

Tratamiento de la intoxicación aluminica con L₁

R. Elorriaga, J. L. Fernández Martín, P. Menéndez Fraga, P. Menéndez Rodríguez, M. Naves y J. B. Cannata

Unidad de Investigación. Metabolismo Oseo y Mineral. Hospital Central de Asturias. Universidad de Oviedo. Oviedo. España.

Introducción

La desferrioxamina (DFO), quelante del hierro (Fe) y aluminio (Al), es el único tratamiento eficaz movilizando estos metales de los depósitos tisulares. En ambos casos la DFO presenta los inconvenientes de ser cara, inactiva por vía oral y no exenta de efectos tóxicos colaterales a su utilización¹⁻³.

Una nueva droga en estudio, la 1,2-dimetil-3-hidroxipiridín-4-ona (L₁) esta demostrando ser efectiva movilizando Fe por vía oral^{4,5}. Los últimos estudios a largo plazo, realizados en pacientes talasémicos y en animales sobrecargados de Fe, muestran su eficacia sin la aparición de efectos colaterales y con una excelente tolerancia⁶⁻⁸. Al igual que la DFO la L₁ podría utilizarse como tratamiento alternativo en la intoxicación aluminica de la IRC.

Un estudio preliminar a corto plazo demostró que la L₁ aumentaba la eliminación del Al tras la administración oral a ratas intoxicadas con función renal normal (FRN) y con IRC⁹. El objetivo de este estudio a largo plazo realizado en ratas con IRC intoxicadas con Al fue: evaluar el efecto de la L₁ en la movilización del Al tisular, comparando su eficacia con dosis equivalentes de DFO¹⁰.

Material y métodos

Veintidós ratas Wistar macho de 3 meses de edad y peso medio de 416 ± 25 g se sometieron a insuficiencia renal crónica (IRC), intoxicación aluminica y tratamiento según el siguiente esquema:

1..... 9 semanas	1 semana... 6 semanas... 1 S...
NFX Intoxicación	Tratamiento (GII, III y IV)

La IRC se obtuvo por nefrectomía (NFX) 5/6 realizada con la técnica previamente descrita¹¹, y la intoxicación aluminica por vía intraperitoneal (IP) se llevó a cabo adminis-

trando una dosis total de 42 mg de Al (2,5 mg/kg/día, 5 días/semana).

Al cuarto día de finalizar la intoxicación se recogió orina de 24 horas, se extrajo sangre por punción en la vena yugular y se cortó el rabo a 8 cm del extremo distal. A continuación, los animales se dividieron en cuatro grupos. El grupo I (n = 6) se sacrificó y se utilizó como control de tejidos postintoxicación (hígado y tibias). Los otros tres iniciaron distintos tratamientos, administrando: al grupo II (n = 5), DFO IP (30 mg/kg/día, 5 días/semana); al grupo III (n = 5), placebo oral (suero fisiológico a pH = 2,7), y al grupo IV (n = 6), L₁ oral a pH = 2,7 (50 mg/kg/día, 5 días/semana).

Al cuarto día de finalizar el tratamiento, y tras recoger las muestras de sangre y orina, se sacrificaron los animales, se cortó una segunda muestra de rabo, 3 cm por encima del corte anterior, y se separaron los tejidos (hígado y tibias).

Estudio bioquímico y hematológico

En suero se determinó: Al, hierro, calcio, fósforo, creatinina y transaminasas; y en orina de 24 horas: Al, hierro, calcio, fósforo, creatinina, proteínas y albúmina. En sangre total (tras el tratamiento), hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas.

La determinación de Al se realizó por espectrometría de absorción atómica (EAA) en horno de grafito HGA-600, muestreador automático AS-60 y espectrómetro con corrector de fondo Zeeman Z-300 (Perkin-Elmer), en habitación libre de partículas (clase 100), siguiendo la metodología detallada en publicaciones anteriores¹².

Los demás parámetros bioquímicos se determinaron con el método Boehringer Mannheim para un sistema BM/Hitachi 705, y los parámetros hematológicos, con un Coulter® T660.

Al en tejidos por EAA

Se cuantificó Al de las dos vértebras de rabo más próximas al corte realizado a todos los animales, antes y después del tratamiento, y en hígado y tibia derecha del grupo I tras la intoxicación y de los grupos II, III y IV tras el tratamiento.

Los tejidos se trataron en reactores de teflón a alta presión, disolviendo 0,5 g de muestra en 1 ml de HNO₃ concentrado (Merck, Suprapur) hasta su total disolución. Pos-

Correspondencia: Dr. J. B. Cannata.
Unidad de Investigación.
Metabolismo Oseo y Mineral.
Hospital Central de Asturias
Apto. 243.
33006 Oviedo.

teriormente, tras llevar el volumen hasta 25 ml con agua ultrapura (NANOpure II), se cuantificó el Al aplicando la misma técnica que para suero y orina.

Estudio histológico e histomorfometría

Se realizó en la tibia izquierda de los animales del grupo I tras la intoxicación y en la de los grupos II, III y IV tras el tratamiento. A este estudio se incorporó un quinto grupo, GV (n = 4), cuya tibia izquierda se utilizó como control de histología ósea normal en ratas de la misma edad (siete meses).

Las muestras se fijaron en alcohol de 70° hasta su inclusión en metil metacrilato. Con microtomo Polycut se obtuvieron cortes de 5 µ, donde se realizaron las tinciones habituales de Von-Kossa y tricómico de Goldner y la de aurín-tricarboxílico (aluminón) para determinar depósitos de aluminio.

La histomorfometría se realizó, por análisis semicuantitativo, en morfómetro Videoplan de Zeiss. Se determinaron cuatro parámetros de histomorfometría ósea: VH = % de hueso trabecular en el área medular, VO/VH = % de osteoide relativo al hueso trabecular, VO/VT = % de osteoide en el área medular y EO = espesor medio de las superficies cubiertas de osteoide.

Análisis estadístico

Las medidas cuantitativas antes y después del tratamiento se compararon con la t de Student. La evaluación estadística para diferencias entre grupos pre y postratamiento se hizo por análisis de varianza con posterior aplicación del procedimiento Tukey HSD de comparaciones múltiples y por el test de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos según los requerimientos de las variables.

Resultados

La tabla I (a y b) muestra los resultados analíticos del suero y orina de 24 horas tras la intoxicación aluminica (n = 22) y tras el tratamiento con DFO, placebo y L₁.

No hubo diferencias con respecto a los parámetros hematológicos entre los tres grupos al final del tratamiento, si bien fue el grupo de L₁ el que mayor Hb y Htc presentó (14,8 ± 1 g/dl y 43 ± 3 %).

En los tejidos no hubo diferencias entre grupos con respecto al descenso del Al hepático (88 ± 20 µg/g postintoxicación vs 64 ± 13, 66 ± 14 y 64 ± 10 µg/g post-DFO, placebo y L₁).

En el hueso, la figura 1 muestra la concentración de Al en vértebras de rabo de los tres grupos antes y después

Tabla Ia. Bioquímica del suero

	Postintoxicación (n = 22)	Postratamiento		
		DFO (n = 5)	Placebo (n = 5)	L ₁ (n = 6)
Al (µg/l)	706 ± 222 *	57 ± 30	54 ± 6	39 ± 12
Fe (µg/l).....	177 ± 63	143 ± 30	181 ± 47	212 ± 15 **
Ca (mg/dl).....	10,8 ± 0,43	10,3 ± 0,7	10,4 ± 0,2	11,6 ± 1,3
P (mg/dl).....	8,8 ± 2,5	8,5 ± 2	8,3 ± 1,4	7,1 ± 2
Cr (mg/dl).....	1,35 ± 0,28	1,7 ± 0,4	1,3 ± 0,15	1,3 ± 0,11

* p < 0,001, postintoxicación vs postratamiento.

** p < 0,01, comparación entre grupos postratamiento; L₁ vs DFO.

Tabla Ib. Bioquímica en orina de 24 horas

	Postintoxicación (n = 22)	Postratamiento		
		DFO (n = 5)	Placebo (n = 5)	L ₁ (n = 6)
Al (µg/24 h)	256 ± 121 *	11,5 ± 6	16,7 ± 7	11,7 ± 4
Fe (µg/24 h).....	9,5 ± 4	8,6 ± 2	10,5 ± 8	16,4 ± 9
Ca (mg/24 h).....	4,7 ± 3	2,3 ± 2,6	3,4 ± 1,2	8 ± 3 **
P (mg/24 h).....	7 ± 8	1 ± 1,3	0,1 ± 0,1	0,06 ± 0,04
ClCr (ml/min).....	0,75 ± 0,25	0,51 ± 0,15	0,8 ± 0,04	0,7 ± 0,12

* p < 0,001, postintoxicación vs postratamiento.

** p < 0,05, comparación entre grupos postratamiento; L₁ vs DFO y placebo.

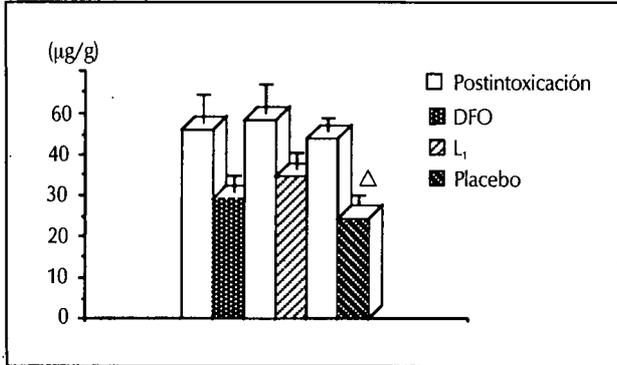


Fig. 1.—Al en vértebra antes y después del tratamiento. Δ ($p < 0,05$, L₁ vs placebo).

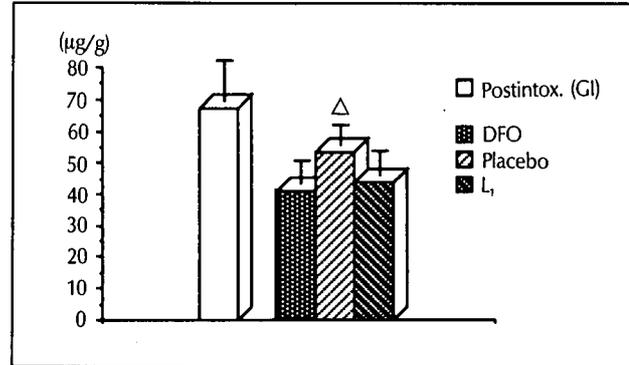


Fig. 2.—Al en tibia postintoxicación y postratamiento. Δ ($p < 0,05$, L₁ y DFO vs placebo).

del tratamiento, y la figura 2, la concentración de Al en tibia del grupo I tras la intoxicación y de los grupos II, III y IV tras el tratamiento.

Histológicamente, la tinción de aluminón no detectó diferencias cuantitativas entre los depósitos de Al de los distintos grupos, pero sí en la localización, dentro del hueso mineralizado, en el grupo de la L₁. La tabla II refleja la significativa mejoría que la L₁ consiguió en los parámetros de mineralización.

Discusión

Los resultados de este estudio en cuanto a la movilización de Al a largo plazo muestran al hígado como un compartimiento no especialmente deplecionado de este metal por ninguno de los dos quelantes, mientras que en el hueso la L₁ fue tan efectiva como la DFO, disminuyendo el contenido de Al con respecto al placebo. Los resultados histológicos y algunos parámetros bioquímicos tras el tratamiento sugieren un mecanismo de acción diferente. La histología mostró una mayor y más avanzada mine-

ralización en el grupo de la L₁, donde se localizaron depósitos de Al dentro del hueso mineralizado; en los grupos DFO y placebo, aunque la disminución de las superficies cubiertas de osteoide fue superior con la DFO, no hubo diferencias significativas entre ellos ni con respecto al grupo GI.

En el estudio bioquímico, el aumento del Fe sérico (L₁ vs DFO) no afectó a la hemoglobina y hematócrito (ligemente superior en el grupo de la L₁), y la aumentada eliminación de calcio (en L₁ vs DFO y placebo), junto a la generalizada disminución en la eliminación de fósforo, parecen apuntar hacia alguna interrelación Al-fósforo que interfiere mecanismos fisicoquímicos implicados en la captación de calcio por el hueso. Si es así, es posible que el Al y los quelantes, no sólo por movilizarlo, sino también por modificar su relación con el fósforo, actúen en los equilibrios químicos naturalmente modulados o moduladores de las variaciones en PTH y vitamina D.

Hasta el momento, los resultados de este estudio muestran que cuantitativamente la L₁ es capaz de movilizar Al de manera similar a la DFO, mientras que además cualitativamente parece tener un mayor y más específico efecto sobre el hueso.

Tabla II. Parámetros de histomorfometría ósea del GI, de los grupos postratamiento y del control de normalidad en ratas de la misma edad

	VH	VO//VH	VO//VT	EO
	% hueso trabecular	% osteoide relativo a VH	% osteoide absoluto	Espesor de osteoide (mm)
Intoxicación	18 ± 4	44 ± 11	8 ± 1	0,1 ± 0,01
DFO	14 ± 1,5	35 ± 9	5 ± 1	0,08 ± 0,01
Placebo	18 ± 4	43 ± 6	8 ± 2	0,09 ± 0,008
L ₁	16 ± 6	23 ± 11 *	4 ± 2 *	0,06 ± 0,02
Cont.	14 ± 2	1 ± 0,2	0,2 ± 0	0

* $p < 0,05$. L1 vs postintoxicación y placebo.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido subvención parcial de FIS 91/0329 y FICYT.

Bibliografía

1. Olivieri NF, Buncic JR, Chew E, Gallant T, Harrison RV, Keenan N, Logan W, Mitchell D, Ricci G, Taylor M, Freedman M: «Visual and auditory neurotoxicity in patients receiving subcutaneous desferrioxamine infusions». *N Engl J Med* 314:869-873, 1986.
2. Gallany T, Freedman MH, Vellend H, Francombe W: «Yersinia sepsis in patients with iron overload treated with desferrioxamine». *N Engl J Med* 314:1643, 1986.
3. Veis J, Contiguaglia R, Klein M, Mishel J, Alfrey A, Shapiro JJ: «Mucormycosis associated with desferrioxamine use in hemodialysis patients». *Kidney Int* 31:247, 1987.
4. Kontoghiorghes GJ, Hoffbrand AV: «Orally active alpha-ketohydroxypyridine iron chelators intended for clinical use: *in vivo* studies in rabbits». *Br J Haematol* 62:607-613, 1986.
5. Kontoghiorghes GJ, Shepard L, Hoffbrand AVB, Charalambous J, Tikerpae J, Pippard MJ: «Iron chelation studies using desferrioxamine and the potential oral chelator, 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one in normal and loaded rats». *J Clin Pathol* 40:404-408, 1987.
6. Kontoghiorghes GJ, Nasser-Sina P, Goddard JG, Barr JM, Norley P, Sheppard LN: «Safety of oral iron chelator L₁». *Lancet* 457-458, 1989.
7. Töndury P, Kontoghiorghes GJ, Ridolfi-Lüthy A, Hirt A, Hoffbrand AV, Lottenbach AM, Sonderegger T, Wagner HP: «L₁ (1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one) for oral iron chelation in patients with beta-thalassaemia major». *Br J of Haematology* 76:550-553, 1990.
8. Olivieri NF, Templeton DM, Korn G, Chung D, Hermann C, Freedman MH, McClelland RA: Evaluation of the Oral Iron Chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L₁) in Iron-loaded patients. *Annals of New York Academy of Sciences* 612:369-377, 1990.
9. Olaizola I, Fernández Martín JL, Díaz López B, Kontoghiorghes G, Cannata JB: «Treatment of aluminium (Al) intoxication: Preliminary study with a new drug which is active orally». *Kidney Int* 37:1611, 1990.
10. Olivieri NF, Koren G, Hermann C, Bentur Y, Chung D, Klein J, St Louis P, Freedman MH, McClelland RA, Templeton DM: «Comparison of oral iron chelator L₁ and desferrioxamine in iron-loaded patients». *Lancet* 336:1275-1279, 1990.
11. Virgós MJ, Soto IF, Naves M, Cannata JB: «Acerca de la insuficiencia renal crónica experimental». *Nefrología* 10:103-104, 1990.
12. Sanz Medel A, Rodríguez Roza R, González Alonso R, Noval Vallina A, Cannata JB: «Atomic spectrometric methods (Atomic absorption and inductively coupled plasma atomic emission) for the determination of aluminium at the parts per billion level in biological fluids». *J Anal Atomic Spectr* 2:177-184, 1987.