

SUPERVIVENCIA ERITROCITARIA EN SUJETOS NORMALES DE QUITO

Dr. RODRIGO PIERRO y Dr. FRANK WEILBAUER
Escuela Politécnica Nacional,
Departamento de Radioisótopos y
Universidad Central
Facultad de Medicina, Quito

El conocimiento de los volúmenes sanguíneos (VST: volumen sanguíneo total; VET: volumen eritrocitario total; VPT: volumen plasmático total), la tasa de producción de los glóbulos rojos y la supervivencia eritrocitaria, son datos que hacen posible la correcta evaluación de la eritropoyesis. Y así es posible determinar si un individuo es normal, policitémico o anémico y, en términos fisiopatológicos de enorme importancia, si el aumento o disminución del volumen total de glóbulos rojos circulantes es debido a alteraciones de la supervivencia de los eritrocitos, a alteraciones en la tasa de su producción, o ambas. Igualmente en los estados hemorrágicos la supervivencia de los eritrocitos debe hallarse afectada una vez que por el hecho hemorrágico tan sólo una parte de una población eritrocitaria llega a culminar su recorrido vital normal. A parte de lo antedicho, la posibilidad de determinar volúmenes sanguíneos en forma rápida y precisa reviste suma

importancia, y por razones obvias, en aquellos casos en los que la oportuna y adecuada reposición de pérdidas aseguran el éxito quirúrgico.

La producción en escala comercial de isótopos radiactivos de elementos relacionados directa o indirectamente con los "sistemas biológicos" y el perfeccionamiento de instrumentos de medida de la radioactividad tales como los contadores de centelleo, han hecho posible llevar a cabo estudios metabólicos en laboratorios y hospitales con relativa facilidad.

La disponibilidad de isótopos radiactivos del hierro, fósforo, cromo, etc. abrió posibilidades impredecibles para el estudio de la eritropoyesis, con la elaboración de técnicas y métodos radioisotópicos que con ventaja iban a reemplazar los métodos tradicionales o a constituirse en técnicas originales de alcance no sospechado.

En el campo de la hematología, pudo demostrarse "in vitro" la incorporación del fósforo-32, cromo-51, po-

tasio-42² y torio-C¹ dentro de los glóbulos rojos, pasándose luego a evidenciar la posibilidad de introducir al organismo sus mismos glóbulos rojos ya marcados, y determinar "in vivo" su recorrido metabólico; iniciándose en este campo el uso y aplicación de los "trazadores biológicos". De entre los isótopos que fueron usándose para la determinación de los volúmenes sanguíneos, el cromo-51 llegó a ser el de elección. Se trataba de un radioisótopo gamma emisor de fácil medición en contadores de centelleo de pozo, la tasa de elusión del cromo-51 de los glóbulos rojos era relativamente pequeña en comparación con la del fósforo 32³,⁴, y su semivida física razonablemente larga (27.8 días) en comparación con la del K-42 (12.4 horas) lo cual exigía que las aplicaciones se efectuaran en sitios cercanos a los de producción del radioelemento.

La preocupación por hallar un método que permitiera la estimación del tiempo de vida de los eritrocitos, tuvo cumplida realización cuando Ashby⁷ en 1919 empleó con éxito su método que se basaba en la aglutinación diferencial de eritrocitos compatibles pero de distinto grupo sanguíneo, que eran inyectados a una persona o a un animal de experimentación (se inyectaba, por ejemplo, glóbulos rojos del grupo O en un receptor del grupo A). Así se pudo determinar con bastante exactitud la cantidad de eritrocitos que aglutinaban, y su disminución progresiva en las semanas y meses siguientes a la transfusión. Con este método que gozó de popularidad hasta 1953, se

acumuló una considerable cantidad de conocimientos relacionados especialmente con la hemólisis normal y patológica. Así se determinó correctamente que la supervivencia normal de los eritrocitos era de unos 120 días, observándose además que las curvas de desaparición no siempre eran lineales sino más bien curvilíneas o "exponenciales", con un aplastamiento progresivo hacia el final de la curva. Esto último llevó a evaluar la supervivencia eritrocitaria en términos de "media vida biológica" (es decir el tiempo necesario para que el 50% de los glóbulos rojos transfundidos fuese eliminado de la circulación) una vez que el "punto final" de la curva era de imprecisa determinación. Con la introducción de los isótopos radioactivos, estos métodos muy laboriosos, que requerían la fabricación de anti-sueros de gran potencia, una gran cantidad de sangre (casi 500 cc.) de un donador apropiado, y lo que era más importante, no permitían la determinación de la supervivencia eritrocitaria en su "propio" medio ambiente, fueron siendo descartados de la práctica diaria.

Las primeras técnicas radioisotópicas empleadas con el propósito de estudiar la supervivencia eritrocitaria utilizaron glicina marcada con N-15 o glicina marcada con C-14, partiendo de la base de esta glicina radioactiva se incorporaba metabólicamente en la protoporfirina y ésta a su vez pasaba a formar parte de la hemoglobina⁸. Estos nuevos trabajos confirmaron que la supervivencia eritrocitaria era de 120 días, y se obtuvieron datos de es-

pecial interés en cuanto a la vida de los glóbulos en la anemia perniciosa. Estos primeros métodos igualmente cayeron en desuso por dificultades técnicas en cuanto a la medición de la radioactividad como en el caso del N-15, o porque la semivida física era demasiado larga como en el caso del C-14. Con el empleo del Fe-59 siguieron obteniéndose datos útiles acerca de la vida de los glóbulos rojos, aunque este método tenía el grave inconveniente de que al final de la vida de los glóbulos rojos el hierro liberado era utilizado para la formación de nuevos eritrocitos, y como consecuencia no se producía una caída neta de la curva de actividad del hierro unido a la hemoglobina.

A partir de 1953, Read⁹⁻¹⁰, Ebaud⁸, Nelthceas¹¹ y Weinstein¹² entre otros introdujeron el Cr-51 como agente marcador para el estudio de la supervivencia eritrocitaria, partiendo de la base que el cromo se incorpora fácilmente dentro de los eritrocitos uniéndose firmemente a la hemoglobina. Con la demostración, ya señalada, de que la tasa de elusión del cromo-51 de los glóbulos rojos Cr-51 ($GICr^{51}$) era muy pequeña, fue posible determinar la supervivencia eritrocitaria siguiendo "in vivo" la tasa de desaparición del Cr-51 que previamente había sido introducido al organismo como parte integrante del trazador biológico $GICr^{51}$ (con glóbulos rojos del propio sujeto). Es de señalarse que los métodos que usaron Cr-51, no miden precisamente la "verdadera" supervivencia eritrocitaria; se los usa y

en forma amplia como medio de comparación entre la supervivencia eritrocitaria (semivida) de un caso patológico tal con la supervivencia eritrocitaria hallada en sujetos normales. Al presente, la bondad de estos métodos ha sido ampliamente probada: la semivida física del Cr-51 es corta de modo que se le somete al organismo a una cantidad enteramente permisible de radiación⁸. La ligera elusión del cromo de los eritrocitos durante el tiempo que permanecen en circulación ha sido superada, como factor de error, con la introducción de factores de corrección para los diferentes días que siguen a la administración del marcador biológico en el organismo^{6,9}. Las curvas obtenidas son similares al método de Ashby, pero tienden a ser más curvilíneas cuando son trazadas en papel aritmético. Observándose de esta manera una primera fase de pérdida rápida de la radioactividad seguida de una fase más lenta. Aún no se ha dado una explicación suficiente para esclarecer este fenómeno, pero en general se asume que la parte recta inicial constituye una manifestación verdadera de la supervivencia eritrocitaria dentro del organismo, y tal como en el método de Ashby, se acostumbra utilizar como término de medida la "media vida biológica". El uso de papel semilogarítmico facilita la obtención de los datos, pues frecuentemente (en particular en procesos hemostáticos adquiridos) se logra obtener una línea recta de radioactividad una vez efectuada la corrección por los factores de elusión ya mencionados.

Para el presente trabajo, efectuado en sujetos normales de Quito, ciudad que se halla situada a 2.818 metros sobre el nivel del mar, se empleó el Cr-51 según el método preconizado por Read¹⁰⁻¹² y Meyer¹³ que usa el ácido ascórbico como agente reductor. El ácido ascórbico reduce el cromo hexavalente (aniónico, libre) que no ha entrado en los glóbulos rojos, en cromo trivalente (catiónico). El cromo trivalente ya no posee propiedades marcadoras de glóbulos rojos, sino tan sólo de albúmina plasmática y esto en forma temporal.

MATERIALES Y METODOS

La casuística se halla constituida por 10 sujetos (7 hombres y 3 mujeres): 8 normales, así catalogados luego de exámenes hematológicos de rutina, y dos controles patológicos. De éstos, uno con el diagnóstico de anemia aplásica, y el otro con el de policitemia vera. A éste último se le determinaron tan sólo los volúmenes sanguíneos.

El método seguido fue el siguiente: 1) Aproximadamente 40 microcurios de Cr-51, en forma de una solución estéril de $\text{Na}_2\text{Cr}_2^{51}\text{O}_7$ (Ruchromate Abbott), fueron puestos en una botella siliconada, esterilizada al vacío, de 100 cc. de capacidad, y que contenía 10 cc. de Solución A-C-D (A-C-D Solution Abbott); 2) Del sujeto en ayunas, extracción de 18 cc. de sangre, con la jeringuilla y aguja humedecidas con la

solución A-C-D; poniendo esta sangre en la botella antes mencionada; 3) Incubación de la muestra durante 45 minutos a 37 grados centígrados, invirtiendo la botella aproximadamente cada 10 minutos; 4) Adición, al final del período de incubación, de 50 miligramos de ácido ascórbico estéril, invirtiendo luego la botella algunas veces con el propósito de mezclar completamente el contenido; 5) Preparación de muestras duplicadas de esta sangre⁴ para determinar el hematocrito; 6) Inyección al sujeto de 6 cc. de la sangre total marcada⁴; 7) Luego de 20 minutos, extracción de 15 cc. de sangre del sujeto, haciéndolo del brazo opuesto al que se le inyectó la sangre marcada. De estos 15 cc., se prepararon muestras duplicadas de 3 cc. para conteo de la radioactividad; 8) Preparación de la sangre⁵ de muestras duplicadas para hematocrito; 9) Las muestras 5 y 8 fueron centrifugadas durante 30 minutos a 3.000 rpm. para obtener los hematocritos. La medida de los valores de cada par de muestras fue corregida multiplicándola por 0.963 (factor de corrección por el atrape plasmático); 10) Preparación de una muestra de 3 cc., para conteo de la radioactividad, de la sangre total del paciente que había quedado en la botella⁴, y que representa la sangre total estándar; 11) Centrifugación de la sangre del paciente⁷ y el restante de la sangre estándar⁸, a 3.000 rpm. y durante 15 minutos, obteniéndose algo más de 3 cc. de plasma; 12) En un contador de centelleo de pozo (Modelo DS5-S de la Nuclear Chicago Corporation) deter-

minación de la actividad de la muestra de la sangre total estandar¹⁰, del plasma estandar¹¹, de la muestra de la sangre del paciente⁹, y la del plasma del paciente¹¹.

Se efectuaron los cálculos de los volúmenes sanguíneos empleando las siguientes fórmulas:

VOLUMEN SANGUINEO TOTAL —
6 cc. x factor diluc. estd. x cpm sang.
total estd. — (cpm plasm. estd.) (1 —
hmc. estd. corregido)

cpm sang. total pcte. — (cpm plasm.
pcte.) (1 — hmc. pcte. corregido)

VOLUMEN ERITROCITARIO TO-
TAL —

— Volumen Sangre Total x hematocrito corregido

VOLUMEN PLASMÁTICO TOTAL. —

— Volumen Sangre Total (1 — hematocrito corregido)

Para la determinación de la super-

vivencia eritrocitaria, fueron extraídos del paciente 8 cc. de sangre a partir de las 24 horas luego de la administración de la sangre total marcada, y posteriormente a los 3, 6, 9, 11, 14, 17, 22 y 26 días. Se prepararon en cada caso muestras duplicadas de 3 cc. para conteo de la radioactividad. La media de los valores, corregidos por el factor de elusión correspondiente, en conteos por minuto (cpm), fueron anotados en una carta semilogarítmica. Por extrapolación se determinó la actividad al tiempo cero, en cada uno de los sujetos, y la cifra resultante fue tomada como el 100% de la actividad. Los valores obtenidos en conteos por minuto, transformados a valores absolutos, fueron nuevamente anotados en otra carta semilogarítmica. La semivida eritrocitaria se determinó como el lapso necesario para que la actividad al tiempo cero reduzca sus valores al 50%.

TABLA I

VALORES ENCONTRADOS EN 7 PERSONAS NORMALES Y
2 ENFERMOS

Caso N°	Sexo	Peso en kg.	V. S. T. en cc.	V. E. T. en cc.	V. P. T. en cc.
1	M	62	4.815	2.224	2.590
2	M	56	4.100	1.697	2.402
3	M	70	5.200	2.199	3.000
4	M	63	4.900	1.979	2.920
5	M	54	3.100	1.252	1.847
6	F	45	2.517	1.016	1.500
7	F	51	2.917	1.225	1.691
8	F	60	4.400	1.905	2.494
9	M	55	3.247	870	2.376
			(59 cc./kg.)	(15 cc./kg.)	(43 cc./kg.)
10	M	82	5.169	2.941	2.228
			(65 cc./kg.)	(35 cc./kg.)	(27 cc./kg.)

RESULTADOS Y DISCUSION

Volúmenes sanguíneos

Los resultados obtenidos (Tabla 1), en cuanto a los sujetos normales se refieren (casos 1 al 8), coinciden con los valores señalados por Berlin¹³ Lawrence¹⁴, Sterling² entre otros. Dichos autores dan como cifras medias para el hombre adulto normal las que siguen: VST : 56 a 76 cc./kg.; VPT : de 24 a 29 cc./kg. Entre las mujeres, las cifras para los tres valores disminuyen en más o menos 3 cc. por kilogramo de peso. Debemos señalar que en 5 de nuestros casos normales (casos 1, 2, 3, 4 y 8) el volumen eritrocitario total fue ligeramente ma-

yor que el límite superior de la normalidad anotado por los autores consultados. El caso 10, diagnosticado de policitemia vera, presentó un neto aumento del VET; en tanto que el caso 9, diagnosticado de anemia aplásica, el VET fue francamente inferior a los valores normales. Estos hallazgos, en nuestros casos controles, concuerdan con los reseñados por Berlin¹³ en casos similares en los que se siguió el mismo método.

Supervivencia eritrocitaria

La "semivida" de los glóbulos rojos en los 8 sujetos normales varió entre un mínimo de 25 y un máximo de 34 días (Figura 1). Es decir se obtu-

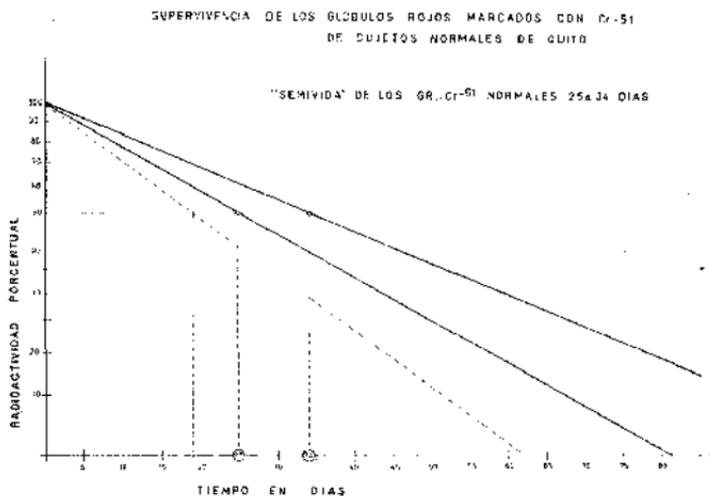


FIGURA 1

vieron valores completamente similares a los obtenidos por otros autores, que dan cifras que van de 25 a 35 días. En relación al control diagnosticado de anemia aplásica, la "semivida" eritrocitaria fue de 19 días (Figura 1), tal como corresponde a esta entidad¹⁴.

A manera de conclusión, debemos señalar que los valores obtenidos en sujetos normales residentes en Quito son similares a los descritos para sujetos normales residente en lugares de menor altitud. Sin que, por consiguiente, al menos en cuanto a las determinaciones realizadas se refiere, hayamos hallado las variantes encontradas en sujetos residentes en lugares localizados a 4.000 metros o más sobre el nivel del mar de los Andes peruanos y argentinos¹⁵⁻¹⁷.

RESUMEN

Con el método de ácido ascórbico para la determinación de los volúmenes sanguíneos y supervivencia eritrocitaria, por medio del Cr⁵¹, los valores encontrados en sujetos normales residentes en Quito (2.818 mts. sobre el nivel del mar), fueron: Volumen Sanguíneo Total (77-55 cc./kg.), Volumen Plasmático Total (46-33 cc./kg.), Volumen Eritrocitario Total (33-22 cc./kg.), y la semivida eritrocitaria (25-34 días). Es de anotarse que en el 60% de los casos, el volumen eritrocitario total fue ligeramente superior ($x = 31.5$ cc./kg.) que el límite superior a la normalidad referido por otros autores.

Los resultados reseñados, por consiguiente, son prácticamente iguales que los valores hallados en sujetos norma-

les residentes en lugares de menor altitud a la de Quito.

SUMMARY

By the Cr⁵¹ Blood Volumes and Red Cell Survival-Ascorbic Acid Method, were studied on 8 normal subjects, living in Quito (2,818 meters high over the sea level). The values found were: Total Blood Volumen (77-55 cc./kg.), Total Plasma Volume (46-33 cc./kg.), Total Red Cell Volume (33-22 cc./kg.), and Red Cell Survival Half Time (25-34 days). It has been noted that in the 60% of the cases, the Total Red Cell Volume was slightly higher ($x = 31.5$ cc./kg.) than the upper related normal limit.

These findings are, very similar to those found in normal subjects residents in lower geographic places.

BIBLIOGRAFIA

1. HEVESY, G. and ZERAHN, K.: Determination of the blood corpuscle content, *Acta Physiol. Scand.*, 4: 376, 1942.
2. STERLING, K. and GRAY, S. J.: Determination of the circulating red cell volume in man by radioactive chromium. *J. Clin. Invest.*, 29: 1614, 1950.
3. HEVESY, G. and NYLIN, G.: Application of K-42 labeled red corpuscles in blood volumen measurements, *Acta Physiol. Scand.*, 24: 285, 1951.
4. HEVESY, G. and NYLIN, G.: Application of "Thorium-C" labeled red corpuscles in blood volumen studies, *Circulation Res.*, 1: 102, 1952.
5. EBAUGH, P. G.: The use of Chromium-51 as an agent for the measurement of in vivo red cell survival. Comunicación personal, 1953.
6. DACIE, J. V.: *The Haemolytic Anaemia.*

- Ed. Gourne and Stratton, N. Y., 1960.
- 7.—ASHBY, W.: The determination of the length of life transfused blood corpuscles in man, *J. Exp. Med.*, **29**: 267, 1919 (Referido por (14)).
 - 8.—BERLIN, N. I.; MEYER, L. M. and LAZARUS, M.: Life span of the rat red blood cell as determined by glycine 2-C-14, *Am. J. Physiol.*, **165**: 565, 1951.
 - 9.—BRAD, R. C.; WILSON, G. W. and GARDNER, F. H.: The use of radioactive sodium chromate to evaluate the life span of the red blood cell in health and certain hematological disorders, *Am. J. Med. Sci.*, **228**: 30, 1954.
 - 10.—BRAD, R. C.: Studies of red cell volume and turnover using radiochromium, *New Eng. J. Med.*, **250**: 1021, 1954.
 - 11.—NETHELAS, T. F.; WEINSTEIN, I. M. and LEROY, G. V.: Radioactive sodium chromate for the study of survival of red blood cells. I. The effect of radioactive chromate on red blood cells, *J. Lab. Clin. Med.*, **42**: 358, 1953.
 - 12.—WEINSTEIN, I. M. and LEROY, G. V.: Radioactive sodium chromate for the study of survival of red blood cells. II. The rate of haemolysis in certain haematological disorders, *J. Lab. Clin. Med.*, **42**: 368, 1953.
 - 13.—MEYER, L. M.: Blood volume determinations with radioactive chromium (Cr-51) labeled erythrocytes, *J. A. M. A.*, **160**: 1312, 1956.
 - 14.—BERLIN, N. I. and LAWRENCE, J. H.: Recent advances in methods for the study of red cells mass and red cell production and destruction. *Peaceful Uses of Atomic Energy*, Vol. 10. N. Y.: United Nations, 1956.
 - 15.—HUPE, R. L.; LAWRENCE, J. H. and HENNESSY, Th. G.: Effects of changes in altitude on haematopoietic activity, *Medicine*, **30**: 197, 1951.
 - 16.—REYNAPARJE, C.: The influence of high altitude on erythropoietic activity, *BNL*, **474**: 132, 1957.
 - 17.—CARMENA, A. O. y col.: Estudio de las variaciones eritrocómicas de la policitemia de altura y policitemia vera, realizado a distintos niveles, *Proceedings, IX Congress of the International Society of Haematology, México*, 1964.

COLESTASIS PRODUCIDA POR ANDROGENOS

Derivados de sustitución de la testosterona, como la metiltestosterona, la norelandrolona, etc., son capaces de provocar, ocasionalmente colestasis, sin evidencia de que entre en juego un mecanismo de hipersensibilidad. Estas drogas interfieren, específicamente, los procesos de excreción hepática, lo que se evidencia por una anormal retención de la sulfobromoftaleína sódica y por la hiperbilirrubinemia, que provoca cierto grado de ictericia. La biopsia del hígado revela la existencia de simple colestasis. Al microscopio electrónico se encuentran alteraciones de las microvellosidades de las canaliculas biliares. (TUMEN, H. J., et al.: Hepatic reactions to drugs. *J. A. M. A.* **191**: 405, 1965).