

Estudio de la eritrocínética mediante el empleo simultáneo del ^{59}Fe y ^{51}Cr

Por los Dres.:

RENÉ CÁRDENAS, ERNESTO DE LA
TORRE, JOSÉ F. CORRAL, JUAN OLIVA y
COMP. MANUEL CARRAZANA

El hierro radioactivo ha sido empleado en los últimos 20 años para estudiar la eritropoyesis y el movimiento de este elemento dentro del organismo. El método desarrollado por *Huff* et al. (1950; 1951) y poco más tarde por *Bothwell* et al. (1956; 1957) se basaba en cálculos sobre un modelo sencillo del metabolismo del hierro, pero que conducía a una ligera sobrestimación de la eritropoyesis. Los trabajos posteriores de *Pollycove* y *Mortimer* (1961), *Garby* et al. (1963) y *IS ajean* et al (1963) demostraron que el modelo ferrocínético era más complejo y elaborado, pero que suministraba datos más exactos de la eritropoyesis, de los depósitos de hierro y del llamado "pool" preeritropoyético.

No obstante, las deficiencias del método original de la ferrocínética, éste es capaz de aportar datos sobre la eritropoyesis, el movimiento de hierro en los depósitos y los lugares de destrucción eritrocitaria, que resultan realmente útiles en la investigación clínica.

Por otra parte, los trabajos iniciales de *Gray* y *Sterling* (1950 y de *Ebaugh* et al. (1953, 1953a), utilizando el ^{51}Cr como trazador para determinar la supervivencia de los glóbulos rojos, y los estudios posteriores sobre este método realizado por otros autores (*MnUison* y *Veall*, 1955; *Donohus* et al., 1955; *Ebaugh* et al., 1955; *Hughes-Jones* y *Mollison*, 1956) permitieron establecer una metodología cómoda para la medición de este valioso parámetro hematológico. Con muy ligeras variantes es el método utilizado hoy en todo el mundo. El estudio simultáneo de la radioactividad sobre el hígado, bazo, sacro y precordio hacen posible valorar el papel de estos órganos en la hemocatéresis (*Schloosser* et al., 1957; *Jandl* et al., 1956; *McCurdy* y *Rath*, 1958; *Hughes-Jones* y *Szur*, 1957), siendo la técnica de *Lewis* et al (1960) la más empleada recientemente, por la manera racional y cómoda de su metodología.

12 Trabajo realizado bajo el Contrato de Investigación 634/RB del Organismo Internacional de Energía Atómica. Viena.

13 Jefe del Opto, de Medicina Nuclear, Instituto de Oncología y Radiobiología, 29 y F, «Vedad», Habana 4, Cuba.

14 Director del Instituto de Hematología, Hospital «W. Soler», Altahabana, Habana, Cuba.

En procesos patológicos tan dinámicos y cambiantes como los hematológicos es deseable estudiar todos los aspectos de la eritrocínética de manera simultánea, sobre todo teniendo en cuenta que las investigaciones con ^{59}Fe o ^{51}Cr demoran entre 2 y 3 semanas cada una, en cuyo tiempo prácticamente pueden variar las condiciones dinámicas del proceso patológico que se estudia. Esto ha motivado el desarrollo de una serie de técnicas usando suniultáneamente ambos radioisótopos (*De Groot, 1962*), basadas las más refinadas en la separación de la actividad de ambos elementos mediante la espectrometría de sus emisiones gamma (*Milchali et al., 1957; Weinstein, 1959*).

Una serie de autores han presentado los resultados del estudio de la ferrocínética y de la supervivencia globular en forma de índices (*Giblett et al., 1956; Erlandson, 1958; W asserman, 1961; McCurdy, 1962*) lo que facilitaría la comparación entre distintos grupos de pacientes con la misma o distintas patologías y las situaciones normales. Esto, de paso, seguramente atenúa los errores inherentes a los métodos empleados con el ^{59}Fe y ^{51}Cr (*Stohlman, 1961*). Sin embargo, la formulación de los índices planteados en algunos trabajos se hacen basados en algunas premisas que no siempre se cumplen: a) Asumir un estado de balance o equilibrio entre la producción y destrucción globular y derivar tasas de producción de los datos obtenidos con ^{51}Cr . (*Erlandson, 1958; McCurdy, 1962*), y en los que por ende el llamado índice de compensación no es más que la relación entre la masa glogular actual del paciente y su masa globular normal; b) Mezclar en los cálculos índices absolutos en que se

comparan tasas de producción o destrucción con los índices relativos, bien sea de sobrevida globular o de aclaramiento plasmático o incorporación globular de ^{59}Fe (*Mc - Curdy, 1962*).

Partiendo del criterio de que la eritrocínética establece una relación entre la producción y destrucción de glóbulos o de hemoglobina, los índices deben ser determinados en base a la comparación de tasas de producción o destrucción, es decir, utilizando cifras absolutas de producción o destrucción de hemoglobina o de hematíes, pero además las tasas de producción y destrucción deben ser derivadas respectivamente de ^{59}Fe y ^{51}Cr obtenidos simultáneamente.

El presente trabajo describe el método empleado por nosotros en nuestro laboratorio, en ocasión de comenzarse un Contrato de Investigación con el Organismo Internacional de Energía Atómica (Viena sobre la eritrocínética de la anemia drepanocítica en Cuba.

METODO

La técnica de la ferrocínética fue realizada de acuerdo a *Huff et al. (1951)* y *Bothwell et al. (1956)*, con ligeras modificaciones. De 10 a 25 uCi de citrato de ^{59}Fe (*) son incubados durante 30 minutos en plasma del paciente en condiciones de esterilidad, al cabo de los cuales se reinyeetan con jeringuilla calibrada en una vena antecubital, preservándose 1 ó 2 mi para la preparación de un standard.

Se toman cuatro muestras de sangre del paciente durante la primera hora

(*) Suministrado por "The Radiochemical Centre", Amersham, U. K.

y luego otras cuatro muestras hasta las 7 horas; cada espécimen de sangre es centrifugado determinándose la radioactividad del ^{59}Fe en plasma en un detector de "pozo" de $\text{NaI}(\text{Cs})$ de 1" por 2". En los días subsiguientes se toman muestras de sangre diariamente durante los primeros siete días y luego en días alternos 10-14 días más, centrifugándose cada muestra y determinándose el conteo de ^{59}Fe en los glóbulos. Cada conteo se realiza acumulándose un número suficiente de pulsos para cometer un error estadístico menor del 1%.

Durante las primeras cuatro a seis horas después de la inyección del ^{59}Fe se realizan periódicamente conteos externos sobre precordio, hígado, bazo y sacro (*Pallycove*, 1961). Estas mediciones se practican también diariamente durante la siguiente semana y luego en días alternos hasta la terminación de la investigación. Para dichos conteos se utiliza un detector de centelleo de $\text{NaI}(\text{TI})$ de 3" x 2" con un colimador de ángulo ancho (fiat field) de 70, 88 y 170 mm de longitud.

Veinticuatro a setenta y dos horas después de la administración del radiohierro se comienza el estudio con ^{51}Cr . El mareaje de los glóbulos y el estudio de la supervivencia se realiza de acuerdo a *Mollison y Veall* (1955) y a *Dorwhue et al.* (1955). Una muestra de 25 ml de sangre venosa del paciente es centrifugada, separándose el plasma sobrenadante. Los glóbulos son incubados en solución fisiológica con 60 a 100 μCi de cromato de sodio- $^{51}\text{Cr}(\text{O}_4)^{-}$ durante 30 minutos a 37°C , lavados luego tres veces en solución salina fisiológica y resuspendidos finalmente en el plasma original. Se reinyectan al paciente

(* Suministrado por "The Radiochemical Centre", Amersham, U. K.

15-20 ml de los glóbulos marcados en jeringuilla calibrada, tomándose una muestra de sangre del paciente 20 a 30 min. después de la inyección del ^{51}Cr , y luego diariamente la primera semana y en días alternos hasta el final de la investigación; en cada muestra se establece la radiactividad por ^{51}Cr . De la misma manera se determinan los conteos externos del ^{51}Cr sobre los órganos ya mencionados a los 30 minutos de la administración del radiocromo y posteriormente en cada medición correspondiente a la ferrocinética. En cada medición externa se acumulan suficiente número de pulsos para cometer un error estadístico de menos del 3%. Los pulsos del ^{59}Fe y del ^{51}Cr son separados por medio de un sistema analizador de altura de pulsos de dos canales y dos scalers de acuerdo al método de *Mitchell et al.* (1957) y *Weinstein* (1959); los índices Canal ^{51}Cr / Canal ^{59}Fe en cada órgano son determinado individualmente (*Crook y Szur*, 1960).

Cálculo de la Tasa de Renovación Plasmática de Hierro (TRPH)

Los conteos de ^{59}Fe en plasma en las primeras horas son ploteados en papel semilogarítmico trazándose la segunda exponencial, cuando la hay, por el método de los cuadros mínimos, y estableciéndose el nuevo valor de los puntos experimentales de la primera exponencial, los que a su vez son tratados también por el método de mínimos cuadrados determinándose el valor del tiempo de semiaceleramiento del ^{59}Fe ($T_{1/2}$ de ^{59}Fe). La Tasa de Renovación Plasmática de Hierro (TRPH) se calcula de acuerdo con los criterios de *Huff et al.* (1951) y de *Bothwell et al.* (1956) mediante la siguiente ecuación:

$$\text{TRPH (mg/kg/día)} = \frac{\text{Fe Sérico } (\mu\text{g}/100)}{T_{50} \cdot {}^{59}\text{Fe (min)}} \times \frac{\text{Vol. Plasm. (ml)}}{\text{Kg peso paciente}} \times 10$$

El Hierro Sérico es determinado por duplicado el mismo día que comienza la feirocinética (Barkan et al., 1940. El volumen plasmático se establece a partir del standard de ${}^{59}\text{Fe}$ (imp/min inyectados) y de

la actividad plasmática en t_0 (la suma de las actividades en imp/min de ambos componentes de la exponencial, $A_0 + A'_0$) siguiendo el método de dilución isotópica.

Cálculo de la Tasa de Renovación Globular de Hierro (TRGH).

La incorporación globular de ${}^{59}\text{Fe}$ se realiza cada día mediante la ecuación siguiente:

$$\text{Incorporación Globular (\%)} = \frac{A_t \text{ (imp/min/ml GR)} \times \text{Vol. Globular (ml)}}{\text{Standard de } {}^{59}\text{Fe (imp/min)}} \times 100 \quad (2)$$

En esta ecuación A_t sería la actividad de ${}^{59}\text{Fe}$ en los glóbulos rojos cada día, calculado mediante un hematocrito diario. El volumen de la masa globular se calcula por el método de dilución isotópica dividiendo la actividad del standard de ${}^{51}\text{Cr}$ (imp/min) entre la actividad de Radiocromo en sangre (imp/min/ml de Gr) a los 20 minutos de la inyección de este radioisótopo.

La Tasa de Renovación Globular de Hierro (TRGH) es establecida siguiendo también a Huff et al., (1951) y Bothwell et al. (1956), multiplicando el valor de la TRPH (mg/kg/día) por la fracción máxima de ${}^{51}\text{Fe}$ incorporada a los glóbulos rojos.

Supervivencia de glóbulos rojos.

La actividad de la sangre cada día debida a ${}^{51}\text{Cr}$ (imp/min/ml de sangre) es ploteada en papel semilog. (Mollison y Vrail, 1955; Donohue, 1955) calculándose la Vida Media Globular ($T_{50} - {}^{51}\text{Cr}$; red cell half-life), sin corrección para elución de cromo, por el método de mínimos cuadrados.

Cálculo de los datos e índices por conteos externos sobre órganos.

Los cálculos de los datos de los conteos externos de ${}^{51}\text{Fe}$ sobre órganos son tratados siguiendo el procedimiento de Pollycove y Mortimer (1961). La actividad registrada sobre cada órgano (imp/min) en las primeras horas es ploteada en papel semilog. extrapolándose a tiempo cero (t_0) para encontrar la actividad inicial (A_0) en la masa del órgano "vista" por el detector. Luego se lleva a un gráfico cartesiano la fracción A/A_0 en función del tiempo.

Por otra parte, se halla para cada día la actividad de ${}^{59}\text{Fe}$ depositada en cada órgano (Huff et al., 1951; Bothwell et al., 1956) siguiendo la ecuación:

$$A_{x_{dt}} = A_{x_{nt}} - (A_{s_{t_0}} \cdot A_{x_0} / A_{s_0}) \quad (3)$$

En esta ecuación cada término expresa la actividad debida a ${}^{59}\text{Fe}$ en imp/min:

$A_{x_{dt}}$: Conteo de depósito en el órgano x el día t

$A_{x_{nt}}$: Conteo neto del órgano x el día t

A_{s_t} : Conteo de sangre (x ml) el día t

$A_{x_{t_0}}$: Conteo del órgano x en t_0

$A_{s_{t_0}}$: Conteo de sangre (x ml) en t_0

La actividad máxima depositada en un órgano ($A_{x,i} \text{ max.}$) dividida entre la actividad del mismo órgano en t_0 (A_{x_0}) expresaría la fracción (F_x) del ^{51}Fe circulante en la masa del órgano "vista" por el detector en el momento inicial de la investigación, que se ha depositado en ella. Esta fracción estaría en relación con la capacidad liemocaterética del órgano y con su papel relativo como depósito de hierro. Si consideramos que en ambas funciones el bazo y el hígado representan los órganos fundamentales, la suma de ambas fracciones esplénica y hepática (F_b -) F_h) patentizaría prácticamente la capacidad del organismo en este aspecto. El Índice Esplénico (Ib- ^{59}Fe) y el Índice Hepático (Ih- ^{69}Fe) mostrarían el valor relativo de ambos órganos y vendría dado por:

$$Ib = F_b / (F_b + F_h) \quad (4)$$

$$Ih = F_h / (F_b + F_h) \quad (5)$$

Los conteos externos de ^{31}Cr obtenidos en órganos son tratados por el procedimiento de Lewis et al., (1960).

Dividiendo cada día los conteos netos del órgano en el día t ($A_{x,t}$) entre el conteo del mismo órgano a los 15 ó 20 min. de la inyección de radiocromo ($A_{x_{no}}$) se obtiene la fracción del ^{31}Cr contenida en cada órgano. Los conteos en depósitos, o en exceso como les llama Lewis, se hallan utilizando la misma ecuación (3).

El Índice Esplénico (Ib- ^{51}Cr) y el Índice Hepático (Ih- ^{51}Cr) se calculan de la misma manera que en el caso del ^{56}Fe , sólo que ahora utilizando los conteos del ^{31}Cr , mediante las ecuaciones (4) y (5). En este caso estos índices señalarían la importancia relativa de cada uno de los dos órganos en la hemolisis, quizás con más fuerza aún que los índices similares de ^{56}Fe .

Cálculo de los Índices Eritrocínéticos.

Los Índices de Eritropoyesis total (I. E. T.), de Eritropoyesis efectiva (I.E.E.) y de destrucción (I.D.) se determinan de acuerdo con las ecuaciones siguientes:

$$I.E.T. = \frac{\text{TRPH del paciente (mg/kg/día)}}{\text{TRPH normal (mg/kg/día)}} \quad (6)$$

$$I.E.E. = \frac{\text{TRGH del paciente (mg/kg/día)}}{\text{TRGH normal (mg/kg/día)}} \quad (7)$$

$$I.D. = \frac{120}{\text{M.C.L.}} \times \frac{\text{masa globular paciente}}{\text{masa globular esperada}} \quad (8)$$

Los valores normales de TRPH y TRGH utilizados en las dos primeras ecuaciones han sido derivadas de Bothmell et al., (1957). La sobrevivencia media de los glóbulos rojos (Mean Cell Life, MCL) se lia calculado de acuerdo con

Donohue et al., (1955) partiendo del $T_{30-5}\text{Cr}$; la masa globular del paciente fue calculada con los datos del ^{51}Cr en cada caso, y la masa globular esperada se determinó también en cada caso de acuerdo con el peso en kg de la persona

y su estatura en cm, tomando un valor normal de 34 cm de glóbulos/kg de peso en el hombre y 30 cm de glóbulos/kg de peso en la mujer. La última ecuación (8) es similar a la utilizada por Giblett

et al., (1956) pero referida por ellos como índice de producción ^{51}Cr .

El Índice de efectividad medular (IEM) y el Índice de compensación (IG) estarán dados por:

$$\text{I.E.M.} = \frac{\text{Índice eritropoyesis efectiva}}{\text{Índice eritropoyesis total}} \quad (v)$$

$$I. = \frac{\text{Índice eritropoyesis efectiva}}{\text{Índice destrucción}} \quad (10)$$

CUADRO 1

DATOS HEMATOLOGICOS DE 3 CASOS ESTUDIADOS

Caso No.	Diagnóstico	Edad (Años)	Hb (G)	Reticuloritos (<%)	Ht (%)	Hierro Sérico UC/100	Esplenomegalia	Hepatomegalia
1	Normal	27	14,5	0,5	41	120	0	0
2	Anemia drepanocítica (Sickle-cell)	42	7,1	11,4	27	168	0	0
3	Anemia drepanocítica	3	7,6	24,8	25	115	0	+

CUADRO II

DATOS DE LA ERITROCINETICA EN 3 CASOS ESTUDIADOS

Caso No.	$^{58}\text{Ee-T}_{10}$ (min)	TRPH	Incorporación globular		$^{51}\text{Cr-T}_{10}$ (días)
			máxima (mg/kg/d) (%)	TRGH (mg/kg/d)	
1	66,9	0,67	97	0,65	23,9
2	32,5	3,91	100	3,91	4,0
3	70,4	1,44	66	0,95	12,6

Material y resultados.

Se estudiaron una persona normal y dos enfermos portadores de anemia a hematies falciformes con el método descrito. La persona normal fue sometida a un grupo de exámenes hematológicos para descartar cualquier alteración de

este sistema. Los pacientes con anemia drepanocítica fueron confirmados por electroforesis de hemoglobina (S-S) y en uno de ellos por estudios familiares.

En los cuadros I, II, III y IV se muestran los datos obtenidos en la investigación con ambos radioisótopos.

CUADRO III

INDICES DE LA ERITROCINETICA EN 3 CASOS ESTUDIADOS

Caso No.	Índice de Destrucción	de Índice de Eritropoyesis total	de Índice de Eritropoyesis Efectiva	de Índice de Efectividad medular	de Índice de compensación	de
I	4,2	1,5	1,7	1,1	1,4	
2	11,6	6,1	2,3	0,4	0,2	
3	4,3	3,3	2,5	0,8	0,6	

CUADRO IV

DATOS DE CONTEOS EXTERNOS DE ^{59}Fe y ^{51}Cr EN 3 CASOS ESTUDIADOS

Caso No.	Relación Razo/Hígado (Fb/Fh) ^{59}Fe ^{51}Cr	Índice ^{59}Fe Razo	Índice ^{59}Fe Hígado	Índice ^{51}Cr Razo	Índice ^{51}Cr Hígado	
1	1,71	2,20	0,63	0,37	0,68	0,32
2	0,53	0,74	0,35	0,65	0,42	0,58
3	16,54	4,14	0,94	0,06	0,81	0,19

Comentarios.

El método de eritrocínética propuesto es la resultante de la combinación de las técnicas de estudio de la ferrocínética y de radiocromo ya bien establecidas. Ello permite evaluar simultáneamente la eritropoyesis y la destrucción globular, estableciendo un balance entre ambas. Si bien el cálculo de la eritropoyesis por el método de *Huff* sobrevalora la hematopoyesis, este error no es

vital para su uso clínico, además de que el mismo se ve atenuado por el uso de índices.

Los índices de eritropoyesis total y efectiva, basados en los datos del ^{59}Fe permiten evaluar la actividad eritropoyética y la efectividad medular. El índice de eritropoyesis efectiva (^{59}Fe) y el índice de destrucción (^{51}Cr) permiten valorar la compensación. Estos ín-

dices deberían reflejar cada uno la eritropoyesis o la destrucción aun cuando no exista equilibrio entre ambos procesos.

Por último, los Índices Esplénico y Hepático representan un intento semi-cuantitativo de evaluar el aspecto liemocaterético del bazo y del liígado basado en los datos de ambos radioisótopos obtenidos por conteos externos.

RESUMEN

Se hace una breve revisión de los diferentes métodos informados en la literatura en el estudio de la eritrocínética mediante el uso simultáneo o por separado del ^{59}Fe y del ^{51}Cr . Se comentan los índices de la eritrocínética empleados por algunos autores, proponiéndose una breve y sencilla serie de ellos, donde se elimina la influencia de la falta

de equilibrio entre la eritropoyesis y la destrucción globulares. Se presentan los resultados obtenidos con este procedimiento en dos personas normales y dos casos con anemia por hemáties falciformes.

SUMMARY

The authors review briefly the several methods reported for the study of the erythrokinetic using ^{59}Fe and/or ^{51}Cr . The erythrokinetics indexes used by some authors are commented, a set of them, where is discarded the influence of the imbalance between the production and destruction of red cells, is proposed.

The results in two normal cases and in two cases with sickle-cell anemia to whom this procedure was applied, is presented.

BIBLIOGRAFIA

1. —Botwell, T. H., Cullender, S., Mallett, B. and Witts, L. J.: The study of erythropoiesis using tracer quantities of radio-active iron. *Brit. J. Haemat.*, 2, 1, 1956.
2. —Botwell, T. H., Hurtado, A. V., Donohue, D. M. and Finch, C. A.: Erythrokinetics. IV. The plasma iron turnover as a measure of erythropoiesis. *Blood*, 12, 409, 1957.
3. —Crook, A. and Szur, L.: *Brit. J. Radiol.*, 33, 447, 1960.
4. —Donohue, D. M., Molulsky, A. G., Giblett, E. H., Pirzio-Biroli, G., Viranuvati, V. and Finch, C. A.: The use of chromium as a red cell tag. *Brit. J. Haemat.*, 1, 249, 1955.
5. —Ebaugh, F. G., Ross, J. F. and Emerson, C. P.: The use of chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for determining the survival of transfused and autotransfused erythrocytes. *J. Clin. Invest.*, 32, 563, 1953.
6. —Ebaugh, F. G., Emerson, C. P. and Ross, J. F.: The use of radioactive chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for the determination of red cell survival *in vivo*. *J. Clin. Invest.*, 32, 1260, 1953.
7. —Ebaugh, F. G., Emerson, C. P. and Rodnan, G. P.: An evaluation of $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ as an agent for the determination of the erythrocyte life span *in vivo* in various haemolytic states. *J. Clin. Invest.*, 34, 931, 1955.
7. —Erlanson, M. E., Schulman, J., Stern, E. and Smith, C. H.: Studies on congenital haemolytic syndromes. I. Rates of destruction and production of erythrocytes in Thalassemia. *Pediatrics*, 22, 910, 1958.
8. —Garby, L., Schneider, W., Sundquist, O. and Vuille, J. C.: A ferro-erythrokinetic model and its properties. *Acta Physiol. Scand.*, 59, supp. 216, 1963.
9. —Giblett, E. R., Coleman, D. H., Pirzio-Viroli, G., Donohue, D. M., Molulsky, A. G. and Finch, C. A.: Erythrokinetics. Quantitative measurements of red cell production and destruction in normal subjects and patients with anaemia. *Blood*, 11, 291, 1956.
10. —Gray, S. J. and Sterling, K.: The tagging of red cells and plasma proteins with radioactive chromium. *J. Clin. Invest.*, 29, 1604, 1950.
11. —Groot, R. J., de: The simultaneous use of ^{51}Cr and ^{59}Fe in haematological investigations. *J. Coll. Radiol. Austral.*, 6, 67, 1962.

12. - Huff, R. L., Hennessy, T. G., Austin, R. Garcia, J. F., Roberts, R. M. and Latvrence, J. H.: Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patients having various haemotopcietic disorders J. Clin. Invest., 29, 1401. 1950.
13. -Huff,R. L., Ehnlinger, P. J., Garcia, J. F., Oda, J. M., Cocrell, M. C. and Lawren- ce, J. H.: Ferrokintics in normal persons and in patients having various erythro- poietic disorders J. Clin. Invest., 30, 1512. 1951.
14. -Hughes-Jones, N. C. and Mollison, P. L.: The interpretation of measurements with ⁵¹Cr labelled red cells. Clin. Sci., 15, 207. 1956.
Hughes-Jones, iV. A. and Szur, L.: Deter- mination of the sites of red cell destruc- tion using ⁵¹Cr- labelled cells. Brit. J. Haeniat, 3, 320.
17. -Jandl,J.//.. Greenberg, M. S., Yonemoto, R. H. and Casde, W. B.: Clinical deter- mination of the sites of red cell seques- tration in haemolytic anaemias. J. Clin. Invest. 35, 842. 1956.
18. -Lewis, S. M., Szur, L. and Dacie, J. V.: The pattern of erythrocyte destruction in haemolytic anaemias as studied with ra- dioactive chromium. Brit. J. Haemat., 6, 122. 1960.
19. -McCurdy, P. R., and Rath, C. E.: Splen- ectomy in Haemolytic anaemia; results predicted by body scaniing after injec- tion of chromium 51-tagged red cells. New Engl. J. Med. 259, 459. 1958.
20. -McCurdy, P. R.: Erythrokinetics in ab- normal haemogloiin. syndromes. Blood. 20, 686. 1962.
21. -Milchell, T. G., Spencer, R. P. and King, E. R.: Anier. J. Clin. Path., 28, 461. 1957.
22. -Mollison, P. J. and Vea 11, N.: The use of the isotope ⁵¹Cr as a label for red cells. Brit. J. Haemat., 1, 62. 1955.
23. -y ajean, Y., Ardaillou, IS. and Bernard, J.: Etude des compartiments non héminiques du fer. I. Exploration faites "in-vivo". Nouv. Rev. Fr. Hematol., 3, 17. 1963.
24. -Pollycove, M. and Morlimer, R.: The quantitative determination of iron kine- tics and haemoglobin synthesis in human subjects. J. Clin. Invest., 40, 753. 1961.
25. -Schloesser, L. L., Korst, D. L., Clatanoff, D. V. and Schilling, R. E.: Radioactivity ⁵¹Cr the spleen and liver following the transfusión of chromium 51-labelled eryth- rocytes in haemolytic anaemia. J. Clin. Invest.. 36, 1470. 1957.
26. -Stohlman, F.: Tre use of Fe⁵⁹ and Cr⁵¹ for estiinating red cell production and destruction; An interpretative review. Blood. 18, 236. 1961.
27. -Weinstein, I. M.: Blood, 14, 950. 1959.