

El sistema hematopoyético ante una anemia crónica grave: análisis y reflexiones sobre un modelo experimental*

Héctor Mayani

RESUMEN

Los modelos animales han jugado un papel fundamental en el estudio de la hematopoyesis, tanto en condiciones normales como en condiciones de estrés fisiológico. Uno de esos modelos lo caracterizó, durante los decenios de 1979 y 1980, Jaime Martínez Medellín y su grupo de investigadores de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). La investigación realizada por Martínez Medellín y sus colaboradores contribuyó a nuestro entendimiento acerca de la respuesta hematopoyética durante condiciones de pérdida crónica y grave de sangre. El estudio integral de ese grupo, que incluía aspectos bioquímicos, celulares y fisiológicos, generó información relevante y novedosa acerca de la biología del sistema hematopoyético en los mamíferos. En este artículo se analiza ese modelo y las contribuciones de Martínez Medellín.

Palabras clave: sistema hematopoyético, anemia crónica grave, modelo experimental, Jaime Martínez Medellín.

ABSTRACT

Animal models have played key roles in the study of hematopoiesis, both under normal conditions and under physiological stress. One such a model was characterized, during the 1970s and 1980s, by Dr. Jaime Martínez Medellín and his group at the Faculty of Sciences of the National Autonomous University of Mexico (UNAM). The work of Martínez Medellín and colleagues contributed to our understanding of the response of the hematopoietic system under conditions of severe and chronic blood loss. Their integral approach –including biochemical, cellular and physiological aspects of the hematopoietic response- gave important and novel information regarding the biology of the hematopoietic system in mammals. The purpose of this article is to present an overview of such an animal model and to describe some of the major contributions of Dr. Martínez Medellín.

Key words: Hematopoietic system, Chronic blood loss, experimental model, Jaime Martínez Medellín.

Sin lugar a dudas, el sistema hematopoyético es uno de los sistemas más dinámicos de nuestro cuerpo. En condiciones normales, las concentraciones de eritrocitos, leucocitos y plaquetas se mantienen constantes día con día y, sin embargo, a cada segundo millones de

esas células mueren y son removidas de la circulación. La razón por la que no nos percatamos de ello, y nuestro cuerpo no lo resiente, es porque constantemente se están produciendo nuevas células sanguíneas para compensar la pérdida diaria de las que han cumplido con su periodo de vida. Con base en métodos radiactivos y cinéticos, se ha calculado que en un adulto sano de 70 kg de peso, diariamente se producen alrededor de 2×10^{11} eritrocitos, 2×10^{11} plaquetas y 7×10^{10} leucocitos.¹

En el ser humano, tal y como ocurre en el resto de los mamíferos, las células sanguíneas se generan en el interior de los huesos, en la llamada médula ósea, a través de un complejo proceso conocido como hematopoyesis.² Si bien es cierto que el papel hematopoyético de la médula ósea se conoce desde 1868,³ no fue sino hasta hace 50 años, con los trabajos de Till y McCulloch,⁴ que se empezó a comprender en mayor detalle la biología del sistema hematopoyético.

* Este artículo está dedicado a la memoria del Dr. Jaime Martínez Medellín (1940-1995), pionero en México del estudio de la biología de la hematopoyesis y el metabolismo del hierro.

Correspondencia: Dr. Héctor Mayani. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc 330, colonia Doctores. México 06720 DF. Correo electrónico: hmayaniv@prodigy.net.mx.

Recibido: agosto 2012. Aceptado: septiembre 2012.

Este artículo debe citarse como: Mayani H. El sistema hematopoyético ante una anemia crónica grave: análisis y reflexiones sobre un modelo experimental. Rev Hematol Mex 2012;13(4):185-194.

El sistema hematopoyético

El sistema hematopoyético puede dividirse según el grado de madurez y linaje de las células que lo conforman. Tomando como base el primer parámetro, se han definido cuatro compartimientos hematopoyéticos: el primero de ellos está constituido por las células más inmaduras, llamadas células troncales, que son capaces de autorreplicarse y generar los distintos linajes sanguíneos. Estas células corresponden al 0.01% de las células hematopoyéticas presentes en la médula ósea.⁵ El segundo compartimiento corresponde a las células progenitoras (0.2% de las células de la médula ósea), que han perdido la capacidad de autorreplicación, pero tienen potenciales muy altos de proliferación.⁵ El tercer compartimiento incluye a las células precursoras, es decir, células que aún siendo inmaduras pueden reconocerse por sus características morfológicas. Estas corresponden a 99.8% de las células hematopoyéticas de la médula ósea. Finalmente, el cuarto compartimiento está formado por las células sanguíneas maduras, que se encuentran en la circulación.

De acuerdo con su linaje, las células hematopoyéticas se clasifican en eritroides (es decir, eritrocitos o glóbulos rojos), mieloides (incluyendo a los monocitos y a los distintos tipos de granulocitos), linfoideas (incluyendo a las células B, T y NK) y megacariocíticas (generadoras de las plaquetas). Si además de todas ellas añadimos a las células dendríticas, que pueden originarse a partir de células mieloides o linfoideas, es evidente que existen, al menos, diez linajes hematopoyéticos.

En la médula ósea, la producción de las células sanguíneas es regulada por una compleja red de distintos tipos celulares, incluidos los fibroblastos medulares, adipocitos, células endoteliales, osteoblastos y macrófagos, que constituyen el microambiente hematopoyético.⁶ Las células de ese microambiente producen, y en muchos casos secretan, diversas proteínas que estimulan o inhiben la hematopoyesis. Abundantes estudios, *in vivo* e *in vitro*, han demostrado que el microambiente hematopoyético es el encargado de regular la proliferación y la diferenciación de los diferentes tipos de células hematopoyéticas. Esta regulación ocurre a través de la interacción directa (contacto célula-célula) entre las células hematopoyéticas y las células del microambiente hematopoyético, o bien a través de la secreción de moléculas solubles (factores de crecimiento, interleucinas, quimiocinas, etc.) por parte de las células del estroma medular. Todos estos factores

juegan un papel fundamental; de hecho, en condiciones normales, la hematopoyesis procede bajo la interacción equilibrada de moléculas estimuladoras e inhibidoras.

El Dr. Jaime Martínez Medellín y su grupo de investigación

Es claro que en condiciones de estabilidad fisiológica el sistema hematopoyético es capaz de cubrir los requerimientos diarios en la producción de células sanguíneas; sólo basta con tomarnos pequeñas muestras de sangre todos los días durante una semana, para ver que nuestras concentraciones de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas permanecen constantes. Sin embargo, ¿qué ocurre cuando el organismo se encuentra en situaciones extremas de estrés fisiológico? ¿Cómo responde el sistema hematopoyético en el caso de, por ejemplo, la pérdida masiva y continua de sangre? ¿Qué cambios ocurren en la producción de células sanguíneas durante una anemia grave producida por sangrado? Estas son preguntas de gran relevancia biológica y médica que han sido objeto de intensos estudios a lo largo de varios años.

Si bien existen numerosos estudios clínicos a este respecto, gran parte de la información que se tiene hoy en día acerca de la dinámica hematopoyética y la integridad funcional del sistema hematopoyético bajo condiciones de pérdida grave de sangre, se ha obtenido a través de diversos modelos animales, la mayoría desarrollados en países del primer mundo. Ratones, ratas, conejos, perros, gatos y primates no humanos han servido para establecer esos sistemas experimentales.

Es interesante, sin embargo, que uno de esos modelos haya sido caracterizado en México por el Dr. Jaime Martínez Medellín y su grupo de colaboradores en la Facultad de Ciencias de la UNAM. Durante más de 15 años, entre 1975 y 1990, Jaime Martínez Medellín y su equipo, encabezado por Víctor Valdés López, Luisa Alba Lois y Alejandra Mainero del Paso, trabajaron en ese sistema, analizando la producción de las células sanguíneas en conejos, antes, durante y después de una anemia crónica grave inducida por sangrado. Los estudios realizados fueron minuciosos y detallados, cubrieron diversos aspectos a partir de una perspectiva bioquímica y celular.

Los estudios de este grupo dieron lugar a una docena de tesis de licenciatura y posgrado, varias presentaciones en congresos nacionales e internacionales y publicaciones en revistas indexadas.^{7,8,9} El modelo

animal estudiado por Jaime Martínez Medellín y sus colaboradores no era totalmente original; de hecho, estaba basado en modelos previos.^{10,11} Sin embargo, el enfoque de este grupo tenía varios aspectos originales que aportaron información novedosa. Muy probablemente, Martínez Medellín y su equipo constituyeron el primer grupo mexicano no clínico dedicado a la hematopoyesis experimental. Con este panorama en mente, en este artículo he intentado hacer un análisis, y expresar algunas reflexiones, acerca de las aportaciones que el Dr. Martínez Medellín y su grupo realizaron al estudio de la hematopoyesis en mamíferos.

Ahora bien, antes de iniciar ese análisis, valdría la pena saber que previo a su incorporación a la Facultad de Ciencias de la UNAM como profesor de tiempo completo, Jaime Martínez Medellín realizó el doctorado en la Universidad de California, en San Diego, en donde obtuvo el grado de Doctor en Ciencias (Ph. D.) en 1972. Bajo la dirección de Herbert Schulman, Jaime Martínez estudió la interacción de la Transferrina (Tf) con las células eritroides de conejo. En ese entonces se sabía que la transferrina es la proteína que transporta el hierro (Fe) en la circulación y lo lleva hacia la médula ósea para que se incorpore en las células eritroides y permita la síntesis del grupo hemo,¹² pieza fundamental en la estructura y función de la hemoglobina y algunas otras moléculas, como los citocromos. Sin embargo, no se conocía el mecanismo a través del cual la transferrina cede el hierro a las células precursoras de los eritrocitos.

Mediante el empleo de métodos de cultivo in vitro, y de moléculas marcadas radiactivamente, Martínez Medellín y Schulman demostraron que la transferrina no cede el hierro a nivel de la membrana plasmática, como muchos pensaban, sino que la transferrina y el hierro entran, en forma de complejo, a la célula eritroide y es en el interior de ésta donde la transferrina libera ese metal. Este fue, de hecho, el primer trabajo que demostró que la transferrina es internalizada en la célula eritroide.¹³ Hoy en día sabemos que la transferrina, cargada con hierro, se une a receptores específicos de membrana (antígeno CD71) y que el complejo CD71-Tf-Fe es internalizado en vesículas endocíticas. Una vez liberado el hierro en el interior celular, el complejo CD71-Tf regresa a la superficie (membrana plasmática) y finalmente la transferrina libre de hierro (ApoTf) se separa de su receptor para regresar a la circulación.¹⁴

El modelo experimental

Descripción del sistema

El modelo de estudio en el que trabajaron Martínez Medellín y sus colaboradores buscaba llevar al animal experimental a una condición de estrés fisiológico para valorar y caracterizar la capacidad de respuesta del sistema hematopoyético. La idea era inducir una anemia crónica grave, empleando condiciones que pudieran ser manipulables y que permitieran cuantificar diversos parámetros e identificar los distintos elementos que participan en esa respuesta. En este documento no se hará una descripción detallada de las metodologías empleadas, pues éstas ya han sido previamente reportadas,^{7,8,9} sólo se hará una breve descripción del sistema en términos muy generales.

El animal experimental es el conejo Nueva Zelanda blanco. En estos estudios se emplearon conejos entre 8 y 15 meses de edad y 2.0 a 3.5 kg de peso. Es decir, se trataba de conejos adultos. Los conejos fueron criados y mantenidos en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM y alimentados *ad libitum* con purina, zanahorias, lechuga y agua.

La anemia era inducida a través de punción cardiaca, extrayendo diariamente un volumen fijo de sangre durante un periodo de 15 días. Con la finalidad de determinar la capacidad de respuesta del sistema hematopoyético, el volumen de sangrado variaba de 3 a 12 mL de sangre por kg de peso del animal. Diariamente eran cuantificados diversos parámetros hematológicos, bioquímicos (por ejemplo, concentraciones de hemoglobina) y celulares (es decir, las concentraciones de diferentes poblaciones celulares, y su tamaño). Con la finalidad de analizar los cambios hematopoyéticos en la médula ósea, en ciertos días se sacrificaba al animal para obtener la médula ósea de los huesos largos (fémures, tibias y humeros), y las células se procesaban para determinar de sus características, en términos cuantitativos y cualitativos.

Respuesta hematopoyética ante la anemia inducida experimentalmente

Al igual que con la metodología, aquí se describirán los resultados de una manera general, porque ya se reportaron previamente.^{7,8,9} La primera observación realizada por estos investigadores fue que el grado de anemia y la respuesta hematopoyética del organismo eran directamente proporcionales al volumen de sangre extraída. Sin embargo, esta relación se mantenía solo en el rango de 3 a 9 mL. Es decir, cuando los animales eran sangrados 9 mL/kg de peso, la

anemia observada era más grave y la respuesta fisiológica era mayor que cuando se extraían 6 mL/kg; y bajo esta última condición, la anemia y la respuesta hematopoyética eran superiores a cuando se extraían 3 mL/kg de peso del animal. En cambio, si se extraían 9 o 12 mL/kg la respuesta fisiológica era la misma, lo que sugería que se había alcanzado el límite máximo de respuesta.⁷ En algunos experimentos se extrajeron volúmenes mayores (15 mL/kg), pero la mayor parte de los animales no lo soportaba y moría a los pocos días. Ante esto, los investigadores decidieron tomar como tratamiento estándar la extracción diaria de 10 mL/kg de peso durante 15 días. Es importante destacar que por medio del empleo de trasnferrina marcada con ¹²⁵I, los investigadores calcularon el volumen total de sangre en los conejos y determinaron que ese volumen corresponde a 60 mL/kg de peso, lo que significa que al extraer 10 mL/kg, a cada conejo se le extraía diariamente 17% de su volumen total de sangre.

A partir del primer día de sangrado había una notable disminución en la concentración de células rojas circulantes y de hemoglobina (Figura 1). Ambos parámetros alcanzaban sus concentraciones más bajas alrededor del día 5 de sangrado (27 y 32% de las concentraciones observadas en conejos sanos, respectivamente). Al mismo tiempo, se observaba un incremento muy significativo en las concentraciones de reticulocitos circulantes, lo que indicaba que el sistema hematopoyético había empezado a responder ante el sangrado. Seguramente, como consecuencia de lo anterior, a partir del sexto día se empezaba a ver una recuperación en las concentraciones de células rojas y hemoglobina y, de hecho, ambos parámetros alcanzaban un equilibrio a partir del noveno día, lo que indicaba que diario se estaba produciendo la misma cantidad de células rojas que la que se perdía por el sangrado. En ese periodo de equilibrio, las concentraciones de células rojas y hemoglobina correspondían a 48 y 43%, respectivamente, de las concentraciones en conejos sanos.

En esos mismos días también era evidente el equilibrio en las concentraciones de reticulocitos circulantes, que alcanzaban números cuatro veces por encima de los números observados en conejos sanos (Figura 1). Es importante indicar que en la etapa de equilibrio, los reticulocitos correspondían a 35% del total de células rojas circulantes, lo que representaba un incremento muy significativo considerando que en conejos sanos los reticulocitos corresponden a menos del 3% (Cuadro 1).

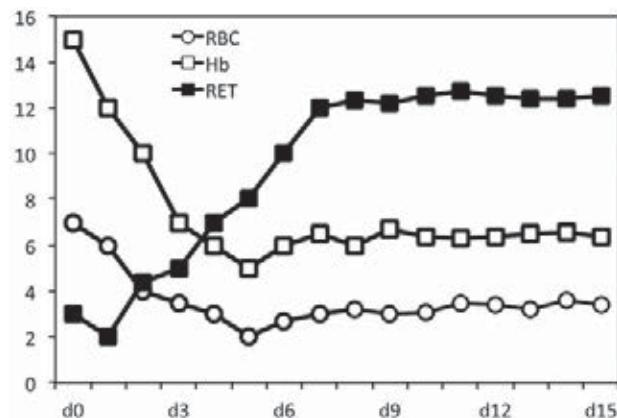


Figura 1. Cinéticas de células rojas circulantes (RBC; $\times 10^{12}$ /L), hemoglobina (Hb; g/dL) y reticulocitos (RET; $\times 10^{11}$ /L) en conejos a lo largo de un proceso de anemia inducida por sangrado diario (10 mL/kg de peso). Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>30$ animales estudiados.

Cuadro 1. Parámetros hematológicos en la sangre de conejos durante la anemia crónica inducida experimentalmente

Parámetro	Día 0	Día 15
Volúmen corpuscular medio (fL)	68.8	112.3
Reticulocitos circulantes (%)	2.6	35.1
Hemoglobina corpuscular media (pg)	23.6	33.9
Concentración media de hemoglobina Corpuscular (g/100 mL)	32.9	29.4
Células nucleadas ($\times 10^9$ /L)	6.1	11.8

Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>30$ animales estudiados. Día 0 corresponde a las concentraciones en conejos hematológicamente sanos y el día 15 a los conejos que han alcanzado la etapa de equilibrio durante el sangrado diario (10 mL/kg de peso).

La anemia producida en estas condiciones experimentales era de tipo macrocítica; es decir, las células rojas circulantes que se producían en respuesta al sangrado eran células de mayor tamaño que las normales. De hecho, el volumen de esas células aumentaba 1.65 veces (Cuadro 1). Es interesante que esta macrocitosis no se presentaba cuando el volumen extraído era de 3 o 6 mL/kg de peso del conejo. En concordancia con estos resultados, al analizar el tamaño de los eritrocitos y reticulocitos en la circulación se observaba un incremento en la frecuencia de células de mayor tamaño en ambas poblaciones celulares. Tal y como se aprecia en el Cuadro 2, el diámetro de los eritrocitos y reticulocitos aumentaba significativamente conforme el animal era inducido al estado de anemia.

Cuadro 2. Tamaño de las células eritroides circulantes en conejos durante la anemia crónica inducida experimentalmente

Diámetro (μm)	Eritrocitos		Reticulocitos	
	Día 0	Día 15	Día 0	Día 15
5.0 – 5.9	12.7	15.4	0	0
6.0 – 6.9	59.6	11.5	55.6	0
7.0 – 7.9	23.3	53.8	36.6	51.0
8.0 – 8.9	4.4	15.3	7.8	25.5
9.0 – 9.9	0	4.0	0	17.1
>10.0	0	0	0	6.4

Porcentaje de células en cada fracción según su diámetro. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>30$ animales estudiados. Día 0 corresponde a las concentraciones en conejos hematológicamente sanos y el día 15 a los conejos que han alcanzado la etapa de equilibrio durante el sangrado diario (10 mL/kg de peso).

El sangrado diario también estimulaba la síntesis de hemoglobina, de tal suerte que las concentraciones de hemoglobina por célula se incrementaban casi en 50% (Cuadro 1); sin embargo, debido al aumento en el tamaño de las células eritroides circulantes, la concentración media intracelular de esta proteína transportadora de O_2 se veía disminuida (Cuadro 1). Así, pues, se trataba de una anemia crónica macrocítica y ligeramente hipocrómica.

Basados en las cinéticas de eritrocitos, reticulocitos y hemoglobina, y en la medición de las concentraciones de hierro, los investigadores calcularon que una vez que el animal había llegado a la etapa de equilibrio, la producción diaria de células rojas era de 0.35×10^{11} por kg de peso; la producción diaria de hemoglobina correspondía a 1.05 g/kg y la cantidad de hierro movilizado para la síntesis de hemoglobina era de 3.52 mg/kg cada día.

En cuanto a las células no eritroides presentes en circulación, Martínez Medellín y sus colaboradores encontraron que, contrario a lo observado en el linaje eritroide, durante el periodo de sangrado se incrementaban las concentraciones de leucocitos, de tal forma que entre los días 12 y 15 las concentraciones de esas células casi se duplicaban con respecto a las previas a la inducción de la anemia (Cuadro 1). Es interesante que durante la inducción de la anemia, los investigadores observaron la aparición en la circulación de una subpoblación de células linfoides de un tamaño menor al de los linfocitos circulantes. De hecho, ellos los llamaron “microlinfocitos”.

Como era de esperarse, considerando su función hematopoyética, la médula ósea también tenía cambios muy

significativos. En primer lugar, se observaba un incremento de casi cuatro veces en el número total de células nucleadas (Figura 2), lo que dejaba ver la gran capacidad de expansión del tejido hematopoyético bajo condiciones de estrés fisiológico. Ahora bien, dentro de la población total de células hematopoyéticas, el análisis individual de las poblaciones eritroide, mieloide y linfoide mostró que cada una de ellas seguía cinéticas distintas. En condiciones normales, la población mayoritaria es la población mieloide (constituida por los precursores de los granulocitos y los monocitos) que corresponde a 58% del total de células nucleadas. Las células linfoides corresponden a 22%, mientras que las células eritroides corresponden a 20%. Conforme el periodo de sangrado avanzaba, se observaban incrementos en los números absolutos de todas ellas; sin embargo, esos incrementos alcanzaban distintas proporciones. En efecto, luego de 12 días de sangrado, las células mieloídes y linfoídes duplicaban sus números, mientras que el número de células eritroides se incrementaba alrededor de 11 veces (Figura 3).

El hecho de que la población eritroide mostrara cambios tan marcados en sus concentraciones sugería que podía haber cambios muy significativos en las proporciones de cada uno de los distintos estadios de maduración (proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático y eritroblasto ortocromático). Sin embargo, es interesante que esas proporciones permanecían constantes a todo lo largo del periodo de inducción de la anemia (Cuadro 3). El cambio más notorio observado en las células eritroides era en cuanto a su tamaño; en los cuatro estadios se

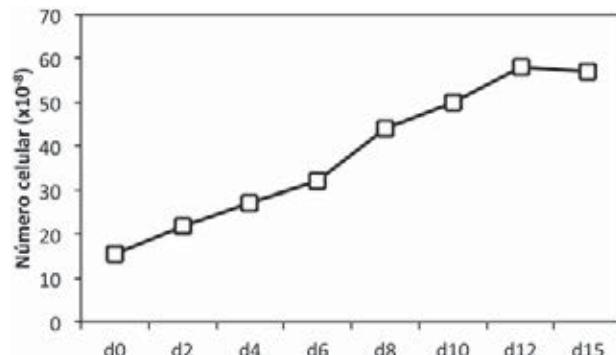


Figura 2. Cinética de las células nucleadas totales presentes en la médula ósea de conejos a lo largo de un proceso de anemia inducida por sangrado diario (10 mL/kg de peso). Las células de la médula ósea fueron obtenidas de los fémures, tibias y húmeros. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>10$ animales estudiados.

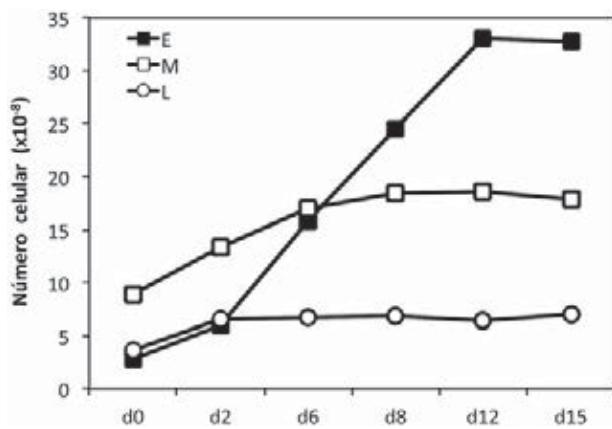


Figura 3. Cinéticas de las células nucleadas presentes en la médula ósea de conejos a lo largo de un proceso de anemia inducido por sangrado diario (10 ml/kg de peso). Las células de la médula ósea fueron obtenidas de los fémures, tibias y húmeros. E, células precursoras eritroides; M, células precursoras mieloídes; L, células precursoras linfoides. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>10$ animales estudiados.

Cuadro 3. Frecuencia y tamaño de las distintas poblaciones de los precursores eritroides presentes en la médula ósea

Eritroblasto	Frecuencia (%)		Diámetro (μm)	
	Día 0	Día 15	Día 0	Día 15
Proeritroblasto	4.6	3.9	16.4	18.9
Basófilo	9.8	11.1	14.6	16.2
Policromático	61.6	59.3	11.1	13.0
Ortocromático	24.4	27.2	9.2	11.2

Las células de la médula ósea se obtuvieron de los fémures, tibias y húmeros. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>10$ animales estudiados. Día 0 corresponde a las concentraciones en conejos hematológicamente sanos y el día 15 a los conejos que han alcanzado la etapa de equilibrio durante el sangrado diario (10 mL/kg de peso).

observaba incremento en el diámetro celular (Cuadro 3), que explicaba el incremento observado en el tamaño de reticulocitos y eritrocitos circulantes.

Recuperación hematopoyética después de la anemia

Como hemos visto, entre los días 9 y 15 de sangrado el sistema hematopoyético de los conejos alcanzaba un estado de equilibrio en el que diariamente se producía la misma cantidad de células sanguíneas que la que era removida durante la punción cardiaca. Ahora, la pregunta era: ¿Qué ocurre si se deja de sangrar a los animales? La respuesta

lógica, evidentemente, es que los parámetros hematológicos y hematopoyéticos regresarían a sus concentraciones normales; sin embargo, lo que no se sabía era en cuánto tiempo y de qué manera lo harían.

Los estudios acerca de la recuperación hematopoyética después de la anemia inducida sólo se realizaron en condiciones en las que la anemia se indujo al extraer 10 mL de sangre por kg de peso del animal; no se investigó el proceso de recuperación cuando se extraían volúmenes menores. Los investigadores observaron que, una vez que el sangrado se suspendía, las concentraciones de células rojas y de hemoglobina regresaban al rango normal cinco días después de la última punción (Figura 4). Entre los días 5 y 7 los reticulocitos circulantes también alcanzaban concentraciones normales. Es interesante el hecho de que desde los primeros días posteriores al último sangrado se empezaba a ver un descenso en el tamaño de las células rojas circulantes, de tal suerte que para el día 10, esas células ya habían alcanzado su tamaño normal. Lo mismo ocurría con la concentración de hemoglobina intracelular. Todos los parámetros anteriores dejaban ver que la recuperación hematopoyética al suspenderse el sangrado era inmediata, lo que tenía sentido si consideramos que en la etapa de equilibrio el sistema hematopoyético trabaja a su máxima capacidad.

En cuanto a las poblaciones celulares de médula ósea, las células mieloídes y linfoides mostraban regresos muy

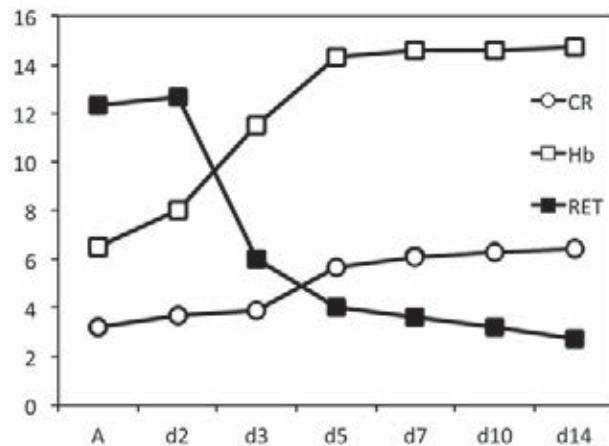


Figura 4. Cinéticas de células rojas circulantes (CR; $\times 10^{12} /L$), hemoglobina (Hb; g/dL) y reticulocitos (RET; $\times 10^{11} /L$) en conejos durante la recuperación posterior a un proceso de anemia inducido por sangrado diario (10 mL/kg de peso). Los días señalados corresponden a los días después del último sangrado. A, niveles observados en la etapa de equilibrio durante la anemia. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n>10$ animales estudiados.

rápidos a sus respectivos límites normales (entre los días 3 y 5 después del último sangrado). En cambio, las células eritroides tardaban más tiempo en regresar a la normalidad; de hecho, durante los primeros tres días después del último sangrado sus números permanecían muy similares a los observados en la etapa de equilibrio. Esto parecería tener lógica, considerando la necesidad de incrementar las concentraciones de células rojas para llegar al rango normal, que se alcanzaba 10 o 12 días después del último sangrado (Figura 5). Al igual que durante el periodo de anemia, no se observaban cambios muy significativos en cuanto a la proporción de cada estadio celular. Los diámetros de esas células empezaban a disminuir desde los primeros días hasta regresar a las concentraciones normales.

Análisis y observaciones

El sistema experimental caracterizado por Jaime Martínez Medellín y su grupo arrojó resultados muy interesantes. Algunos de ellos sirvieron para confirmar las observaciones de grupos que previamente habían trabajado en modelos muy similares;^{10,11} sin embargo, el trabajo del grupo mexicano aportó observaciones novedosas que ayudaron a entender la dinámica hematopoyética en condiciones de estrés fisiológico.

El primer punto que hay que destacar es que la condición fisiológica a la que se somete al animal experimental

es una condición extrema. Diariamente se extraía del conejo 17% de su volumen sanguíneo total; esto es el equivalente a extraer de un ser humano de 70 kg de peso 800 mL de sangre todos los días durante dos semanas. Este tipo de procedimientos, evidentemente, no se realizan en humanos por razones éticas; por tanto, no tenemos la certeza de que la respuesta del humano sea similar a la observada en el conejo. Sin embargo, los resultados del grupo de biólogos de la Facultad de Ciencias de la UNAM nos hacen pensar que podría ser así.

Ante la pérdida masiva y continua de sangre, el sistema hematopoyético responde en forma inmediata, incrementa la producción diaria de células eritroides en la médula ósea, que, a su vez, producen más células rojas circulantes. Llama la atención el hecho de que la magnitud de la respuesta en la médula ósea es distinta a la magnitud de la respuesta observada en la sangre periférica. En efecto, la población eritroide medular incrementa su número alrededor de 11 veces, mientras que en la circulación los reticulocitos incrementan su número un poco más de cuatro veces. Las razones detrás de esto no son claras, pero seguramente involucran la participación de una variedad de moléculas reguladoras producidas por el microambiente hematopoyético.⁶

Otro hecho importante es que la respuesta eritropoyética no sólo ocurre en el número de células producidas, sino también en sus características biológicas. Esto es, las nuevas células producidas son de mayor tamaño y contienen mayor cantidad de hemoglobina, lo que ayuda a contrarrestar el menor número de eritrocitos circulantes en la etapa de equilibrio comparado con el número observado en conejos sanos.

Es interesante que el sangrado no sólo provoca cambios en el linaje eritroide, sino que también se observan cambios en los linajes mieloide y linfoide. En ambos casos se incrementa el número de células precursoras de médula ósea y, a diferencia de lo que ocurre con el linaje eritroide, hay mayores concentraciones de leucocitos circulantes. Lo anterior apoya la idea de que los mecanismos reguladores de la respuesta eritropoyética y leucopoyética son distintos, tal y como ha sido evidenciado en otros modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*.^{15,16,17}

Una observación que siempre llamó la atención en cuanto a las células no eritroides era la aparición de células linfoides de menor tamaño; los llamados “microlinfocitos”. Desafortunadamente, nunca se realizó una investigación

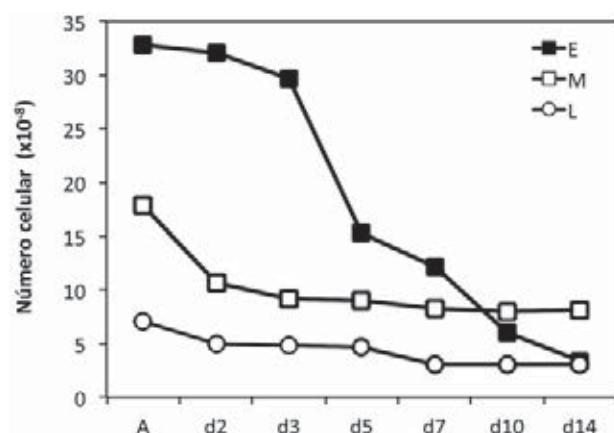


Figura 5. Cinéticas de las células nucleadas presentes en la médula ósea de conejos durante la recuperación posterior a un proceso de anemia inducido por sangrado diario (10 ml/kg de peso). Las células de la médula ósea fueron obtenidas de los fémures, tibias y húmeros. E, células precursoras eritroides; M, células precursoras mieloídes; L, células precursoras linfoídes. Los días señalados corresponden a los días después del último sangrado. A, niveles observados en la etapa de equilibrio durante la anemia. Los resultados corresponden a medias a partir de una $n > 10$ animales estudiados.

más profunda acerca de su identidad, su origen, sus características biológicas y su posible papel fisiológico. Sin embargo, podríamos aventurarnos y especular un poco al respecto. Hoy en día sabemos que en ciertas condiciones de estrés fisiológico, las células hematopoyéticas troncales y progenitoras salen de la médula ósea a la circulación, incrementando sus concentraciones marcadamente.¹⁸ En el humano, de hecho, este fenómeno ha sido aprovechado en la clínica para obtener células troncales circulantes y emplearlas en trasplantes autólogos y alogénicos.¹⁹ Con esto en mente, es posible que los “microlinfocitos” observados en la circulación durante la inducción de la anemia sean células hematopoyéticas primitivas que se movilizan hacia la sangre periférica en respuesta al estrés fisiológico inducido. Evidentemente, habría que demostrarlo.

En conjunto, todas las observaciones mencionadas en los párrafos anteriores demuestran claramente la gran capacidad de respuesta y adaptación del sistema hematopoyético de los conejos ante condiciones fisiológicas extremas. Aún cuando muchos de los mecanismos involucrados no fueron estudiados por Martínez Medellín y su equipo, esa respuesta es, sin duda, el resultado de la interacción entre las distintas poblaciones hematopoyéticas y la gran variedad de elementos que constituyen el microambiente hematopoyético.

Algunas reflexiones

El modelo experimental en el que trabajaron Martínez Medellín y su grupo no era un modelo desarrollado inicialmente por ellos mismos; se trataba de un modelo que estaba basado en modelos previos, desarrollados por grupos extranjeros enfocados al estudio de la eritropoyesis y el metabolismo del hierro.^{10,11} La aportación del grupo mexicano fue: caracterizar la respuesta hematopoyética de una manera más integral, buscando correlacionar aspectos bioquímicos y celulares a nivel de sangre periférica como de médula ósea.

En efecto, en este artículo se ha tenido una visión muy resumida de la caracterización del modelo experimental. En realidad, los trabajos de este grupo de investigación fueron mucho más amplios. Víctor Valdés se encargó de hacer la caracterización inicial del sistema; Luisa Alba purificó la transferrina y estuvo a cargo de los estudios de su metabolismo *in vivo*; Alejandra Mainero tuvo a su cargo los estudios de los leucocitos circulantes; Baltazar Becerril caracterizó el metabolismo del grupo hemo y

su interacción con el metabolito regulador denominado 2,3-DPG; Gabriel Pulido siguió la cinética del hierro y la transferrina durante el proceso de sangrado; Nora Vázquez estudió los parámetros hematológicos del conejo durante su crecimiento, desde el nacimiento hasta la etapa adulta; Pedro Ostoá expandió los estudios sobre el 2,3-DPG durante la anemia y el desarrollo; Héctor Mayani caracterizó a las células precursoras de la médula ósea durante la anemia y el periodo de recuperación; María Teresa Parás trabajó en la purificación y caracterización de la hemopexina, otra proteína que participa en el metabolismo del hierro; Patricia Velázquez determinó las concentraciones de ceruloplasmina (proteína que capta al cobre) durante la anemia; Epifanio Quiróz determinó las concentraciones de hierro en el hígado y músculo; Alejandro Cárdenas, Patricia Coello y Serafín Ramírez también participaron en la caracterización del sistema experimental.

A lo largo de todos esos años, Jaime Martínez Medellín contribuyó a la formación de varios estudiantes, algunos de los que hoy día son investigadores de tiempo completo en instituciones nacionales (Facultad de Ciencias y en los Institutos de Biotecnología y de Investigaciones Biomédicas, de la UNAM, y en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS) y extranjeras (Universidad de Illinois en Chicago).

Jaime Martínez Medellín siempre fue una persona muy crítica y se encargó de inculcar esa actitud en todos sus estudiantes y colaboradores. En ese tenor, una pregunta que nos podríamos hacer es: ¿Qué le faltó al trabajo de Jaime Martínez Medellín y su grupo? Desde mi particular punto de vista, hubo tres aspectos que no cumplieron con las expectativas creadas con base en el extenso trabajo realizado. En primer lugar, hay varios aspectos del modelo experimental que no fueron abordados y que pudieron haber arrojado información relevante. Por ejemplo, la biología de las células megacariocíticas y las plaquetas; la caracterización de los “microlinfocitos”; la identificación y cuantificación de factores reguladores de la hematopoyesis, como la eritropoyetina y algunos factores de crecimiento; la identificación y cuantificación de células progenitoras, tanto multipotenciales como las comprometidas a los distintos linajes hematopoyéticos; así como el estudio de algunos elementos del microambiente hematopoyético. En segundo lugar, la falta de interacción con grupos que en aquel momento dominaban el escenario hematológico en México; como el grupo del Instituto Na-

cional de Nutrición, que para ese entonces había realizado varios trabajos sobre hemólisis y eritropoyesis en otros modelos experimentales, en los que habían empleado perros y ratas.^{20,21} Seguramente, la interacción entre ambos grupos hubiera resultado muy fructífera. En tercer lugar, considerando el vasto trabajo realizado y la gran cantidad de información generada, es indudable que el grupo de Martínez Medellín debió haber publicado mayor número de artículos. Este es un aspecto que Jaime Martínez debió haber promovido con más firmeza.

Los que tuvimos la oportunidad de trabajar bajo la dirección del Dr. Jaime Martínez Medellín fuimos testigos de su brillantez científica, de su inagotable actitud crítica y de su buen humor ante la adversidad. Jaime nos enseñaba que para comprender un fenómeno biológico, teníamos que verlo desde un contexto integral; no debíamos quedarnos solo en la molécula o en la célula, teníamos que ir del gen al organismo y viceversa. Para mí, en lo personal, trabajar con Jaime significó la entrada al maravilloso mundo de la investigación científica, de la hematopoyesis y las células troncales. Un mundo al que entré justo hace 30 años y del que no tengo la más mínima intención de salir.

Me gustaría finalizar haciendo una última, y muy breve, reflexión. A lo largo de más de un siglo, los modelos animales han jugado un papel fundamental en el estudio de la hematopoyesis. A principios del siglo XX, Carnot y Deflandre, en Francia, propusieron por vez primera la existencia de un factor soluble estimulador de la eritropoyesis, a partir de estudios en los que sangraban a conejos para inducir un estado de anemia.²² En el decenio de 1950, Jacobson y sus colaboradores desarrollaron los primeros modelos de trasplante de médula ósea en ratones.²³ En esa misma década, en Filadelfia, Allan Ersley demostró la existencia de la eritropoyetina con base en estudios efectuados en conejos hechos anémicos por sangrado.²⁴ En el decenio de 1960 Metcalf y sus colaboradores, en Australia, demostraron la existencia de factores solubles reguladores de la producción de monocitos y granulocitos partiendo de observaciones hechas en ratones.²⁵ En 1961 Till y McCulloch, en Toronto, Canadá, demostraron la existencia de las células troncales hematopoyéticas a partir de experimentos hechos en ratones irradiados.⁴ En la actualidad, el mejor modelo para estudiar la hematopoyesis humana *in vivo* es trasplantando células humanas en ratones inmunodeficientes (ratones NOD-SCID).²⁶ Así pues, con este panorama en mente, es evidente que

siempre será importante el desarrollo y la caracterización de nuevos e innovadores modelos animales para estudiar la hematopoyesis de los mamíferos, y en particular, la hematopoyesis del ser humano.

REFERENCIAS

1. Wintrobe MM. Clinical Hematology. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981;35.
2. Mayani H, Flores-Figueroa E, Pelayo R, Montesinos JJ, Flores-Guzmán P, Chávez-González A. Hematopoyesis. *Cancerología* 2007;2:95-107.
3. Metcalf D, Moore MAS. Haemopoietic Cells. Holland: North-Holland Publishing, 1971;550.
4. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Rad Res* 1961;14:213-222.
5. Szilvassy SJ. The biology of hematopoietic stem cells. *Arch Med Res* 2003; 34:446-460.
6. Mayani H, Guilbert LJ, Janowska-Wieczorek A. Biology of the hemopoietic microenvironment. *Eur J Haematol* 1992;49:225-233.
7. Martínez-Medellín J, Valdes-López V, Alba-Lois L, Becerril B, Mayani H, Mainero A. A study of erythropoiesis and iron metabolism in the rabbit *in vivo*. I. Characterization and limits of the physiological response. *Arch Inv Med* 1991;22:309-315.
8. Alba-Lois L, Mainero A, Valdes-López VM, Benavides L, Martínez-Medellín J. A study of erythropoiesis and iron metabolism in the rabbit *in vivo*. II. Dependence of the response on iron storage and transport. *Arch Med Res* 1992;23:7-11.
9. Mayani H, Alba-Lois L, Martínez-Medellín J. Rabbit erythropoiesis during recovery from chronic anemia induced by bleeding. *Arch Inv Med* 1991;22:317-322.
10. Jacobs P, Finch CA. Iron for erythropoiesis. *Blood* 1971;37:220-230.
11. Chou AC, Broun GO, Fitch CD. Abnormalities of iron metabolism and erythropoiesis in Vitamin E-deficient rabbits. *Blood* 1978;52:187-195.
12. Schulman HM. Hemoglobin synthesis during rabbit reticulocyte maturation *in vitro*. *Biochim Biophys Acta* 1968;155:253-261.
13. Martínez-Medellín J, Schulman HM. The kinetics of iron and transferrin incorporation into rabbit erythroid cells and the nature of stromal-bound iron. *Biochim Biophys Acta* 1972;264:272-274.
14. Huebers HA, Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev* 1987;67:520-582.
15. Torok-Storb B. Cellular interactions. *Blood* 1988;72:373-385.
16. Murphy Jr. MJ. Polyfunctionality of hemopoietic regulators. The Metcalf Forum. Dayton: AlphaMed Press, 1994;326.
17. Mayani H, Guilbert L, Janowska-Wieczorek A. Modulation of erythropoiesis and myelopoiesis by exogenous erythropoietin in human long-term marrow cultures. *Exp Hematol* 1990;18:174-179.
18. Mayani H, Alvarado-Moreno JA, Flores-Guzmán P. Biology of human hematopoietic stem and progenitor cells present in circulation. *Arch Med Res* 2003;34:476-488.

19. Reddy RL. Mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells for transplantation. *Transfus Apher Sci* 2005;32:63-72.
20. Sánchez-Medal I, Pizzuto J, Rodriguez MH, Esposito L. Hemolysis and erythropoiesis. II. Reticulocytosis and rate of haemoglobin rise in haemolytic and deficiency anemias. *Brit JHaematol* 1969;17:343-348.
21. Sanchez-Medal L, Duarte L, Labardini J. Hemolysis and erythropoiesis. VI. A comparative study of the utilization of hemoglobin iron and transferrin iron by the erythropoietic tissue. *Blood* 1970;35:721-726.
22. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoïétique du sérum. *Compt Rend Acad d Sc* 1906;143:384.
23. Jacobson LO, Simmons EL, Marks EK, Eldredge JH. Recovery from radiation injury. *Science* 1951;113:510-511.
24. Erslev AJ. Humoral regulation of red cell production. *Blood* 1953;8:349-357.
25. Metcalf D. Summon up the Blood. AlphaMed Press 2000;214.
26. Kamel-Reid S, Dick J. Engraftment of immune-deficient mice with human hematopoietic stem cells. *Science* 1988;242:1706-1709.