

Estudio de la supervivencia de glóbulos rojos con Di-isopropil fosfolúorhidrato marcado con P³² radioactivo

Por el Dr. RENE CÁRDENAS (6)

y los compañeros:

MANUEL CARRAZANA(7) Y RUSKY GAMBOA(**>

En 1947 Gros, Liliental, Harvey y Jonds sugirieron la posibilidad de usar el Di-isopropil Fosfolúorhidrato (DFP) como elemento "marcador" de los eritrocitos para el estudio de supervivencia. Esta droga había venido siendo empleada en el tratamiento de la miastenia gravis, conociéndose que su más prominente reacción biológica era con la colinesterasa, a la que inhibe irreversiblemente.¹ El uso del DFP "marcado" con Fósforo Radiactivo (P³²) en la determinación del tiempo de vida globular fue llevado a cabo por Cohén y Warringa* en 1954, observándose además su superioridad con respecto al CR⁵¹, usado preferiblemente entonces, debido a que no existe elución del primero fuera del hematíe una vez "marcado" éste. Estas observaciones fueron confirmadas posteriormente^{3> 4> 6. 6' 7} aunque Bove y Ehaugh³ y Hjort y col. han señalado evidencias de una elución inicial del DFP³² que parece estar en relación con uno de estos factores: a) sobresaturación globular del producto, b) denaturalización

del mismo, c) absorción del isótopo en la superficie de algunas proteínas del hematíe, y d) aumento del turnover de las fluorofosfatasas eritrocíticas. El fenómeno, obviado usando dosis mínima y producto fresco, no invalida y mucho menos anula las ventajas del producto en el estudio de la supervivencia de los glóbulos rojos.

Sin duda la determinación de la supervivencia es de valiosa ayuda al hematólogo o al clínico, sobre todo en aquellos casos en que resulta difícil demostrar una hemólisis que se sospecha. Otras veces el fenómeno hemolítico está asociado a patologías diversas, jugando cierto papel en la patogenia de anemias, tales como las que acompañan a cirrosis, linfomas, neoplasias, lupus eriteimatoso, etc.

Este trabajo presenta el primer grupo de pacientes estudiados con esta técnica en nuestro medio.

METODO

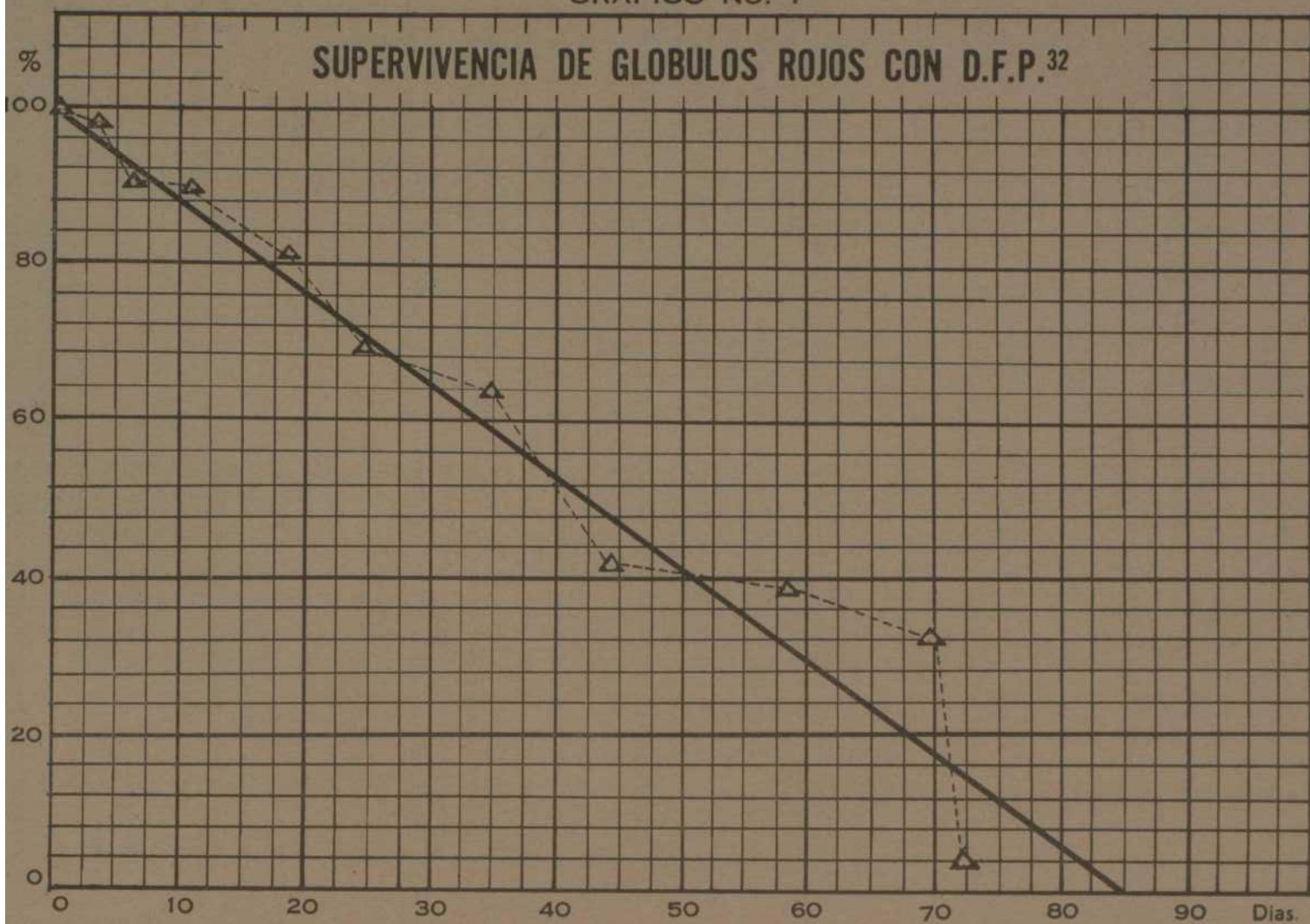
El Di-isopropil Fosfolúorhidrato "marcado" (DFP³²) es obtenido en Amersham, Inglaterra, a una concentración de 1 mg/ml, con una actividad específica de 200 mc/mg. No se emplea el producto después de 3 a 4 semanas

6 Jefe del Departamento de Medicina Nuclear, Hospital Oncológico, F y 29, Vedado, Habana, Cuba.

7 Técnicos del Departamento de Medicina Nuclear, Hospital Oncológico, F y 29, Vedado, Habana, Cuba.

GRAFICO No. 1

SUPERVIVENCIA DE GLOBULOS ROJOS CON D.F.P.³²



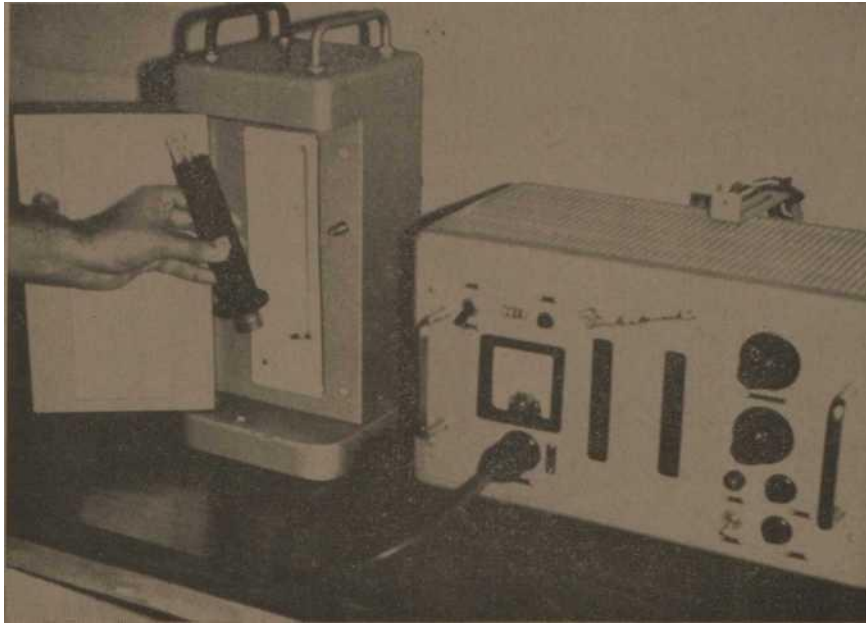


Figura No. 1

de procesado para obviar su denaturación a Di-isopropil Fosfato. Se administran por vía endovenosa de 25

a 40 Uc. de DFP³² (0.25 a 0.50 mg) al paciente, disueltos en 10 ml de sol. fisiológica.

Veinticuatro horas más tarde, y luego dos o tres veces por semana, se ob

CUADRO I

SUPERVIVENCIA DE GLOBULOS ROJOS CON D.F.P.³²

	CASOS	RANGO (DIAS)	MEDIANA (DIAS)
ANEMIAS APLASTICAS	6	84-120	99
ANEMIAS DISPLASTICAS	4	31-120	82
ANEMIAS HEMOLITICAS PLASMOPATICAS	7	20-95	48
ANEMIAS HEMOLITICAS ERITROPATICAS	7	15-77	25
ANEMIAS HEMORRAGICAS CRONICAS	3	50-75	55

tienen muestras de sangre venosa con jeringa beparinizada. Los glóbulos son centrifugados a 1000 rpm durante 30 min., lavados con sol. fisiológica 3 veces, y hemolisados finalmente en agua destilada hasta un vol. de 10 ml. Todo el material empleado es siliconizado. Cada muestra es contada el último día en un tubo de Geiger de bismuto para muestras líquidas del tipo Veall (Fig. 1). Las actividades son corregidas de acuerdo con la variación del hematocrito y expresadas en imp/min/vol sangre; comparadas contra el valor de la primera muestra a la que se asigna como 100% son finalmente inscritos los valores en papel cuadriculado normal, (Gráfico No. 1).

MATERIAL Y RESULTADOS

Se estudiaron veintinueve pacientes portadores de anemias de distintos tipos (Cuadro No. 1). No hemos valorado aún la supervivencia en personas normales, pero para ello nos basamos en los trabajos de *Cohén*,⁴ *Bove*⁵ y *Eierrise*⁹ que dan un rango de supervivencia normal desde 100 hasta 130 días.

En nuestros casos obtuvimos los resultados mostrados en los gráficos Nos. 2 al 6.

En diecinueve casos se correlacionó la supervivencia con la bilirrubina directa obtenida durante el período de estudio (gráfico 7). Se puede observar que la bilirrubina, con valores moderadamente elevados aún frente a sobrevidas muy acortadas, no refleja perfectamente la severidad del cuadro hemolítico.

En veintiséis casos se compararon las cifras de reticulocitos con las supervivencias obtenidas en el mismo tiempo, (gráfico 8). La respuesta medular, reflejada en la reticulocitosis no siempre fue proporcional al tiempo de vida globular.

Esto confirma que la determinación de la supervivencia es un dato que no puede ser suplido ni siquiera directamente por otra investigación hematológica.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

El estudio de la supervivencia de los glóbulos rojos con DFP³² valora la sobrevida real de los eritrocitos, haciéndolo de más fácil comprensión para el médico. En algunos casos sin embargo se observan fenómenos de elución o "mesetas" iniciales, pero que no invalidan la prueba.

La sobrevida de los glóbulos rojos mide un parámetro hasta ahora de difícil determinación (sólo por el método de aglutinación de *Ashby*) que resulta valioso frente a ciertas anemias hemolíticas o con hemolisis asociadas. Se debe señalar que un complemento obligado de ciertos casos es el estudio de la ferroquinética con Fe.⁵⁹ Ambos test serán realizados simultáneamente en un futuro en nuestro departamento.

Un trabajo futuro sería la valoración de la supervivencia como medio de estimar las pérdidas hemáticas en hemorragias crónicas, y su correlación con el hemograma, hematocrito y hierro sérico.

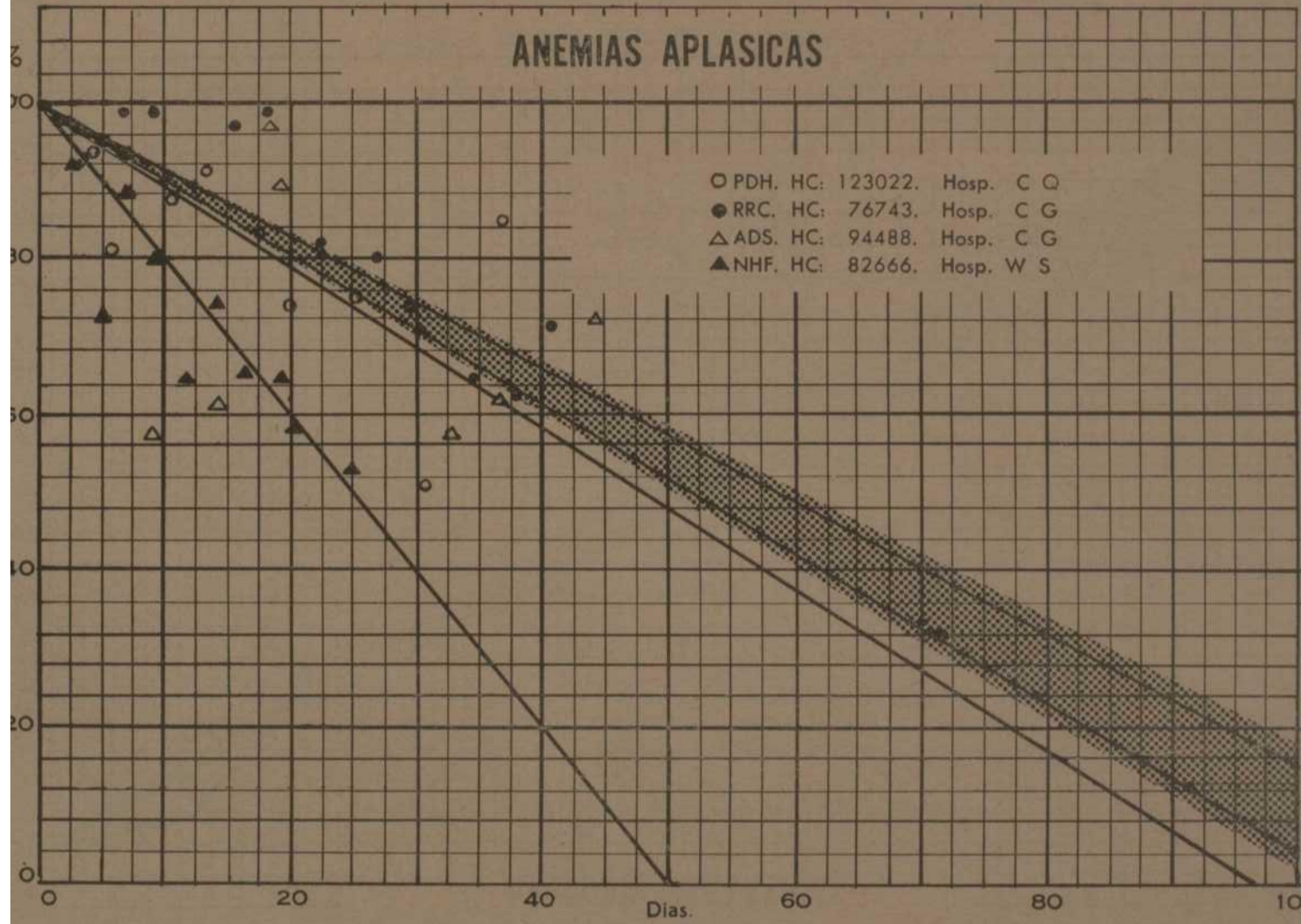
La supervivencia de los glóbulos rojos es un dato que no puede ser ofrecido, ni siquiera indirectamente por otras investigaciones hemáticas tales como bilirrubina indirecta o reticulocitosis; por su utilidad puede ser realizado en todo caso de anemia de oscura etiopatogenia, sin que por otra parte el paciente deba estar ingresado.

SUMMARY

The red blood cell survival with diisopropylfluorophosphate (DFP) labeled with phosphorus³² measured the

GRAFICO No. 2

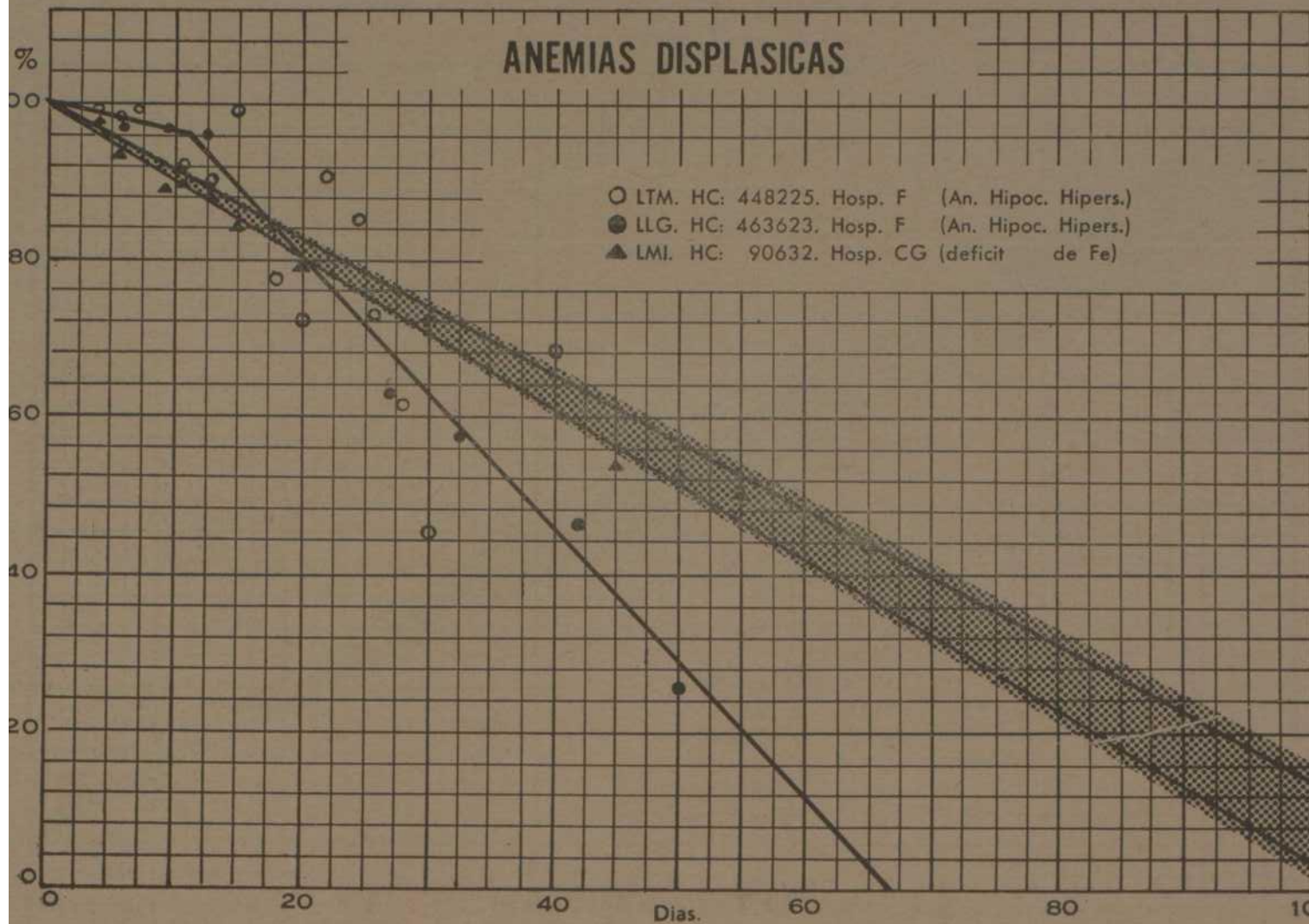
ANEMIAS APLASICAS



Un caso de anemia aplásica demostró una supervivencia acortada: Se trataba de un síndrome de Fanconi. El resto de los pacientes tuvo supervivencia normal.

GRAFICO No. 3

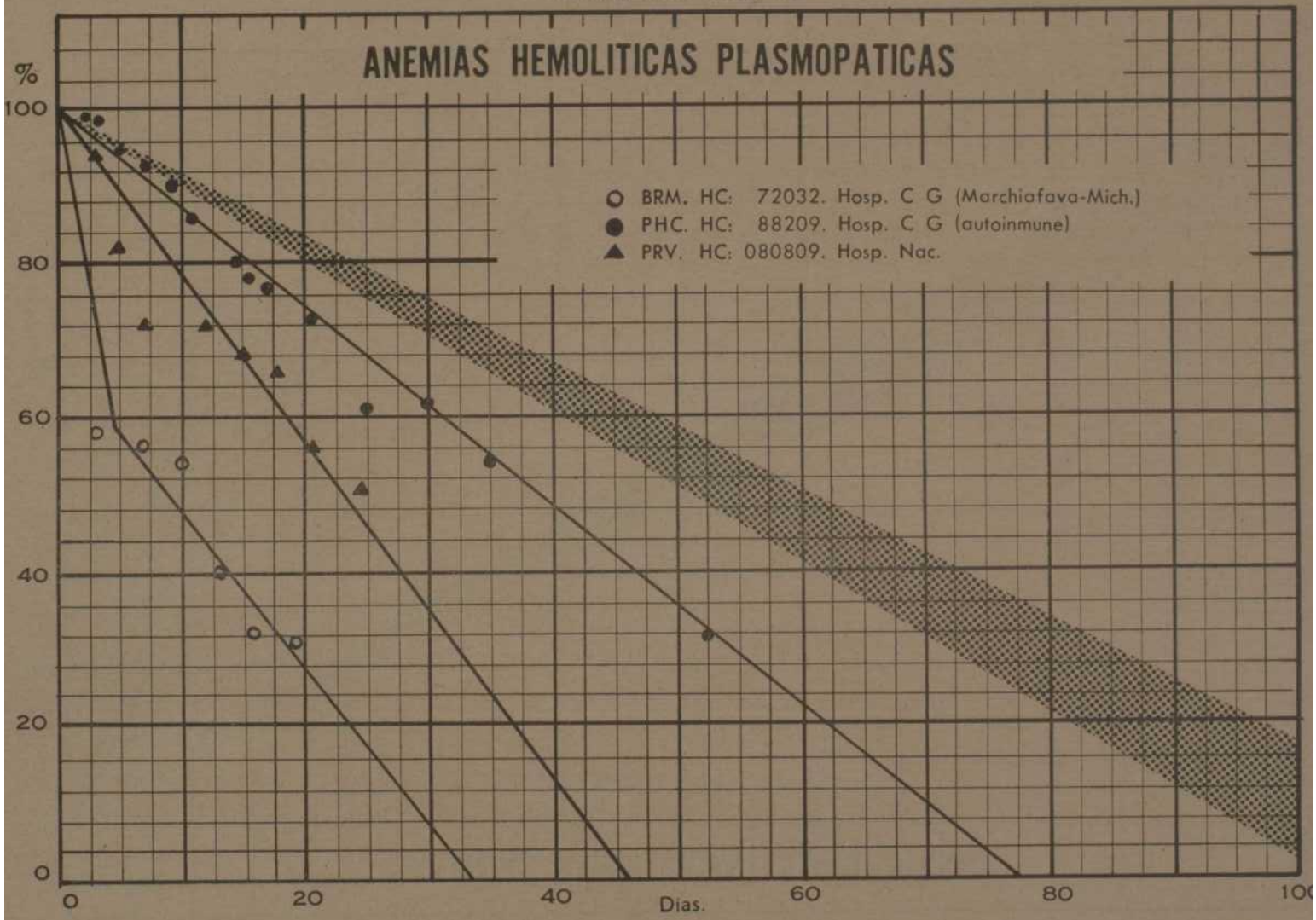
ANEMIAS DISPLASICAS



Sólo un paciente con anemia hipocrómica hipersiderémica mostró supervivencia disminuida.

GRAFICO No. 4

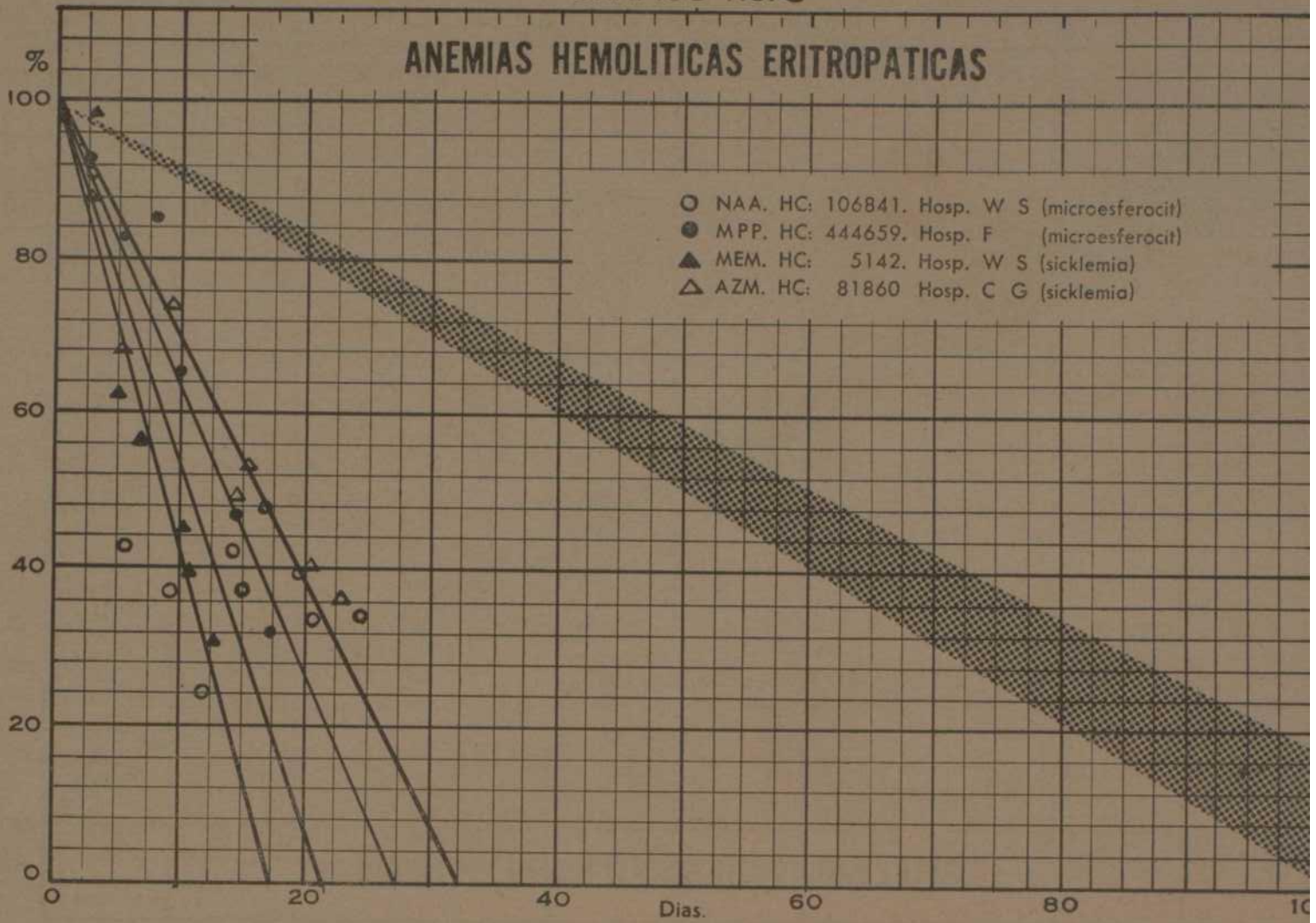
ANEMIAS HEMOLITICAS PLASMOPATICAS



Todos los casos de anemia hemolitica plasmopática tuvieron disminuida la supervivencia, con un gran rango de variación.

GRAFICO No. 5

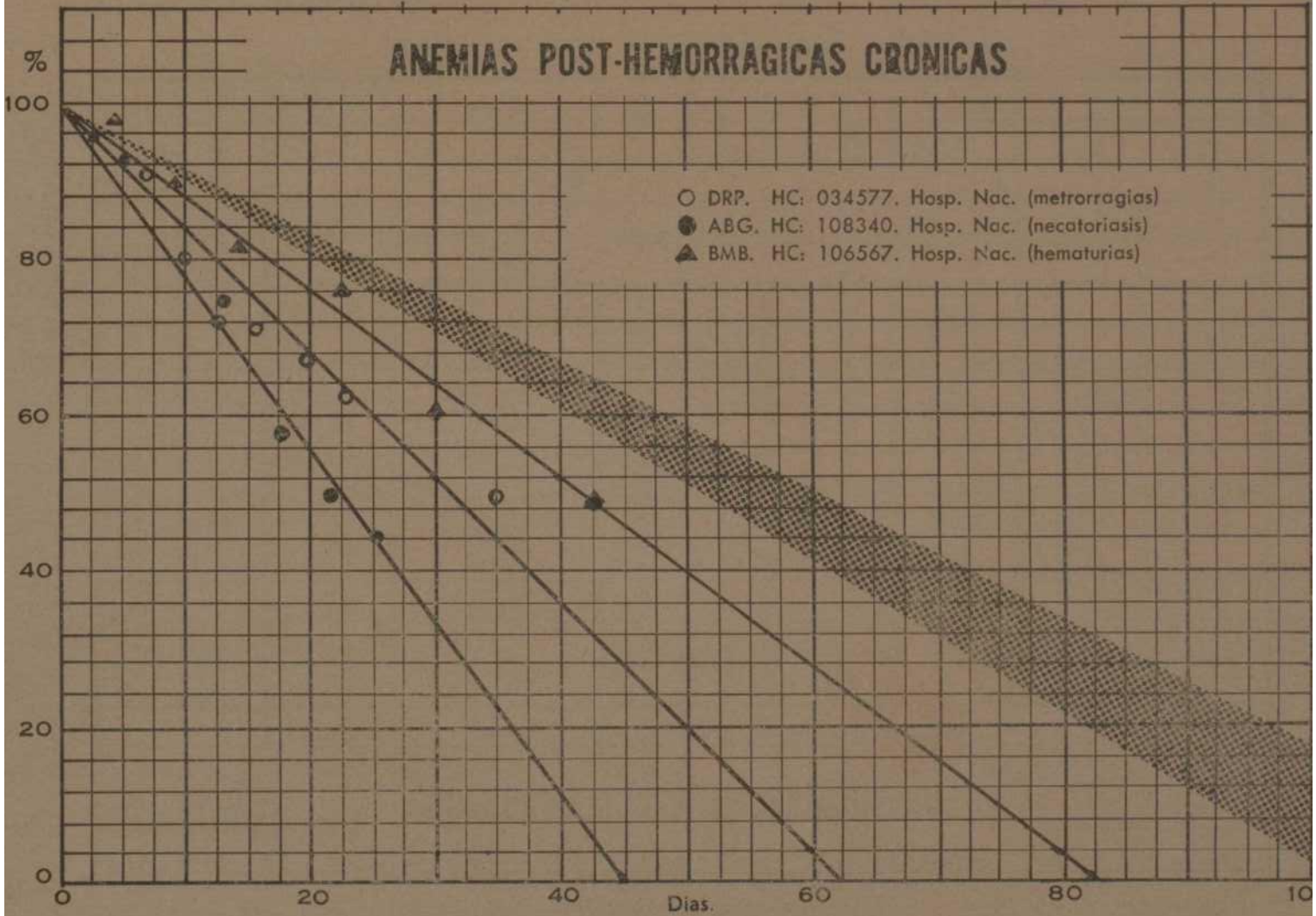
ANEMIAS HEMOLITICAS ERITROPATICAS



En todos los pacientes con anemias hemolíticas eritropáticas la supervivencia estuvo notablemente acortada.

GRAFICO No. 6

ANEMIAS POST-HEMORRAGICAS CRONICAS



En los casos con hemorragias crónicas se obtuvo una falsa supervivencia acortada. Ello es debido a la disminución de la radioactividad de los glóbulos circulantes por las pérdidas continuadas de hematíes "marcados".

GRAFICO No. 7

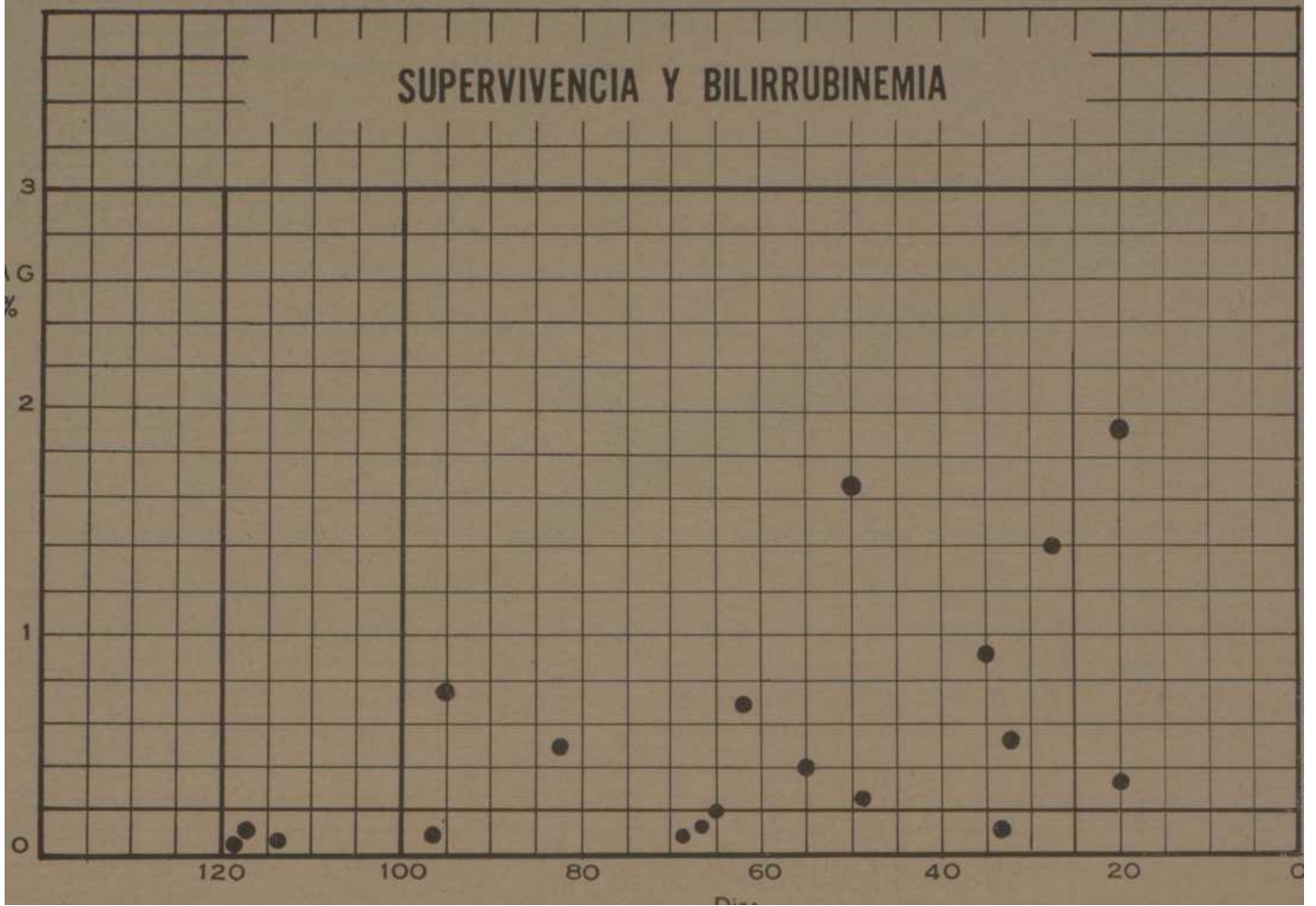
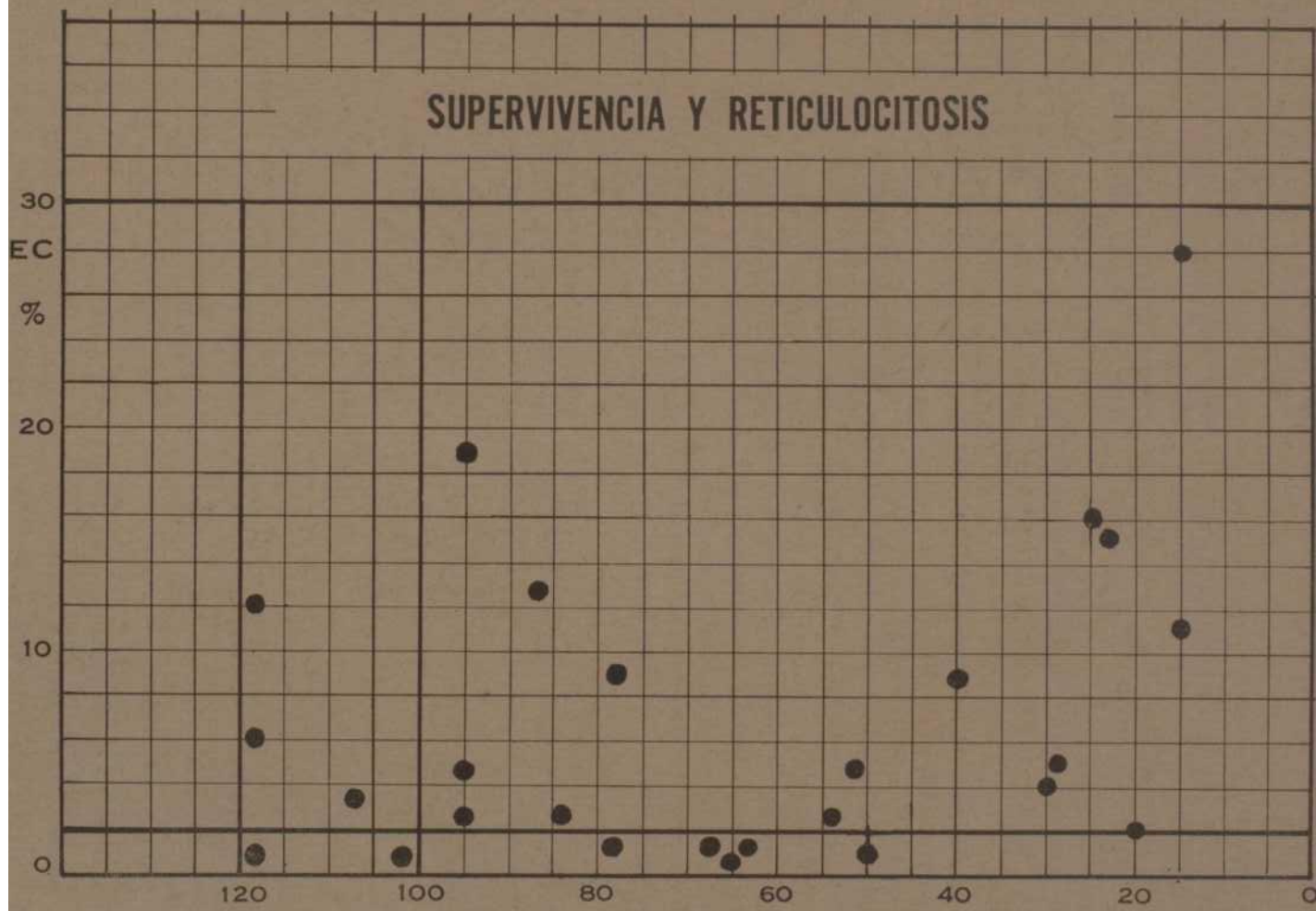


GRAFICO No.8

SUPERVIVENCIA Y RETICULOCITOSIS



erythrocyte life spans. The initial elution (staircase) phenomenon seen in some cases doesn't nullify the test.

The red blood cell life span measures a difficult parameter (only measured with the Ashby agglutination technique) and solves the problem with some types of hemolytic anaemias or associated hemolysis. In some cases complementary Fe^{59} iron kinetic methods must be practiced. In the future both tests will be carried out at the Department.

The appraisal of the survival will be a future work, as an estimation method from blood loss in chronic hemorrhage and its correlation with the blood count, blood volume and serum iron.

The red blood cell survival is a data that no other hematologic investigation,

i. e. indirect bilirubin or reticulocytosis can offer. It can be realized in any case of anaemia of unknown etiology; the patient has no need to be hospitalized.

RESUME

L'étude de la survie des globules rouges DFP³² évalué la survie réelle des érythrocytes. Cela fait plus facile la compréhension du médecin. Malgré ça on

trouve des phénomènes d'éluion dans quelques cas, mais ils n'invalident pas l'épreuve.

La survie des globules rouges mesure un paramètre difficile de déterminer (seulement par la méthode de l'agglutination de Aslihy) qui résulte très valieus contre des anémies hémolytiques où avec hémolyse associée.

On doit signaler que l'étude de la ferrocinétiqve avec Fe^{59} c'est un complément obligatoire dans certains cas.

Prochainement les deux épreuves seront réalisées à la fois dans notre Département.

Un travail futur serait l'évaluation de la survie comme le moyen d'estimer les pertes hématiques en hémorragies chroniques, et sa corrélation avec l'hémo-gramme, l'hématocrite et le fer sérique.

La survie des globules rouges c'est un renseignement qui ne peut pas être offert. Par des autres investigations hématiques, telles que bilirubine indirecte ou reticulocytosis on ne peut non plus donner un renseignement. Par son utilité on peut la faire dans tout cas d'anémie de étiopathogénie inconnue, sans que par ça le patient doit être hospitalisé.

BIBLIOGRAFIA

1. —J. Biol. Chem. 163, 261. 1946.
2. —Cohén, J. A. Warringa, MGP].: The fate of P^{32} labelled di-isopropyl-hydrophosphonate in the human body and its use as a labelling agent in the study of turn-over of blood plasma and red cells. J. Clin. Invest. 33: 459, 1954.
3. —Bove, J. R. and Ebaugh, F. G.: The use of DFP³² for the determination of in vivo red cell survival and plasma cholinesterase turn-over, J. Lab. Clin. Med. 51: 916, 1958.
4. —Cohén, J. A. and Van Pulten, L. M.: Determination of the turn-over of blood components using labelled DFP. Paper 557, 2nd. U. N. Internat. Conf. on peaceful uses of atomic Energy. Geneva. 1958.
5. —Pollycove, M.; Dal Santo, G. and Lawrence, J. H.: Simultaneous measurement of leucocyte, platelet and erythrocyte, survival with DFP³². Clin. Res. Proc. 5: 135. 1957.
6. —Cline, M. J. and Berlín, N. I.: Red blood cell life-span using DFP³² as a cohort label. Blood, 19: 715. 1962.
7. —Cline, M. J. and Berlín, N. Measurement of red cell survival with H^3 DFP. J. Lab. Clin. Med. 60: 826. 1962.
8. —Hjort, P.F.; Paputehis, H. and Chency, B.: Labelling of red blood cells with DFP³², evidence of an initial release of label. J. Lab. Clin. Med. 55: 416. 1960.
9. —Eernisse, J. G. and Van Rood, J. J.: DFP³² for erythrocyte life-span determination. Brit. J. Hemat. 7: 382. 1961.