,90*
Sideremia ( $\mu$ g/dl)	165,00 $\pm$ 74,00	163,00 $\pm$ 56,00
Recambio total de Fe plasmático (mg/dl sangre total/día)	2,16 $\pm$ 0,84	2,20 $\pm$ 0,86
Gasto cardíaco (ml/min/kg)	156,00 $\pm$ 35,00	239,00 $\pm$ 89,00*
Flujo sanguíneo en la médula ósea (% del total) (ml/min/kg)	7,58 $\pm$ 2,51	4,63 $\pm$ 1,80*
Flujo de hierro en la médula ósea ( $\mu$ g/min/kg)	11,80 $\pm$ 2,60	11,10 $\pm$ 3,30
Extracción de Fe por la médula ósea (% del flujo de Fe en la médula ósea)	12,70 $\pm$ 4,90	14,20 $\pm$ 3,80
	5,80 $\pm$ 2,20	6,00 $\pm$ 2,40

\*  $p < 0,001$ . Los demás resultados no son significativos.

Tabla III. Efecto de la poliglobulia aguda por intercambio de sangre por concentrados de hematies sobre el aporte de hierro a la médula ósea del conejo (n = 7).

Parámetros	Basal	Poliglobulia aguda
Hematocrito (%)	35,20 ± 2,10	51,30 ± 3,90*
Sideremia (μg/dl)	166,00 ± 38,00	159,00 ± 34,00
Recambio total de Fe plasmático (mg/dl sangre total/día)	2,20 ± 0,47	2,40 ± 0,51
Gasto cardíaco (ml/min/kg)	162,00 ± 40,00	97,00 ± 28,00*
Flujo sanguíneo en la médula ósea (% del total) (ml/min/kg)	6,68 ± 2,38	11,69 ± 4,03*
	10,80 ± 3,40	11,30 ± 4,80
Flujo de Fe en la médula ósea (μg/min/kg)	11,90 ± 3,20	14,00 ± 4,20
Extracción de Fe por la médula ósea (% del flujo de Fe en la médula ósea)	5,12 ± 1,83	4,89 ± 2,21

\* p < 0,001. Los demás resultados no son significativos.

se estudió en otro grupo de siete conejos (tabla III). El incremento del hematocrito indujo una disminución del gasto cardíaco del 60 % y el porcentaje del flujo sanguíneo en la médula ósea disminuyó, de tal forma que la cantidad absoluta de hierro que llegaba a la médula ósea era igual que en condiciones basales.

Como control se estudiaron siete animales en los que el intercambio sanguíneo se hizo por sangre de otros animales normales. Esta operación no indujo ninguna modificación significativa en los parámetros estudiados, tanto en la ferrocínica como en la hemodinámica.

Por último, se estudió la distribución de la médula eritropoyética en relación con el flujo sanguíneo en los diferentes huesos del esqueleto. En los huesos en los que predominaba la actividad eritropoyética como la pelvis, fémur y húmero, la cantidad de hierro captada en relación al flujo sanguíneo era superior a la de los de poca actividad eritropoyética (tarsos, falanges y cráneo). Las modificaciones del hematocrito no produjeron alteraciones en la distribución del flujo sanguíneo o de la médula eritropoyética.

### Discusión

La medida de la extracción del hierro circulante por la médula ósea se ha llevado a cabo mediante la combinación de dos técnicas: la medida de la cinética del hierro radioisotópico y la medida del flujo sanguíneo del esqueleto mediante el uso de microesferas que quedan atrapadas en las pequeñas arteriolas sin producir alteraciones hemodinámicas (1). La distribución de las microesferas y del hierro radiactivo era simétrica en relación a los dos lados del esqueleto, lo que indica un reparto homogéneo. Cuando se comparó la cortical del hueso con la médula ósea, prácticamente todo el hierro radiactivo se depositó en la médula ósea, como era de esperar.

En las anemias con hiperplasia de la médula eritroide existe un aumento del aporte de hierro a la médula ósea como consecuencia de un incremento del flujo sanguíneo (5, 19, 21). Se ha pensado que las variaciones del hematocrito podrían ser uno de los factores que controlan el flujo sanguíneo. En este trabajo se ha inducido una anemia o poliglobulia en un breve espacio de tiempo, mediante el intercambio de pequeños volú-

menes de sangre total por plasma o concentrados de hematíes, con lo cual no se altera la volemia.

En nuestro estudio, las modificaciones del hematocrito se correspondían con un aumento o disminución del gasto cardíaco. Resultados similares han sido publicados por RICHARDSON y GUYTON (22), utilizando el perro como modelo experimental. Las alteraciones del gasto cardíaco debidas a la anemia/poliglobulia se acompañaban de modificaciones del porcentaje del total del flujo sanguíneo dirigido a la médula ósea, de tal forma, que la cantidad absoluta del flujo sanguíneo era semejante a la de los controles. Dado que los intercambios sanguíneos no alteraban la sideremia o el recambio del hierro plasmático, la cantidad de hierro que llegaba a la médula ósea no estaba modificada. Estos estudios indican que el factor que controla el flujo sanguíneo de la médula ósea es la actividad eritropoyética. La sugerencia de que la eritropoyetina actuaría directamente a nivel vascular aumentando el flujo sanguíneo (7, 10, 19), parece poco probable pues la eritropoyetina, tras la reducción de la masa eritrocitaria tras sangría, aumenta rápidamente (20) sin que se acompañe de un aumento del flujo sanguíneo. Parece más lógico pensar que el efecto de la eritropoyetina se debe al aumento de la eritropoyesis, que a su vez, puede producir una vasodilatación por un incremento de las necesidades metabólicas.

Los datos aquí presentados coinciden con algunos en los que se muestra una disminución del flujo relativo de la médula ósea inmediatamente tras sangrías (12, 17). Sin embargo, SYFTESTAD y BOELKINS (24), han publicado datos contradictorios, aunque no se hizo corrección de la volemia. Puesto que el flujo sanguíneo se encuentra en la médula ósea bajo control neurohormonal (11), ésta pudiera ser la razón de la discrepancia entre los distintos resultados.

Estos resultados y otros precedentes (5) proyectan una nueva panorámica en la fisiopatología de las anemias. Combinando a la vez los datos de hemodinámica con los de ferrocínética se puede comprender cómo se adapta el flujo sanguíneo a las necesidades metabólicas de la médula ósea.

### Resumen

Con el fin de establecer el efecto de la anemia o poliglobulia sobre el aporte de hierro a la médula ósea, se modifica el hematocrito, sin alterar la volemia, utilizando el conejo como modelo experimental. El gasto cardíaco y el porcentaje del flujo total en el esqueleto se miden por microesferas marcadas con  $\text{Co}^{57}$  y con  $\text{Sn}^{113}$ , antes y después del intercambio de sangre total por plasma o concentrados de hematíes. Además, se llevan a cabo dos ferrocínéticas con  $\text{Fe}^{55}$  y  $\text{Fe}^{59}$ . La producción de una anemia aguda induce un aumento del gasto cardíaco (de  $156 \pm 35$  a  $239 \pm 89$  ml/min/kg) y una disminución del porcentaje del total del flujo sanguíneo en la médula ósea (de  $7,58 \pm 2,51$  a  $4,63 \pm 1,8$ ). La poliglobulia produce cambios opuestos a los de la anemia, disminución del gasto cardíaco ( $97 \pm 28$  ml/min/kg) e incremento del porcentaje del flujo sanguíneo del esqueleto ( $11,69 \pm 4,03$ ). Sin embargo, en ambos casos, el flujo sanguíneo absoluto de la médula ósea y el flujo de hierro son similares a los controles. Estos estudios demuestran que la anemia o poliglobulia *per se* no son factores determinantes del flujo sanguíneo en la médula ósea o del aporte de hierro.

### Referencias

1. Archie, J. P., Fixler, D. E., Ulliyot, D. J., Hoffman, J. I. E., Utley, J. R. y Carson, E. C.: *J. Appl. Physiol.*, **35**, 148-154, 1973.
2. Celada, A., Busset, R. y Rudolf, A.: *Acta Haematol.*, **63**, 289-291, 1980.
3. Celada, A., Herreros, V., Pugin, P. y Rudolf, H.: *Br. J. Haematol.*, **43**, 457-463, 1979.
4. Celada, A., Rudolf, H. y Donath, A.: *Blood*, **54**, 906-915, 1979.

5. Celada, A., Stray, S., Sivarajan, M. y Finch, C. A.: *J. Clin. Invest.*, **74**, 161-164, 1984.
6. Eakins, J. D. y Brown, E. A.: *Int. J. Appl. Radiat. Isotopes*, **17**, 391-397, 1966.
7. Feleppa, A. E., Meineke, H. A. y McCuskey, R. S.: *Scand. J. Haematol.*, **8**, 86-91, 1971.
8. Fillet, G., Cook, J. D. y Finch, C. A.: *J. Clin. Invest.*, **53**, 1527-1538, 1974.
9. Finch, S., Haskins, D. y Finch, C. A.: *J. Clin. Invest.*, **9**, 1078-1086, 1950.
10. Fisher, J. W., Lajtha, L. G., Buttoo, A. S. y Porteous, D. D.: *Br. J. Haematol.*, **11**, 342-349, 1965.
11. Gross, P. M., Heistad, D. D. y Marcus, M. L.: *Am. J. Physiol.*, **237**, H440-H448, 1979.
12. Herzig, E. y Root, W. S.: *Am. J. Physiol.*, **196**, 1053-1056, 1959.
13. Hillman, R. S. y Henderson, P. A.: *J. Clin. Invest.*, **48**, 454-460, 1969.
14. Huebers, H., Uvelli, D., Celada, A., Josephson, B. y Finch, C. A.: *J. Clin. Invest.*, **70**, 769-779, 1982.
15. Huebers, H., Celada, A. y Finch, C. A.: En «The Biochemistry and Physiology of Iron» (Saltman, P. y Hegener, J., eds.), Elsevier-North Holland, Nueva York, 1982, pp. 127-131.
16. Jacobs, P. y Finch, C. A.: *Blood*, **37**, 220-230, 1971.
17. Kita, K., Witoszka, M. W., Hopkins, R. W. y Simeone, F. A.: *Am. J. Surg.*, **123**, 380-384, 1972.
18. Langer, E. E., Haining, R. G., Labbe, R. F., Jacobs, P., Crosby, E. F. y Finch, C. A.: *Blood*, **40**, 112-128, 1972.
19. McClugage, S. G., McCuskey, R. S. y Meineke, H. A.: *Blood*, **38**, 96-107, 1971.
20. Miller, E. M., Cronkite, E. P. y García, J. F.: *Br. J. Haematol.*, **52**, 545-549, 1982.
21. Nichelsen, K.: *Acta Physiol. Scand.*, **77**, 52-57, 1969.
22. Richardson, R. Q. y Guyton, A. C.: *Am. J. Physiol.*, **197**, 1167-1170, 1959.
23. Snedecor, G. W. y Cochran, W. G.: «Statistical methods», Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1967.
24. Syftestad, G. T. y Boelkins, J. N.: *Am. J. Physiol.*, **238**, H360-H364, 1980.
25. Warren, D. J. y Ledingham, J. G. G.: *Pfluegers Arch.*, **335**, 167-172, 1972.

