

# Incorporación de Al y efecto sobre el metabolismo del hierro en la línea celular osteoblasto «like» (MG-63)

S. J. McGregor\*, M. J. Fernández Menéndez, M. L. Naves, R. Elorriaga, J. H. Brock\* y J. B. Cannata

Unidad de Investigación. Metabolismo Oseo y Mineral, Hospital Central de Asturias, Oviedo (España).

\* Department of Immunology, Western Infirmary, Glasgow, G11 6NT, UK.

## Introducción

La acumulación de aluminio (Al) en el hueso es una conocida complicación de la hemodiálisis, pero se sabe muy poco acerca del mecanismo de incorporación de dicho Al. En el plasma, el Al se une principalmente a la transferrina (Tf), que es la transportadora del hierro (Fe). Recientes hallazgos clínicos y experimentales sugieren que Al y Fe comparten importantes vías biológicas<sup>1</sup>. En particular hemos demostrado que en linfocitos, en la línea celular eritroleucémica K562 y en células de epitelio intestinal el Al era incorporado por el mismo mecanismo que el Fe (endocitosis mediada por el receptor de T<sup>0</sup>)<sup>2-3-5</sup> y que el complejo Al-Tf podría interferir con la normal incorporación de Fe *in vivo* e *in vitro*<sup>5,6</sup>. Es posible que el Al tenga el mismo efecto sobre los osteoblastos. En este trabajo se ha examinado el efecto del Al-Tf, Al-cloruro y Al-citrato en la línea celular osteoblasto «like» (MG-63) para determinar si estas células acumulan Al y si éste interfiere con la normal incorporación del Fe.

## Material y métodos

Todas las células fueron cultivadas en frascos de 25 cm<sup>3</sup> en medio de cultivo sin suero y enriquecido con albúmina.

### Estudio 1: Captación del Al en osteoblastos

Las células MG-63 se incubaron con Al-Tf, Al-cloruro o Al-citrato en un rango de concentraciones durante 24 horas. Tras lavar con «phosphate buffered saline» (PBS) y li-

sar las células con 0,05 % de dodecyl sulfato de sodio (SDS), se midió la captación del Al por espectrometría de absorción atómica.

### Estudio 2: Efecto del Al sobre la captación de Fe en osteoblastos

a) *Ocho horas de incubación:* Las células se incubaron con <sup>59</sup>Fe-Tf durante ocho horas en presencia de Al-Tf, Fe-Tf o apo Tf. Posteriormente, tras lavar tres veces con PBS y lisar con SDS 0,05 %, se dividieron las muestras en dos lotes: 75 % para medición de captación de <sup>59</sup>Fe y 25 % para medir contenido de DNA. La captación de <sup>59</sup>Fe fue expresada como pg Fe incorporado/ $\mu$ g DNA.

b) *Setenta y dos horas de incubación:* En este segundo estudio los frascos fueron preincubados durante 64 horas con Al-Tf, Fe-Tf o apo Tf. Posteriormente se siguió la metodología descrita en el estudio 1. Por tanto, se totalizaron 64 horas de preincubación más ocho horas de la incubación descrita (72 horas).

## Resultados

### Captación del Al en osteoblastos

La transferrina facilitó la captación del Al, siendo este efecto dosis-dependiente. La incorporación del Al como cloruro o citrato fue menor y no dosis-dependiente.

### Efecto del Al sobre la captación del Fe en osteoblastos

Las células cultivadas durante ocho horas con Al-Tf y Fe-Tf tuvieron una captación de Fe un 48 % menor que las células cultivadas con apo Tf. Sin embargo, cuando las células fueron preincubadas con Al-Tf, Fe-Tf o apo Tf durante 64 horas antes de añadir <sup>59</sup>Fe-Tf, los resultados fueron diferentes (fig. 1). En todos los grupos, a las 72 horas la captación de Fe fue mayor que a las ocho horas, pero

Correspondencia J. B. Cannata.  
Unidad de Investigación.  
Metabolismo Oseo y Mineral.  
Hospital Central de Asturias.  
Apartado 243. Oviedo 33080.

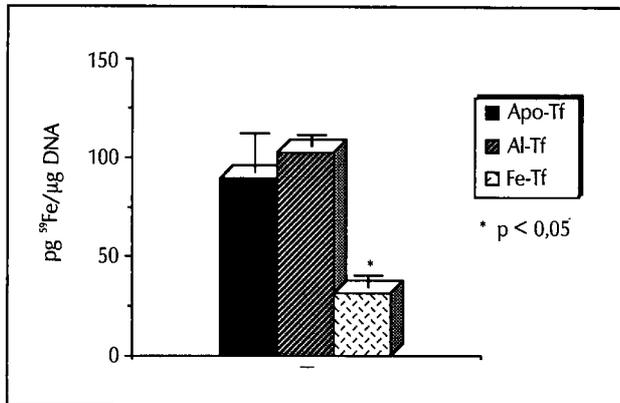


Fig. 1.—Fe captado por las células tras ocho horas de incubación después de un período previo de incubación de 64 horas (total: 72 horas).

mientras que con Fe-Tf la captación de <sup>59</sup>Fe siguió siendo significativamente menor que con apo Tf, con Al-Tf fue similar o ligeramente superior.

### Discusión

Se demostró que las células MG-63 captaron Al por endocitosis de Tf mediada por el receptor de transferrina, como se ha mostrado previamente en linfocitos y en la línea celular eritroleucémica K562<sup>3,6</sup>. La captación de Al por Al-Tf fue dosis-dependiente, en contraste con los resultados usando Al-citrato y cloruro, en el cual se obtuvo casi el mismo nivel de captación de Al mostrado con todas las concentraciones del Al. Los resultados sugieren que la Tf, más que citrato o cloruro, es necesario para presentar el Al de forma que las células pueden captarlo y de este modo, la Tf sería la transportadora fisiológica del Al hacia el interior del osteoblasto.

El efecto del Al sobre la captación de Fe fue diferente a corto y medio/largo plazo. Durante ocho horas de incubación (incubación corta), el Al interfirió con la captación de Fe disminuyéndolas. Este efecto podría ser debi-

do a que durante ese primer período el Al estaría entrando en la célula compitiendo e interfiriendo con la entrada de Fe. Este resultado es parecido al efecto de Al sobre células intestinal<sup>4</sup> y eritroleucémica<sup>6</sup>. Sin embargo, después de 72 horas de incubación, la captación de Fe se normalizó. Es posible que las células estuvieran deplecionadas de Fe por el efecto inicial del Al, pero posteriormente se recuperen y sean capaces de incorporar Fe, esta respuesta coincidiría con los datos aportados por Abreo y cols.<sup>7</sup>. Por tanto, estos resultados sugieren que inicialmente el Al disminuye los mecanismos de captación celular del Fe, pero éstos alcanzan nuevamente valores dentro de la normalidad probablemente debido a que por el primer efecto del Al las células están carentes en Fe.

### Agradecimientos

Este trabajo ha recibido apoyo de FICYT y del Ministerio de Educación y Ciencia.

### Bibliografía

1. Cannata JB: «The interaction of iron and aluminium in chronic renal failure». En *Renal Osteodystrophy*. Oxford University Press, Oxford, UK, 1992.
2. McGregor SJ, Brock JH, Halls D: «The role of transferrin and citrate in cellular uptake of aluminium». *Biol Metals* 4:173-175, 1991.
3. McGregor SJ, Naves ML, Birly AK, Russell NH, Halls D, Junor BJR, Brock JH: «Interaction of aluminium and gallium with human lymphocytes: the role of transferrin». *Biochim Biophys Acta* 1095:196-200, 1991.
4. Fernández Menéndez MJ, Fell GS, Brock JH, Cannata JB: «Aluminium uptake by intestinal cells: effect of iron status and precomplexation». *Nephrol Dial Transpl* 6:672-674, 1991.
5. Cannata JB, Gómez Alonso C, Fernández Menéndez MJ, Fernández Soto I, McGregor SJ, Menéndez Fraga, P, Brock JH: «Iron uptake in aluminium overload: *in vivo* and *in vitro* studies». *Nephrol Dial Transplant* 6:637-642, 1991.
6. McGregor SJ, Naves ML, Oria R, Vass JK, Brock JH: «Effect of aluminium on iron uptake and transferrin receptor expression by human erythroleukaemic K562 cells». *Biochem J* 272:377-382, 1990.
7. Abreo K, Glass J, Sella L: «Aluminium inhibits hemoglobin synthesis but enhances iron uptake in Friend erythroleukaemic cells». *Kidney Int* 37:677-681, 1990.