

Instituto de Biología de la Altura  
Universidad Nacional de Tucumán  
San Salvador de Jujuy  
(República Argentina)

## Efecto de la esplenectomía sobre la eritropoyesis en el ratón

por

M. C. Aggio \* y N. E. García

(Recibido para publicar el 24 de marzo de 1969)

El bazo de los mamíferos adultos ejerce importantes funciones de regulación sobre la hematopoyesis (17), en especial el sector eritroide (4). No puede decirse, sin embargo, que la producción esplénica de hematíes sea cuantitativamente importante, salvo en condiciones patológicas (5, 8) o experimentales (10, 11), en las cuales cabe esperar también una profunda alteración de la fisiología esplénica.

El ratón constituye una excepción a esta regla, dado que presenta normalmente una bien evidente función eritropoyética a nivel del bazo (13, 15). En el presente trabajo se ha intentado valorar la importancia de la eritroformación esplénica y su relación con la medular.

### Material y métodos

En todas las experiencias se utilizaron ratones albinos hembras vírgenes de peso

\* Dirección actual: Cátedra de Anatomía y Fisiología, Departamento de Química e Ingeniería Química. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, República Argentina.

aproximado 25 g, provenientes del criadero de este Instituto, con comida y agua *ad libitum*. El número de animales utilizado en los diferentes lotes varió entre 5 y 15 individuos. Se descartaron los machos debido a la evidente influencia del stress social sobre el tamaño y función hematopoyética esplénica (1). Las hembras de nuestra cepa, por sus características sociales y las condiciones grupales a que fueron sometidas, se consideraron libres de ese tipo de estímulo.

Se obtuvo sangre periférica del plexo venoso retroorbitario. La concentración de hemoglobina se determinó por el método de la cianmetahemoglobina, con lectura fotocolorimétrica. Los extendidos de sangre y tejido esplénico se tiñeron con May Grünwald-Giemsa, utilizándose la reacción de las peroxidasas de LEPEHNE (16) para poner en evidencia con más claridad los eritroblastos, a veces difíciles de distinguir de los linfocitos pequeños debido a la relativamente tardía hemoglobinización de la serie eritroblástica en los roedores. Los cortes de bazo se colorearon con hematoxilina-eosina.

La hipoxia se obtuvo por medio de una cámara de hipopresión similar en líneas generales a las descritas por otros autores (3, 18).

El estudio de la ferrocinesis se llevó a cabo utilizando el Índice de HODGSON (7), que expresa el porcentaje de hierro dirigido al tejido eritropoyético en la unidad de tiempo. Además de cuantificar la eritropoyesis, el índice proporciona datos sobre el consumo de hierro que efectúa cada uno de los órganos. Se inyectó una dosis de 0,25 microcuries de Fe-59 por vía endovenosa y tres horas después se midió la radioactividad presente en bazo, ambos fémures y una alícuota de plasma y hematíes lavados dos veces en salino. Se utilizó la fórmula:

$$I.H. = \frac{\% \text{ Fe-59 H.} + \% \text{ Fe-59 B.} + \% \text{ Fe-59 F.} \times 7}{100 - \% \text{ Fe-59 Pl.}} \times 1/3 \text{ in.} \frac{\% \text{ Fe-59 Pl.}}{100}$$

Donde: H., hematíes; Pl., plasma; B., bazo, y F., fémures ( $\times 7$ : médula ósea total). La cual se diferencia de la original por la presencia en el numerador de la incorporación esplénica. Se midió además la captación hepática, para detectar una posible localización en este órgano de tejido eritroide, pero la escasa radioactivi-

dad observada tanto en los controles como en los animales esplenectomizados no justificó la inclusión de este valor en el cálculo.

La esplenectomía se practicó por vía abdominal conforme a la técnica descrita para la rata (9). Las curvas de aumento de peso y los índices hematimétricos fueron normales en todos los animales durante todo el desarrollo de las experiencias. La infección bartonellósica, frecuente en los animales esplenectomizados, se descartó por examen de sangre periférica. Todos los animales estudiados fueron necropsiados, comprobándose ausencia de bazos aberrantes, así como de alteraciones viscerales macroscópicas.

## Resultados

VALORACIÓN DE LA ERITROPOYESIS ESPLÉNICA EN EL ANIMAL NORMAL. En los cortes histológicos de bazo se observan numerosos nidos eritroblásticos. Los extendidos muestran un promedio de 17 eritroblastos por 100 células nucleadas, con

TABLA I

Valores de hemoglobina e índice de Hodgson en ratones normales y a diferentes tiempos después de la esplenectomía

| Grupo                      | Hb. (gr. %) | Diferencia | Valor del p* | I. de Hodgson | Valor del p* |
|----------------------------|-------------|------------|--------------|---------------|--------------|
| Normales                   | 14,9 ± 0,7  | —          | —            | 43 ± 11       | —            |
| 40 días postesplenectomía  | 12,3 ± 1,4  | -2,6       | < 0,001      | 33 ± 7        | < 0,05       |
| 120 días postesplenectomía | 13,7 ± 0,7  | -1,2       | < 0,001      | 37 ± 6,5      | < 0,2        |

\* Significación de las diferencias con respecto al control obtenidas de acuerdo al test de distribución de Student.

TABLA II  
Incorporación Fe-59 a las tres horas en diferentes órganos

| Grupo                       | % Fe-59 Incorporado |             |            |
|-----------------------------|---------------------|-------------|------------|
|                             | Bazo                | Médula ósea | Hígado     |
| Normales                    | 16,9 ± 2,7          | 21,8 ± 3,2  | 8,1 ± 1,5  |
| 40 días postesplenectomía   | —                   | 23,0 ± 3,7  | 8,0 ± 2,1  |
| 120 días postesplenectomía  | —                   | 27,3 ± 1,2  | 9,2 ± 1,6  |
| Normales + hipoxia          | 22,1 ± 2,6          | 24,8 ± 2,0  | 8,9 ± 0,8  |
| Esplenectomizados + hipoxia | —                   | 24,7 ± 3,1  | 13,8 ± 4,1 |

grandes variaciones por campo, confirmando la tendencia de los mismos a agruparse en colonias.

Como se puede apreciar en la parte superior de la tabla II, la captación esplénica de Fe-59 a las tres horas de la inyección alcanza a casi la mitad del valor correspondiente al tejido eritropoyético total.

**MODIFICACIONES OBSERVADAS EN EL ANIMAL ESPLENECTOMIZADO.** La esplenectomía produce una evidente depresión de la eritropoyesis, cuyo resultado es una anemia moderada de tipo normocítico-normocrómico, a juzgar por la morfología de los hematíes. La tabla I compendia los valores de hemoglobina y ferrocinesis a diferentes tiempos después de la ablación del bazo. Se aprecia una cierta tendencia a la recuperación con el transcurso del tiempo, aunque a los 120 días de la operación todavía no se han alcanzado los valores normales.

En la tabla II figuran los porcentajes de captación correspondientes a los diferentes órganos. Puede observarse a los 120 días de la esplenectomía un ligero incremento en la actividad medular, aunque estadísticamente no resulta significativo. Por su parte, el hígado no adopta funcio-

nes eritropoyéticas de compensación. Es de hacer notar, además, que la evidente disminución de la ferrocinesis permite eliminar hemólisis o eritropoyesis inefectiva como causas de anemia.

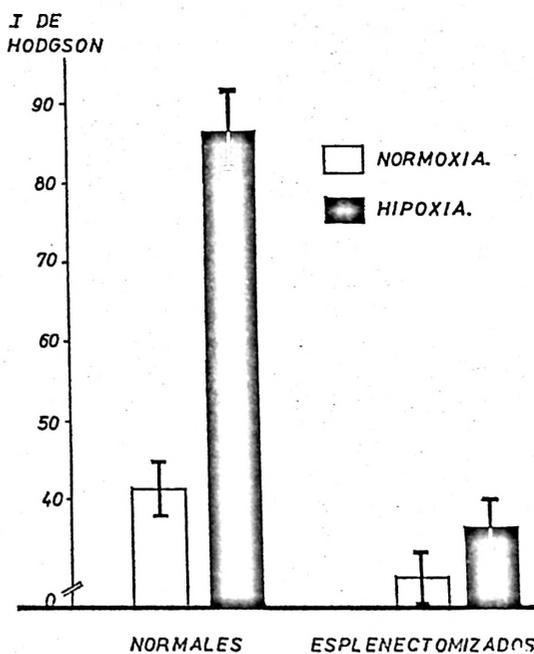


FIG. 1. Índice de Hodgson en animales normales y esplenectomizados, en condiciones habituales y después de 24 horas de hipoxia.

TABLA III

Valores de hemoglobina antes y después de doce días de exposición a hipoxia

| Grupo                      | Pre-hipoxia | Post-hipoxia | Diferencia | Valor del p * |
|----------------------------|-------------|--------------|------------|---------------|
| Normales                   | 14,9 ± 0,7  | 19,2 ± 0,9   | + 4,3      | < 0,001       |
| 40 días postesplenectomía  | 12,3 ± 1,4  | 11,9 ± 3,7   | - 0,4      | < 0,2         |
| 120 días postesplenectomía | 13,7 ± 0,7  | 14,8 ± 2,1   | + 1,1      | < 0,1         |

\* Significado de la diferencia entre ambos valores obtenido de acuerdo al test de distribución de Student.

RESPUESTA DEL ANIMAL ESPLENECTOMIZADO AL ESTÍMULO HIPÓXICO. a) *Hipoxia aguda*. La figura 1 muestra la variación del índice de Hodgson en animales normales y esplenectomizados (40 días después de la operación), sometidos a 24 horas de hipoxia en cámara a una altura simulada de 7.400 m sobre el nivel del mar. En ausencia del bazo la activación eritropoyética es muy poco evidente (tabla II, parte inferior).

b) *Hipoxia crónica*. Los animales se colocaron en condiciones de hipoxia discontinua (16 horas cada 24) durante doce días. La tabla III detalla las correspondientes cifras de hemoglobina, evidenciando falta de policitemia compensadora. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que en los ratones en los cuales el tiempo transcurrido entre la iniciación del experimento y la esplenectomía era más prolongado, se observa un esbozo de respuesta.

### Discusión

La anemia que se instala después de la extirpación del bazo, así como la escasa respuesta eritropoyética ante el estímulo hipóxico agudo o crónico revela que la producción de hematíes en este órgano es cuantitativamente muy importante, ante un compartimiento eritroide medular que

resulta insuficiente para atender a las necesidades incluso habituales.

Los resultados obtenidos concuerdan con numerosos trabajos en los cuales la recuperación eritropoyética del ratón a diferentes agentes aplasiantes: ayuno (6), radiación (2), o la respuesta a la administración de eritropoyetina (12) es predominantemente esplénica, con activación medular escasa o nula. Se ha podido demostrar incluso una mayor sensibilidad del bazo ante estímulos ligeros (6). Es, por lo tanto, evidente que en estos roedores el bazo juega un papel clave en la homeostasis eritropoyética. Esta neta diferencia de comportamiento con respecto a los mamíferos superiores (e incluso otros no muy alejados en la escala zoológica: rata, hamster), en los cuales la respuesta a los diferentes estímulos es fundamentalmente medular e incluso la médula ósea es capaz de multiplicar varias veces su nivel basal de producción si es necesario, no tiene hasta el momento una explicación clara. Se ha postulado una posible variación en el medio ambiente celular, reflejo de determinadas condiciones de microcirculación (12).

La tendencia a la corrección de la anemia que observamos en nuestros animales hace suponer una paulatina adaptación a las nuevas condiciones creadas por la supresión de la eritroformación esplénica, tal vez por desarrollo paulatino de la po-

blación de células sensibles a la eritropoyetina hasta alcanzar un nivel parecido al existente antes de la operación (14).

### Resumen

El bazo de ratón posee normalmente actividad eritropoyética, evidenciable por la presencia de eritroblastos en los cortes de órgano y por la incorporación de Fe-59.

Después de la esplenectomía se instala una anemia moderada, de recuperación muy lenta, dado que persiste todavía después de 120 días de efectuada la extirpación.

Si se someten ratones esplenectomizados a condiciones de hipoxia aguda, se observa un incremento en la ferrocinesis menor que el de los controles. La policitemia que se obtiene por hipoxia crónica es también menor que la de los normales.

Estas experiencias permiten suponer que la eritropoyesis esplénica en esta especie juega un papel fundamental en la homeostasis eritropoyética, en relación a una médula ósea que no solamente carece de capacidad de expansión ante una mayor demanda de hematíes, sino que es insuficiente en condiciones habituales.

### Summary

#### Effect of Splenectomy on Erythropoiesis in Mice

Normal mice have splenic erythropoiesis, as assessed from nucleated erythroid cell percentages in sections and smears and Fe-59 uptake.

Splenectomy was accompanied by a mild anemia whose recovery was very slow, persisting 120 days later.

Splenectomized mice exposed to acute hypoxia show a relatively modest increase in erythropoiesis. Polycythemia due to chronic intermittent hypoxia is also slight when compared with normal non splenectomized animals.

These results suggest that splenic erythropoiesis in mice has an important phy-

siological role. Bone marrow not only shows failure to participate in erythroid response to hypoxia, but seems also unable to attend ordinary requirements.

### Bibliografía

1. BRASSARD, A.: *Rev. Canad. Biol.*, 24, 83, 1965.
2. BRECHER, G., ENDICOTT, K. M., GUMP, H. y BRAWNER, H. P.: *Blood*, 3, 1259, 1948.
3. COTES, P. M. y BANHAM, D. R.: *Nature*, 191, 1065, 1961.
4. CROSBY, W.: *Blood*, 14, 399, 1959.
5. ERSLEV, A. J.: *Ann. Int. Med.*, 67, 990, 1967.
6. FRUHMANN, G. J.: *Ztschrft. f. Zellforsch.*, 75, 258, 1966.
7. HODGSON, G.: In *Erythropoiesis*, Grune & Stratton. N. Y., 1962, p. 222.
8. HUTT, M. S. R., PINNINGER, J. L. y WETHESLEY-MEIN, G.: *Blood*, 8, 295, 1953.
9. INGLE, D. J.: In *The Rat in Laboratory Investigation*. J. B. Lippincott Co., Philadelphia. 1949. p. 446.
10. JACOBSON, L. O.: *CIBA Foundation Symposium on Haemopoiesis*. J. A. Churchill Ltd. London. 1960. p. 455.
11. JACOBSON, L. O., SIMMONS, E. L. y BLOCK, M. H.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 70, 740, 1949.
12. KUBANEK, B., FERRARI, L., TYLER, W. S., HOWARD, D., JAY, S. y STOHLMAN, F.: *Blood*, 32, 586, 1968.
13. MAXIMOW, A. A. y BLOOM, W.: In *Textbook of Histology*. W. B. Saunders Co., Philadelphia. 1957. p. 267.
14. MEDICI, P. T., HURST, J. M. y PILIERE, S. J.: *Acta Haemat.*, 33, 167, 1965.
15. ROSSE, W. F., WALDMANN, T. A. y HOUSTON, D. E.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 109, 836, 1962.
16. UNDRITZ, E.: *Planches d'Hematologie*. Sandoz Ltd. Basle. 1952. p. 28.
17. WINTROBE, M. M.: In *Clinical Hematology*. Lea & Phebigger, Philadelphia, 5.ª edic., 1961. p. 1046.
18. WRIGHT, B. M.: *Brit. J. Haemat.*, 10, 75, 1964.

