

# Absorción de hierro en la intoxicación aluminica crónica

C. Gómez Alonso, I. Fernández Soto, M. T. Allende, S. Braga\* y J. B. Cannata

Unidad de Investigación. Metabolismo óseo y mineral. \* Servicio de Bioquímica. Instituto Nacional de Silicosis. Hospital General de Asturias. Universidad de Oviedo. Oviedo.

## RESUMEN

Hierro y aluminio comparten una serie de propiedades químicas que pueden provocar la interferencia en la utilización biológica de un elemento esencial, como el hierro, por un elemento traza sin acción biológica definida como el aluminio. El paradigma de esta situación patológica es la anemia microcítica sin déficit de hierro que aparece en el curso de la intoxicación aluminica.

El objetivo del presente estudio fue valorar la influencia de diferentes grados de exposición aluminica crónica sobre el metabolismo y absorción del hierro en animales con función renal normal (FRN) e insuficiencia renal crónica (IRC).

Tras un período prolongado de exposición aluminica (un año por vía oral o intraperitoneal en las ratas con FRN y 5,5 meses por vía intraperitoneal en los animales con IRC) se realizaron estudios de metabolismo de hierro, repercusión hematológica, test de absorción de  $Fe^{59}$ , así como determinaciones de aluminio en fluidos biológicos y tejidos.

Los resultados mostraron diferentes grados de intoxicación aluminica, en función de la vía de administración de aluminio y de la función renal, las variaciones séricas y tisulares de aluminio se correlacionaron significativamente con parámetros del metabolismo férrico y hematológicos: disminución de la sideremia, porcentaje de saturación del TIBC, microhematócrito, hemoglobina y hemoglobina corpuscular media. El test de absorción de  $Fe^{59}$  mostró disminución de la capacidad de absorción del mismo en los grupos de mayor exposición aluminica, siendo máxima en el grupo de IRC.

Estos resultados evidencian que la exposición aluminica sistémica interfiere el metabolismo y utilización fisiológica del hierro, así como la absorción digestiva del mismo, situación que se ve agravada con la coexistencia de insuficiencia renal.

Palabras clave: **Absorción de hierro. Intoxicación aluminica. Anemia por aluminio. Microcitosis y aluminio.**

## IRON ABSORPTION IN CHRONIC ALUMINIUM OVERLOAD

### SUMMARY

Recent studies have demonstrated the degree of Fe stores might modulate Al gastrointestinal absorption, in the same way, Al overload could also have some influence on Fe gastrointestinal absorption. Therefore, the aim of this experimental work was to evaluate the effect of chronic Al exposure on erythropoiesis and Fe gastrointestinal absorption in rats with normal renal function and chronic renal failure.

The study was performed in two experimental phases: Phase 1 (normal renal function): we studied 13 Wistar rats divided into three groups: Group 1: Control (no Al exposure) (N = 5); Group 2: oral Al exposure (40 mg Al(OH)<sub>3</sub>/daily through gastroesophageal catheter) (N = 3); Group 3: Intraperitoneal Al exposure. (2 mg AlCl<sub>3</sub>, 5 days/week) (N = 5). Phase 2 (chronic renal failure): we studied 14 Wistar rats divided into two groups; Group 1: control (chronic renal failure, no Al exposure) (N = 8); Group 2: chronic renal failure with intraperitoneal AlCl<sub>3</sub> 5 days/week (N = 6). After 12 months (Phase 1) and 5 1/2 months (Phase 2) of Al exposure, haematologic parameters TIBC (µg/dl), serum (s) Fe (µg/dl), transferrin saturation (%), MCV (µ<sup>3</sup>), serum (µg/dl), urinary and tissue Al (bone, liver and heart), and Fe<sup>59</sup> gastrointestinal absorption were measured. In Phase 2, the study was completed investigating the residual Fe<sup>59</sup> radioactivity in duodenum, jejunum and ileum.

In Phase 1 we observed in intraperitoneal aluminium intoxicated animals a microcytic anaemia, with haematological parameters resembling a Fe deficient anaemia. Despite this pattern those rats showed reduced Fe<sup>59</sup> gastrointestinal absorption likely due to the competitive-inhibitory effect of high Al on Fe absorption ( $p < 0.05$ ). In Phase 2 (chronic renal failure) we obtained similar results. Those rats receiving AlCl<sub>3</sub> showed the most important alterations in haematological parameters and Fe<sup>59</sup> absorption was almost reduced. The residual radioactivity in intestine was negligible (lower than 10<sup>-5</sup> % of the dose of Fe<sup>59</sup> administered). Al in tissues showed a significant increase in Al exposure rats ( $p < 0,01$ ).

These findings demonstrate that chronic Al exposure may lead to tissue Al overload and anaemia (even with normal renal function). In addition, the paradoxical reduction in Fe absorption observed in Al intoxication might maintain and even increase the anaemia observed in Al intoxication.

**Key words: Iron absorption. Aluminium intoxication. Anaemia due to aluminium toxicity. Microcitosis and aluminium overload.**

### Introducción

Desde que se efectuó la primera descripción clínica en la que se involucra al aluminio como agente etiopatológico, numerosos estudios han perfilado su espectro de toxicidad, fundamentalmente a nivel de hueso, sistema nervioso central, paratiroides y sistema eritropoyético<sup>1, 2</sup>.

Epidemiológicamente la toxicidad del aluminio se centra fundamentalmente en pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) en programa de hemodiálisis. Esta circunstancia se debe a que en este grupo

de población son más numerosas y efectivas las fuentes de exposición<sup>3</sup>, a la vez que se encuentra alterado el principal mecanismo de excreción. Por otra parte, en estos pacientes se conjugan una serie de factores (mecánicos, tóxicos y hormonales) que condicionan una elevada prevalencia de estados anémicos<sup>4, 5</sup>. En 1978 se describe por primera vez la aparición de un tipo de anemia microcítica en pacientes con encefalopatía dialítica<sup>6</sup>. Posteriores comunicaciones señalan que este tipo de anemia microcítica, normo o hipocrómica, sin déficit de hierro que aparece en el curso de intoxicaciones aluminicas, remite cuando cesa la exposición a este elemento<sup>7-9</sup>.

La interferencia en la utilización biológica del hierro<sup>10</sup>, la utilización de la transferrina como proteína transportadora plasmática<sup>11, 12</sup>, ser quelados por las mismas sustancias<sup>13</sup>, así como el hecho de aparecer ambos elementos depositados conjuntamente en los tejidos<sup>14, 15</sup>, ponen de manifiesto la similitud de propiedades químicas de los mismos e inducen a pensar que, como otros metales, comparten el mismo mecanismo de absorción<sup>16</sup>. En apoyo de estos datos, estudios previos ya han puesto de manifiesto el diferente grado de absorción del aluminio en función del estado de saturación de los depósitos orgánicos de hierro<sup>17</sup>. En este trabajo, y con objeto de aportar datos sobre un posible mecanismo de absorción, se valoró la influencia de diferentes grados de exposición al aluminio crónica sobre el metabolismo y absorción del hierro en ratas con función renal normal y con IRC.

## Material y métodos

### A) Animales y diseño general del estudio

Se estudiaron un total de 57 ratas wistar hembras de 250-300 gramos de peso medio.

**Fase preliminar:** Se utilizaron 21 ratas de seis a doce meses de edad, con función renal normal (FRN) y sin exposición al aluminio (excepto la ambiental) para poner a punto el método y tener una referencia propia dada la gran variabilidad en las fracciones de absorción de hierro referida en la literatura.

**Primera fase:** Se estudiaron 13 ratas con FRN divididas en tres grupos: Grupo I: Control (FRN-C), sin exposición al aluminio experimental (n = 5). Grupo II: Exposición oral al aluminio (FRN-O), administración de 40 mg de AL(OH)<sub>3</sub> por sonda endodigestiva cinco días a la semana y en el agua de bebida los días restantes (n = 3). Grupo III: Exposición intraperitoneal al aluminio (FRN-IP), administración de una dosis de 2 mg de ALCL<sub>3</sub> por vía intraperitoneal cinco días por semana (n = 5).

El estudio se inició cuando los animales tenían tres meses de edad, concluyéndose tras un período de exposición de doce meses, en el que se realizaron determinaciones de hierro sérico (Fe), capacidad transportadora de hierro (TIBC), porcentaje de saturación (% saturación) de la misma, microhematócrito ( $\mu$ Hto), hemoglobina (Hb), conteo de hematíes (RBC), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), aluminio sérico (AlS) y aluminio en orina de veinticuatro horas (Al O). Posteriormente se realizó el test de absorción de Fe<sup>59</sup> que se detalla en el apartado B. Una vez concluido el mismo se sacrificaron los animales y se determinó aluminio en hueso e hígado.

**Segunda fase:** Se utilizaron 14 ratas con insuficien-

cia renal crónica (IRC) posquirúrgica divididas en dos grupos: Grupo I: Control (IRC-C), sin exposición al aluminio (n = 8). Grupo II: Exposición intraperitoneal al aluminio (IRC-IP), administrando 2 mg de ALCL<sub>3</sub> por vía intraperitoneal cinco días por semana (n = 6).

El estudio se inició cuando las ratas tenían siete meses de edad, momento en el que se practicó nefrectomía total unilateral y bipolar contralateral, en dos tiempos quirúrgicos con una semana de intervalo entre ambas. El período de exposición del grupo IRC-IP se inició quince días después de la segunda intervención, prolongándose por espacio de 5,5 meses. Tras el período de exposición se realizaron determinaciones de Fe, TIBC, porcentaje de saturación, Al S, Al O y test de absorción de Fe<sup>59</sup> (ver apartado B).

### B) Metodología y técnicas analíticas empleadas

La determinación de hierro, TIBC y porcentaje de saturación se realizó mediante métodos fotocolorimétricos estándar. Los parámetros hematológicos fueron determinados por contador automático (Hemocoulter 30660®). Las determinaciones de aluminio en nuestras biológicas se realizaron mediante espectrometría de absorción atómica en horno de grafito (HGA 600, corrector de fondo Zeeman 3030, Perkin Elmer®), siguiendo la técnica expuesta en trabajos previos<sup>17</sup>.

Para valorar la absorción de hierro se realizó un test de absorción con Fe<sup>59</sup> (Fe<sup>59</sup>Cl<sub>3</sub>, IRE-MEDGEWIX, AS®; 39 mCi/mg de Fe = 1.430 MBq/mg de Fe<sup>59</sup>). El test se realizó tras ayuno de veinticuatro horas, excepto agua *ad libitum*, y la supresión de la exposición al aluminio durante cuarenta y ocho horas en los grupos FRN-O, FRN-IP e IRC-IP. Todos los animales recibieron, por sonda endodigestiva, 60  $\mu$ Ci de Fe<sup>59</sup>Cl<sub>3</sub> (2.200 KBq = 64  $\mu$ g de Fe<sup>59</sup>) con 20 mg de SO<sub>4</sub>Fe (como transportador), 200 mg de ácido ascórbico (como reductor) y 1 ml de agua para lavar la sonda endodigestiva. La dosis de Fe<sup>59</sup> se repartió en dos tomas de 30  $\mu$ Ci administradas los dos primeros días con objeto de minimizar el efecto de las variaciones fisiológicas que puedan existir diariamente en la absorción de hierro. El sulfato ferroso y el ácido ascórbico se administraron diariamente a lo largo de la experiencia.

La duración total del estudio fue de nueve días, permaneciendo los animales en jaulas metabólicas. La recogida de heces se realizó durante los nueve días consecutivos a la administración del Fe<sup>59</sup> y el cálculo de la absorción de hierro se efectuó midiendo la radiactividad acumulada en heces durante esos nueve días, comparando la misma con un estándar de la misma actividad (60  $\mu$ Ci) preparado a la vez que la dosis administrada. Los resultados se expresan

en porcentaje y representan la diferencia entre la radiactividad administrada y la recogida en heces (porcentaje de absorción).

El conteo de radiactividad de las heces se realizó con un detector externo (CGR) a una distancia detector-fuente de 20 cm, observándose una linealidad en la relación actividad-cuentas por minuto ( $r = 0,99$ ;  $p > 0,001$ ) y una sensibilidad del 0,7 % de la dosis administrada. El error del método fue de  $\pm 3$  % y se calculó a partir de nueve mediciones consecutivas, tanto del estándar como del fondo y de la muestra.

Al finalizar la experiencia, y tras el sacrificio de los animales, se realizó conteo de la actividad residual en mucosa intestinal, dividiéndose el intestino en tres segmentos: proximal (1 cm desde píloro), medio (5 cm en parte media entre píloro e íleon) y distal (1 cm último tramo de íleon). Para eliminar residuos se efectuó un lavado previo con solución salina fisiológica fría y posteriormente se realizó el conteo en un contador de pozo (introducción de la muestra en un receptáculo cerrado que actúa como contador), expresándose los resultados como porcentaje residual en mucosa en relación con la dosis total de  $Fe^{59}$  administrada.

El manejo estadístico de datos se efectuó con soporte informático, base de datos y paquete estadístico Sigma (Horus Hardware), utilizándose los test de conformidad estadística: T de student, Kruskal-Wallis, F de Fisher y análisis de la varianza según los requerimientos de las variables.

## Resultados

El modelo de insuficiencia renal experimental utilizado estableció diferencias de función renal estadísticamente significativas, con aclaramientos de creatinina en el momento de realizar el test de absorción de hierro de  $3,23 \pm 2,34$  y  $0,46 \pm 0,35$  ml/min ( $p > 0,05$ ) para las ratas con FRN e IRC, respectivamente, sin existir diferencias en función renal entre los diferentes grupos de FRN ni entre los dos de IRC.

Transcurrido el período de exposición aluminica, doce meses en los grupos con FRN y 5,5 meses en

aquellos con IRC, se alcanzaron diferentes grados de intoxicación aluminica, los que fueron significativamente superiores en los animales con intoxicación intraperitoneal, como lo muestran las determinaciones de aluminio sérico, urinario y tisular recogidas en la tabla I.

Las repercusiones en el metabolismo del hierro muestran decrementos de la sideremia y del porcentaje de saturación en los dos grupos de exposición aluminica masiva (FRN-IP e IRC-IP) frente al grupo control (tabla II). En relación a la función eritropoyética, evaluada únicamente en las ratas con FRN, se encontraron disminuciones progresivas en los valores de Hb,  $\mu$ Hto, VCM y HCM conforme aumentaba el grado de exposición aluminica, alcanzando estas diferencias significación estadística para VCM y HCM (tabla III).

Los parámetros hematológicos mostraron correlacionarse linealmente, de forma estadísticamente significativa, con los niveles de aluminio en muestras biológicas (tabla IV). La sideremia y el porcentaje de saturación se correlacionaron negativamente con el aluminio sérico y tisular (fig. 1) y el TIBC se correlacionó positivamente con la concentración de aluminio en hígado y orina ( $r = 0,59$ ,  $r = 0,51$ ;  $p < 0,01$ ). Los niveles de aluminio en hueso tuvieron una correlación negativa con HCM ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,01$ ) y  $\mu$ Hto ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ). La correlación actividad de  $Fe^{59}$  administrado - captación tuvo un coeficiente de 0,99,  $p < 0,001$  (fig. 2).

La absorción de  $Fe^{59}$  mostró diferencias significativas entre los cinco grupos experimentales (fig. 3), observándose una disminución progresiva en el porcentaje de absorción, media aritmética y geométrica, conforme aumentaba el grado de exposición, siendo estas diferencias estadísticamente significativas para los grupos con FRN-IP e IRC-IP respecto a sus controles y entre sí (tabla V).

Estas diferencias se mantienen cuando se evalúa la capacidad de absorción de cada grupo frente al percentil que ocuparía respecto al grupo con FRN-C (curva percentil/absorción;  $r = 0,97$ ,  $p > 0,01$ ) y su relación inversa con los niveles de aluminio sérico, como lo muestra la figura 4. La absorción de hierro

**Tabla I.** Valores de aluminio en fluidos biológicos y tejidos expresados en  $\mu$ g ( $\mu$ g/l en suero,  $\mu$ g/24 horas en orina y  $\mu$ g/g en tejidos). Grado de significación estadística de las diferencias respecto a su grupo control (\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ )

	AL suero	AL orina	AL hueso	AL hígado
FRN-C	$8,04 \pm 5$	$0,23 \pm 0,18$	$0,9 \pm 0,56$	$0,47 \pm 0,19$
FRN-O	$22,4 \pm 21,7$	$1,71 \pm 0,61$ **	$3,2 \pm 0,60$ **	$0,60 \pm 0,30$
FRN-IP	$184 \pm 102$ *	$84 \pm 16$ *	$63 \pm 16$ *	$44 \pm 15$ *
IRC-C	$7,73 \pm 6,5$	$0,37 \pm 0,32$		
IRC-IP	$260 \pm 130$ *	$14 \pm 12$ *		

**Tabla II.** Valores de hierro, capacidad total de transportar hierro (TIBC) en  $\mu\text{g/dl}$  y porcentaje de saturación del TIBC. Niveles de significación estadística: a Vs b  $p < 0,05$  y c Vs a  $p < 0,001$ 

	Sideremia	TIBC	% saturación
FRN-C .....	260,8 $\pm$ 66,7 <sup>a</sup>	471,1 $\pm$ 58,9 <sup>a</sup>	55,7 $\pm$ 14,4 <sup>a</sup>
FRN-O .....	343,0 $\pm$ 44,6	555,3 $\pm$ 25,7	61,3 $\pm$ 5,8
FRN-IP .....	218,4 $\pm$ 61,6 <sup>b</sup>	600,1 $\pm$ 81,8 <sup>b</sup>	36,8 $\pm$ 14,3 <sup>b</sup>
IRC-IP .....	70,3 $\pm$ 30,7 <sup>c</sup>	384,1 $\pm$ 91,6 <sup>c</sup>	19,5 $\pm$ 11,3 <sup>c</sup>

**Tabla III.** Parámetros hematológicos en los grupos con FRN y diferente grado de exposición alumínica, significación estadística de las diferencias \*  $p < 0,05$ 

	Hemoglob.	$\mu\text{HTO}$	VCM	HCM	Hematíes
FRN-C .....	15,5 $\pm$ 1,1	50,4 $\pm$ 2,8	69,6 $\pm$ 2,1	23 $\pm$ 0,8	6,73 $\pm$ 0,73
FRN-O .....	15,1 $\pm$ 0,8	47,3 $\pm$ 4,6	63,6 $\pm$ 1,9	21,6 $\pm$ 0,5	7,02 $\pm$ 0,58
FRN-IP .....	14,1 $\pm$ 0,3	45,2 $\pm$ 4,8	62,9 $\pm$ 1,8 *	20,9 $\pm$ 0,9 *	6,75 $\pm$ 0,42

**Tabla IV.** Correlaciones entre parámetros hematológicos con marcadores de exposición alumínica y absorción de  $\text{Fe}^{59}$ . Nivel de significación estadística \*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ 

	AL suero	AL orina	AL hueso	AL hígado	TIBC	Absorción
Hierro .....	- 0,70 *	NS	- 0,54 **	- 0,60 **	+ 0,45 **	+ 0,37 **
TIBC .....	NS	+ 0,51 *	NS	+ 0,59 *	NS	NS
% satur. ....	- 0,75 *	NS	- 0,65 *	- 0,72 *	NS	NS
HB .....	- 0,67 **	NS	NS	NS	NS	+ 0,86 *
$\mu\text{HTO}$ .....	NS	NS	- 0,58 *	NS	NS	NS
HCM .....	NS	NS	- 0,68 *	NS	NS	NS

se correlacionó de forma positiva con los niveles de hemoglobina y con la sideremia (tabla IV). El estudio de actividad residual en diferentes tramos de mucosa intestinal no reveló una persistencia significativa de radiactividad ni diferencias entre los grupos (tabla VI).

## Discusión

### 1) Consideraciones generales

El hierro es un elemento esencial para el organismo cuyo déficit provoca trastornos carenciales que afectan fundamentalmente al sistema eritropoyético, mucosas, piel y faneras<sup>18</sup>. La regulación del metabolismo del hierro se lleva a cabo a través de variaciones de la absorción y no existen funciones fisiológicas que permitan aumentar o disminuir la excreción del exceso de hierro<sup>19</sup>.

La absorción del hierro se produce mayoritariamente a nivel de duodeno y yeyuno proximal, si bien pequeñas fracciones pueden absorberse a otros niveles del tracto digestivo<sup>16</sup>. Los numerosos factores que pueden modificar su absorción<sup>20</sup> se pueden agrupar en dos grandes grupos, aquellos dependientes del estado de los depósitos orgánicos de hierro y en factores modificadores de la disponibilidad bioquímica del hierro dietético (pH, fitatos, ascórbico, fosfatos...). Ambos actuarían en la primera fase o captación de hierro desde el lumen por las células de la mucosa intestinal y además el estado de los depósitos modularía la transferencia del hierro celular captado a la circulación sistémica. A pesar del conocimiento de estos factores reguladores, todavía no se ha precisado la naturaleza del transportador que permite su absorción<sup>16</sup>.

La similitud de propiedades bioquímicas entre aluminio y hierro inducen a pensar que comparten el mismo mecanismo de absorción y que, por lo tanto,

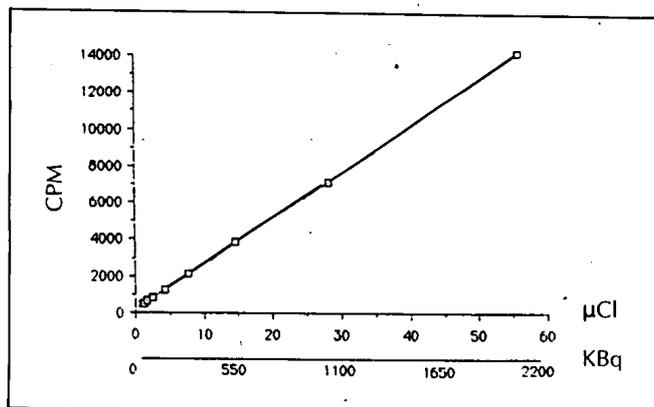
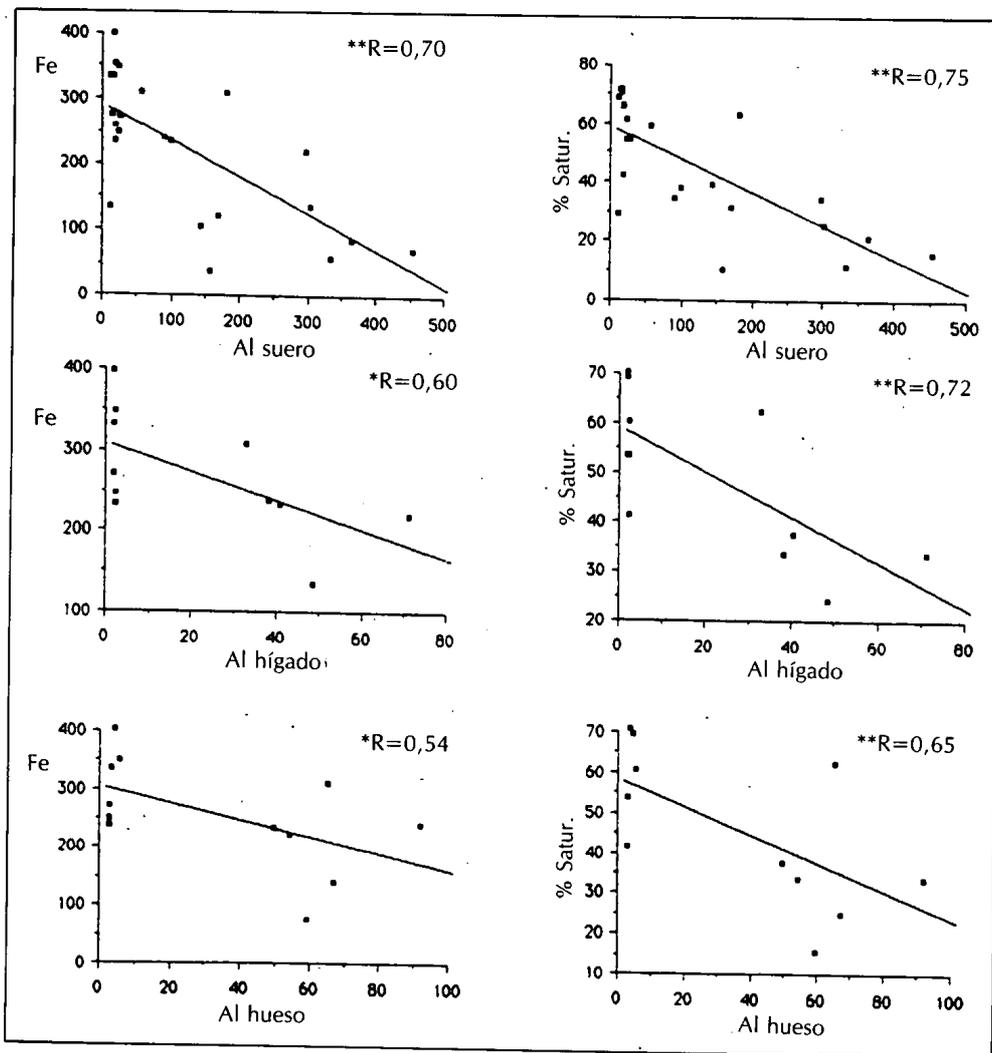


Fig. 2.—Relación entre la actividad y cuentas por minuto (CPM) detectadas en diferentes dosificaciones de Fe<sup>59</sup> en las condiciones de contaje de heces.

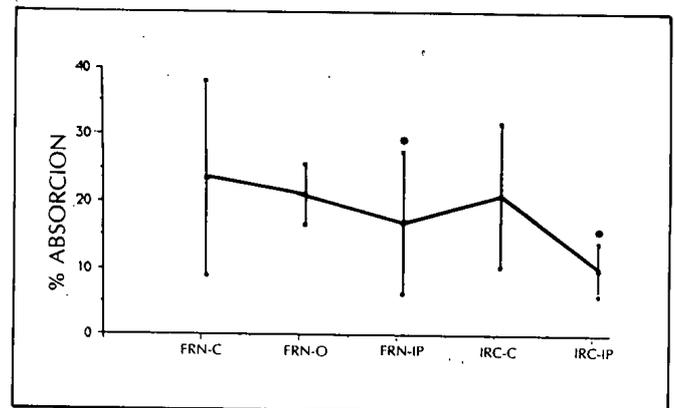


Fig. 3.—Porcentaje de absorción de Fe<sup>59</sup>, calculado en función de la actividad recuperada en heces en los nueve días siguientes a su administración, expresado como media ± desviación estándar (\* p < 0,05).

además de las interacciones químicas que puedan producirse si ambos son administrados conjuntamente por vía oral, se pueda producir una competencia entre ambos a nivel de su absorción. Estudios previos ya han puesto de manifiesto una disminución en la

capacidad de absorción de aluminio cuando los depósitos de hierro se encuentran saturados<sup>9</sup> y un aumento recíproco de la misma en estados de depleción del hierro<sup>17</sup>.

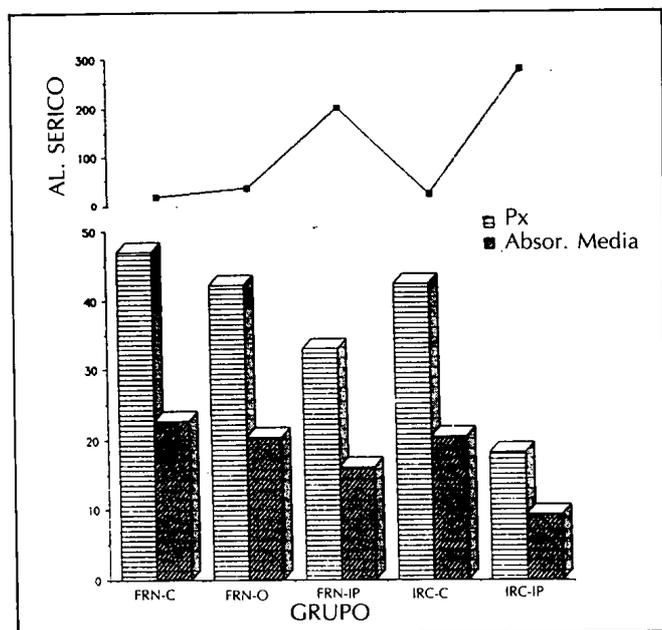


Fig. 4.—Percentil de la absorción media de Fe<sup>59</sup> (Px) en cada grupo respecto al grupo de FRN-C y absorción media, expresado en porcentaje de la dosis administrada. En la parte superior, niveles de aluminio sérico (µg/l) en cada grupo.

A diferencia de los anteriores, el presente trabajo se ha centrado en el estudio del fenómeno inverso, es decir, sobre la influencia que pueda tener la sobreexposición de aluminio sobre el metabolismo del hierro y sobre la ulterior absorción de este elemento. Con el objetivo de conocer al máximo los factores

**Tabla V.** Porcentaje de absorción de Fe<sup>59</sup> en los diferentes grupos, valores de media ± desviación estándar aritméticos \* (p < 0,05) y geométricos, \*\* p < 0,01 respecto a sus respectivos controles

Absorción	Aritmética	Geométrica
FRN-C	22,6 ± 14,6	18,4 ± 2,2
FRN-O	20,2 ± 4,6	19,8 ± 1,3
FRN-IP	16,0 ± 10,6	13,7 ± 1,8 **
IRC-C	20,2 ± 10,7	17,4 ± 1,9
IRC-IP	9,1 ± 4,0 *	8,0 ± 1,9 **

**Tabla VI.** Actividad residual (porcentaje de la dosis administrada) en diferentes tramos de mucosa intestinal en los dos grupos de mayor divergencia en absorción de Fe<sup>59</sup>. Diferencias NS

	FRN-C	IRC-IP
l. proximal	1,91 × 10 <sup>-5</sup> ± 1,32 × 10 <sup>-5</sup>	2,29 × 10 <sup>-5</sup> ± 1,54 × 10 <sup>-5</sup>
l. medio	1,76 × 10 <sup>-5</sup> ± 1,25 × 10 <sup>-5</sup>	3,84 × 10 <sup>-5</sup> ± 3,96 × 10 <sup>-5</sup>
l. distal	1,81 × 10 <sup>-6</sup> ± 1,45 × 10 <sup>-6</sup>	5,26 × 10 <sup>-6</sup> ± 3,92 × 10 <sup>-6</sup>

implicados y su importancia se diseñó un modelo experimental que incluyese grupos con FRN y con IRC, este último atendiendo fundamentalmente a la evidencia epidemiológica de ser los pacientes con IRC quienes sufren con mayor frecuencia estados de sobrecarga de aluminio y un tipo peculiar de anemia que revierte al controlarse la exposición alúminica<sup>7, 8</sup>.

II) Repercusiones hematológicas de la exposición alúminica

Transcurrido el período de administración de aluminio, doce meses en los grupos con FRN y 5,5 en aquellos con IRC, se observaron incrementos significativos en los niveles de aluminio en muestras biológicas frente a sus respectivos controles (tabla I). Los mayores incrementos de aluminio sérico como es lógico se encontraron en los grupos con exposición IP, siendo máximos en el grupo con IRC. En este último grupo, a pesar del menor tiempo de exposición, la alteración de la principal vía de excreción de aluminio justifica el mayor grado de acumulación observado.

Dentro de los grupos con FRN, la excreción de aluminio en veinticuatro horas y los depósitos tisulares del mismo se comportaron como excelentes marcadores del diferente grado de exposición al aluminio, observándose incrementos progresivos y significativos entre FRN-C, DRN-O y FRN-IP. Es importante destacar que, a pesar de una función renal normal, el incremento de aluminio del mismo en orina y hueso llegó a ser cuatro y ocho veces, respectivamente, superior a los valores del grupo control. Los niveles de aluminio sérico de los grupos FRN-IP e IRC-IP se situaron en un rango similar a los descritos en pacientes en hemodiálisis con intoxicación alúminica<sup>21</sup>.

Las consecuencias de la exposición alúminica en el metabolismo del hierro evaluadas mediante la determinación de sideremia, TIBC y porcentaje de saturación se recogen en la tabla II. En los grupos con FRN-IP e IRC-IP se observó una disminución de la sideremia y del porcentaje de saturación y en las ratas con FRN la TIBC mostró un incremento progresivo.

vo conforme aumentaba el grado de exposición aluminica.

Teniendo en cuenta que ha sido demostrada la unión del aluminio a la transferrina<sup>11, 12</sup>, principal proteína transportadora de hierro en el plasma, se puede hipotetizar que el aumento de la misma, similar al observado en las situaciones de ferropenia, se deba a una ocupación competitiva del aluminio (aluminemias elevadas y sideremias disminuidas), con el consiguiente estímulo de síntesis de la misma para aumentar o mantener constante la capacidad de transporte y tamponamiento del hierro iónico plasmático<sup>19</sup>. Este efecto de incremento de la TIBC no se observó en el grupo IRC-IP, probablemente debido a la concomitancia de factores secundarios a la uremia.

La incapacidad de reconocimiento de la ferritina de rata mediante anticuerpos antiferritina humana existentes en el mercado y la dificultad técnica que supone la obtención de anticuerpos específicos<sup>15, 22, 23</sup> no permitieron conocer los niveles de la misma; sin embargo, los marcadores evaluados demostraron interesantes correlaciones entre los parámetros hematológicos y concentración de Al en suero y tejidos (tabla IV). La sideremia y el porcentaje de saturación se correlacionaron de forma negativa y estadísticamente significativa con los niveles de aluminio en suero, hueso e hígado (fig. 1).

Esta disminución del hierro, conforme se va incrementando el aluminio, refuerza la hipótesis de la existencia de una vinculación recíproca en su cinética. De éstos tiene especial interés la interrelación aluminio-hierro evaluada a través del porcentaje de saturación, en ella se objetiva una disminución del porcentaje de saturación del hierro conforme van aumentando los niveles de aluminio sérico ( $r = 0,75$ ;  $p > 0,001$ ), confirmando nuestros hallazgos previos de especiación molecular aluminio-hierro-transferrina<sup>24</sup>. Como respuesta a esta reducción del transporte plasmático de hierro, se observó un incremento de la capacidad total del transporte de hierro (aumento de TIBC), lo que en definitiva podría aumentar las posibilidades de transporte de hierro, pero también de aluminio. Además, al analizar la correlación entre TIBC y hierro, se encontró que, pese a mantenerse significativa, su coeficiente fue más bajo del que cabría esperar ( $r = 0,45$ ;  $p > 0,05$ ), apoyando nuevamente la interferencia producida por el aluminio.

Para evaluar la repercusión funcional en el sistema eritropoyético obviando factores dependientes de la insuficiencia renal se analizó el comportamiento de Hb,  $\mu\text{Hto}$ , VCM, HCM y número de hematíes en los tres grupos con función renal normal y diferente grado de exposición aluminica. Excepto el número de hematíes, el resto de los parámetros mostraron una tendencia a disminuir progresivamente conforme aumentaba el grado de exposición aluminica, llegando

a ser estas diferencias estadísticamente significativas en los casos de VCM y HCM (tabla III). Este tipo de respuesta coincide con la ya descrita por otros autores en la anemia de la intoxicación aluminica<sup>7, 8</sup>.

De estos parámetros hematológicos, la HCM y el  $\mu\text{Hto}$  se correlacionaron significativamente con la concentración de aluminio en hueso, disminuyendo conforme aumentaba la misma (tabla III). Por tanto, al igual que lo observado en otros trabajos, los marcadores hematológicos fueron muy sensibles a la hora de determinar la repercusión funcional eritropoyética de la sobrecarga aluminica<sup>25, 26</sup>.

Estas observaciones coinciden con las observadas en pacientes en hemodiálisis<sup>15</sup> y con estudios *in vitro* que vinculan la actuación del aluminio en la eritropoyesis con la capacidad de este último para desaturar de hierro a la transferrina, sugiriendo que su potencial tóxico podría ser inversamente proporcional al grado de saturación con hierro de la transferrina<sup>10</sup>.

### III) Absorción de hierro en la exposición aluminica

La metodología utilizada para la realización del test de absorción de  $\text{Fe}^{59}$  ha sido empleada por otros autores<sup>27, 28</sup> y por nuestro grupo en trabajos previos. La linealidad activa administrada-captación, sensibilidad y margen de error obtenidos en nuestro laboratorio fueron óptimos (fig. 2). Al igual que en estudios previos, los cálculos del porcentaje de absorción de  $\text{Fe}^{59}$  se realizaron al noveno día de la administración oral del mismo, dado que durante ese tiempo hemos comprobado un contaje estable y una actividad residual mínima en mucosa intestinal transcurrido ese período<sup>29</sup>.

Los resultados, expresados como porcentaje de absorción de la dosis administrada, mostraron diferencias entre los cinco grupos experimentales, si bien se observó un notable grado de dispersión dentro de cada grupo (fig. 3). Esta dispersión intrapoblación es prácticamente constante en estudios de absorción de hierro<sup>27</sup>, dado que no siguen una distribución normal. Por ello algunos autores consideran necesaria su transformación en una distribución normal mediante conversión logarítmica, obteniendo la media geométrica en cada grupo<sup>30</sup>. Efectuados estos cálculos en nuestros resultados, éstos se mantienen y en algunos grupos aumentan las diferencias encontradas (tabla VI).

Estas diferencias se mantienen si evaluamos la capacidad de absorción de hierro de cada grupo respecto a su «población general control» (FRN-C), a través del cálculo del percentil que ocuparía en la curva absorción/percentil de dicho grupo ( $r = 0,97$ ;  $p > 0,001$ ) (fig. 4). En esta figura se observa la disminución progresiva de la capacidad de absorción con-

forme aumenta el grado de exposición alúminica, siendo especialmente evidente en el grupo IRC-IP.

Esta respuesta podría resultar paradójica dado que si tenemos en cuenta los parámetros del metabolismo del hierro observados en la intoxicación alúminica (disminución de la sideremia y porcentaje de saturación y aumento de TIBC) (tablas II y III), éstos harían presuponer un incremento de la absorción de Fe<sup>59</sup>. No obstante, como lo demuestra la figura 3, la absorción fue significativamente menor y las correlaciones sideremia/absorción y hemoglobina/absorción fueron en el sentido contrario al esperado ( $r = + 0,37$ ,  $p < 0,05$ ;  $r = + 0,86$ ,  $p < 0,01$ ), indicando una mejor capacidad de absorción de hierro en aquellos animales que no tenían acúmulo de aluminio y, por lo tanto, ninguna interferencia fisiológica y una adecuada utilización del hierro.

Además, las ratas con menor capacidad de absorción de hierro fueron las de mayor grado de exposición alúminica (aluminios séricos mayores de 80  $\mu\text{g/l}$ ), correlacionándose negativamente la hemoglobina con los niveles de aluminio sérico ( $r = - 0,67$ ,  $p < 0,05$ ) y siendo este último significativamente menor que el de los controles ( $p < 0,001$ ).

Estos resultados indican que la exposición alúminica sistémica interfiere la absorción de hierro. Dado que previamente hemos comprobado una diferente capacidad de absorción de aluminio según los depósitos sistémicos de hierro<sup>9, 17</sup>, de manera congruente con estos resultados se completa una visión desde las dos perspectivas, hierro y aluminio, que permiten asumir la hipótesis de la existencia de un mecanismo común de su absorción. Esto condicionaría dificultades para la absorción digestiva de cada uno de ellos en estados de sobrecarga o saturación del otro.

En resumen, la sobreexposición alúminica produciría alteraciones en el metabolismo endógeno del hierro por un mecanismo competitivo con sus proteínas transportadoras, fundamentalmente la transferrina, que disminuiría la capacidad de transporte y utilización biológica del hierro<sup>10</sup>. Alterar la capacidad de unión del hierro a la transferrina podrían suponer disminuir la capacidad de tamponamiento del hierro iónico<sup>19</sup> que condicionaría el depósito tisular del mismo en formas no biodisponibles y aun con sideremias normales o bajas<sup>14, 15</sup>. Estos depósitos se encontraron presentes en las células de Kupffer en el estudio histológico hepático (tinción de Perls) de ratas con FRN-O, FRN-IP, IRC-IP, siendo estos depósitos cuantitativamente proporcionales al grado de exposición alúminica (datos pendientes de publicación).

En lo concerniente a la absorción de hierro, aunque ésta es modulada por el estado de los depósitos del mismo<sup>16</sup>, se postula la existencia de una proteína transportadora en la mucosa intestinal (transferrina

mucosa) diferente de la transferrina plasmática<sup>16, 31</sup>. El aluminio probablemente sea transportado por esta proteína en la fase de absorción mucosa. La probable unión competitiva del aluminio a esa proteína inhibiría la absorción mucosa de hierro y explicaría el mecanismo de alteración de su absorción. En estudios previos no encontramos diferencias significativas en la absorción de Fe<sup>59</sup> administrado conjuntamente con AL(OH)<sub>3</sub><sup>32</sup>, lo cual refuerza la importancia de la interrelación sistémica, junto con la mera interrelación química en la luz intestinal, a la hora de interferir en la absorción de hierro.

El escasísimo porcentaje residual de Fe<sup>59</sup> encontrado en mucosa intestinal (tabla VI) no sólo es demostrativo de un adecuado tiempo de seguimiento, sino que, unido al hecho de no observar diferencias entre el grupo control y el grupo con intoxicación IP, como cabría esperar si la interferencia en la absorción tuviese lugar en la transferencia de mucosa a plasma<sup>16</sup>, demuestra la interferencia del aluminio en la absorción de Fe<sup>59</sup> en el mecanismo íntimo de la absorción mucosa.

Todo ello es compatible con las observaciones clínicas realizadas en pacientes con anemia microcítica secundaria a sobrecarga alúminica<sup>7, 8</sup>, donde los parámetros hematológicos no se corresponden con los que cabría esperar en función de los parámetros del metabolismo del hierro. El presente trabajo refuerza la hipótesis sobre una acción competitiva en la absorción y cinética del aluminio con el hierro, comprobando que la interrelación entre ambos elementos es de tal magnitud que la exposición e intoxicación alúminica sería capaz de modificar no sólo su propio metabolismo, sino que alteraría de forma evidente el metabolismo fisiológico del hierro.

#### Agradecimientos

— Los proyectos sobre toxicidad del aluminio y del hierro han recibido apoyo del FISs, 87/1975, Acción Integrada Hispano-Británica 1987-1989 y FICYT 1989-1991.

— A María Luisa Rodríguez por su colaboración en la redacción de este manuscrito.

#### Bibliografía

1. Cannata JB: Intoxicación alúminica: análisis de una década clave en el conocimiento de los efectos biológicos de este elemento. *Rev Clin Esp* 184:371-375, 1989.
2. Wills M y Savory J: Aluminium poisoning: dialysis encephalopathy, osteomalacia and anaemia. *Lancet* 2:29-34, 1983.
3. Cannata JB: Aluminium-induced toxicity in patients. Role of water and other sources on its pathogenesis. In *Water treatment monograph*. F Lopot (ed. by) EDTNA-ERCA, Pitman. London, chap. 3:50-64, 1988.
4. Fisher JW: Mechanism of the anemia of chronic renal failure. *Nephron* 25:106-111, 1980.

5. Eschbach JW: The anemia of chronic renal failure: pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin. *Kidney Int* 35:134-138, 1989.
6. Elliot HL y MacDougall AI: Aluminium studies in dialysis encephalopathy. *Proc Eur Dial Transpl Ass* 15:157-163, 1978.
7. O'Hare JA y Murnaghan DJ: Reversal of aluminium-induced haemodialysis anemia by a low-aluminium dialysate. *N Engl J Med* 306:654-656, 1982.
8. McGonigle RJS y Parsons V: Aluminium-induced anaemia in haemodialysis patients. *Nephron* 39:1-9, 1985.
9. Cannata JB, Ruiz Alegría P, Cuesta MV, Herrera J y Peral V: Influence of aluminium hydroxide intake on haemoglobin concentrations and blood transfusion requirements in haemodialysis patients. *Proc EDTA* 20:719-723, 1983.
10. Mladenovic J: Aluminium inhibit erythropoiesis in vitro. *J Clin Invest* 81:1661-1665, 1988.
11. Rahman H, Channon SM, Skillen AW, Ward MK y Kerr DNS: Protein binding of aluminium in normal subjects and in patients with chronic renal failure. *Proc EDTA* 21:360-365, 1984.
12. Trapp GA: Plasma aluminium is bound to transferrin. *Lif Sci* 33:311-316, 1983.
13. Lipschitz DA, Dugard J, Simon MO, Bothwell TH y Charlton RW: The site of action of desferrioxamine. *Br J Haematol* 20:395-404, 1971.
14. Bommer J, Waldherr R, Wieser PM y Ritz E: Concomitant lysosomal storage of iron and aluminum in dialysis patients. *Trace Elements* 1:10-13, 1985.
15. Drüeke TB, Lacour B, Touam M, Jucquel JP et al: Effect of aluminum on haematopoiesis. *Kidney Int* 29 Suppl 18:S45-S48, 1986.
16. Bothwell TH, Charlton RW, Cook JD y Finch CA: Iron metabolism in man. Blackwell Scientific Publications LTD, 1979.
17. Fernández I, Fernández JL, Rodríguez R, Sanz-Medel A y Cannata JB: Influencia del grado de saturación de los depósitos de hierro en la absorción gastrointestinal de aluminio. *Rev Esp Fisiol* 45:33-40, 1989.
18. Pérez Alvarez P y Rodrigo Sáez L: Metabolismo del hierro y anemia ferropénica. *Gastrum* 47-62, 1979.
19. Antoja F y Casamajó MT: Metabolismo del hierro plasmático y sus mecanismos de transporte. *Quím Clín* 4:165-169, 1985.
20. Rasmussen BE: La absorción del hierro: conocimientos y controversias. *Lancet* (ed. esp.) 3:196-197, 1983.
21. De Broe ME, Van de Vyver FL, Silva FJ et al: Measuring aluminium in serum and tissues: overview and perspectives. *Nefrología* 6 (Suppl.) 41-46, 1986.
22. Johnson G, Jacobs P y Purves LR: Iron binding proteins of iron absorbing-rat intestinal mucosa. *J Clin Invest* 71:1467-1476, 1983.
23. Gokal R, Millard PR, Weatherall DJ, Callender STE, Ledingham JGG y Oliver DO: Iron metabolism in haemodialysis patients. *Quat J Med* 191:369-391, 1979.
24. García Alonso JL, Blanco E, Fernández Martín JL y Cannata JB: Aluminio, transferrina y desferrioxamina. Un nuevo enfoque. *Nefrología* 1:105, 1989.
25. Kaiser L, Schwartz KA, Burnatowska-Hledin MA y Mayor GH: Microcytic anemia secondary to intraperitoneal aluminium in normal and uremic rats. *Kidney Int* 26:269-274, 1984.
26. Touam M, Martínez F, Lacour B, Bourdon R, Zingraff J, Di Giulio S y Drüeke T: Aluminium-induced reversible microcytic anemia in chronic renal failure: clinical and experimental studies. *Clin Nephrol* 19:295-298, 1983.
27. Cook JD y Lipschitz DA: Mediciones clínicas de la absorción de hierro. En *Clínica hematológica. Radioisótopos en hematología*. Salvat, S. A., España, 26-41, 1979.
28. Friedman BI: Radionuclide studies associated with abnormalities of iron. Absorption of iron. En *Nuclear medicine in vitro*. Rothel B. Lippincott Company. Filadelfia, Toronto, 86-88, 1974.
29. Allende MT, Fernández Menéndez MJ, Fernández Soto I, Díaz López JB y Cannata Andía JB: Interferencia del hidróxido de aluminio en la absorción de hierro (Fe<sup>59</sup>). Valoración de la radiactividad residual en heces. *Rev Esp Med Nucl* 8:3-7, 1989.
30. Cook JD, Layrisse M y Finch CA: The measurement of iron absorption. *Blood* 33:421-429, 1969.
31. Finch CA y Huebers MD: Perspectives in iron metabolism. *N Engl J Med* 306:1520-1528, 1982.
32. Fernández Soto I, Allende MT, Díaz de Greñu MC, Macho M, Díaz López JB y Cannata JB: Efecto del hidróxido de aluminio sobre la absorción de hierro en ratas con función renal normal. *Nefrología* 6:71-74, 1986.