



USO DE RADIOISÓTOPOS EM PROPEDEÚTICA HEMATOLÓGICA

*RÔMULO RIBEIRO PIERONI, V. MASPES, J. KIEFFER, R. CARELLI,
M. A. JAMRA, J. C. BARBÉRIO e A. B. DE ULHOA CINTRA*

Publicação IEA N.º
1963

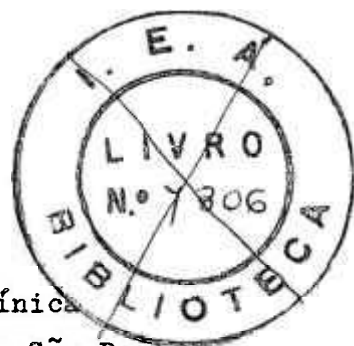
71

INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA
Caixa Postal 11049 (Pinheiros)
CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"
SÃO PAULO — BRASIL



USO DE RADIOISÓTOPOS EM PROPEDEÚTICA HEMATOLOGICA

Rômulo Ribeiro Pieroni, V.Maspes, J.Kieffer,
R.Carelli, M.A.Jamra, J.C.Barbério e A.B. de
Ulhoa Cintra



Instituto de Energia Atômica, 1ª Clínica
da Faculdade Médica, Universidade de São Paulo,
Brasil

Publicação IEA Nº 71

Reprint from : Use of Radioisotopes in Animal Biology and the
Medical Sciences. Vol.I - Proceedings of a Con-
ference held in Mexico City - Nov. - Dec. 1961.

INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA

Comissão Nacional de Energia Nuclear

Presidente: Prof. Marcello Damy de Souza Santos

Universidade de São Paulo

Reitor: Prof. Luiz Antonio da Gama e Silva

Instituto de Energia Atômica

Diretor: Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni

Conselho Técnico Científico do IEA

Prof. José Moura Gonçalves

Prof. Francisco João Humberto Maffei

Prof. Rui Ribeiro Franco

Prof. Theodoretto H. I. de Arruda Souto

} pela USP

} pela CNEN

Divisões Didático-Científicas:

Div. de Física Nuclear: Prof. Marcello D.S. Santos

Div. de Física de Reatores: Prof. Paulo Saraiva de Toledo

Div. de Engenharia Nuclear: Prof. Luiz Cintra do Prado

Div. de Radioquímica: Prof. Fausto Walter de Lima

Div. de Radiobiologia: Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni

Div. de Metalurgia Nuclear: Prof. Tharcisio D. Souza Santos

Div. de Engenharia Química: Prof. Pawel Krumholz

Uso de Radioisótopos en Propedéutica Hematológica

R. R. PIERONI,* V. MASPES,† J. KIEFFER,* R. CARELLI,† M. A. JAMRA,†
J. C. BARBÉRIO,* A. B. DE ULHOA CINTRA,‡

*Instituto de Energia Atômica, 1ª Clínica Médica da Faculdade Médica,
University of São Paulo, Brazil*

ABSTRACT

A discussion on the calculation of blood volume by means of ^{51}Cr and ^{131}I human albumin is following by an examination of the significance of such determinations for whole-body and venous hematocrit work and the "sequestration" of erythrocytes. In connection with a discussion of ^{51}Cr as a means of determining erythrocyte survival, the question of suitable analytical data-processing techniques is raised and current methods are reviewed. It is also suggested that sample-taking procedures should be altered so as to allow for fluctuations in blood volume and to reduce the period over which samples are taken. The point is made that radioactive chromium, although extremely useful as a means of shedding light on cell-destruction processes, is not very effective for bringing out changes in connection with cell formation, a topic which can be conveniently investigated in conjunction with a study of iron-absorption behavior, or, even better, iron kinetics. On the subject of erythrokinetics, the relevant role is apportioned to the models adopted, data being treated in a variety of ways (depending on the different models used) and the influence of the model employed on the final results being clearly brought out. Suitable methods and technical modifications are suggested for obtaining results with a closer approximation to reality. Attention is also drawn to the value of analogue computers for the study of erythrokinetics. The paper concludes with data based on clinical observations and determinations made over the last four years with the aid of ^{51}Cr and ^{59}Fe (nearly 400 survival measurements, 100 simultaneous blood-volume measurements with ^{51}Cr and iodinated human albumin, and complete erythrokinetics studies carried out on 100 patients).

RESUME

Ils étudient le problème de la détermination du volume sanguin au moyen de ^{51}Cr et d'albumine humaine marquée à la ^{131}I , les conséquences que l'on peut en déduire et qui sont en rapport avec l'hématocrite corporel et périphérique, ainsi que le "séquestre" des érythrocytes. Dans leurs recherches sur l'emploi du ^{51}Cr pour la détermination du taux de survie des érythrocytes, les auteurs s'arrêtent au problème du traitement analytique des données et étudient l'applicabilité des méthodes généralement utilisées jusqu'à présent. Ils suggèrent aussi d'apporter

* División de Radiobiología del IEA (Jefe: R. R. Pieroni).

† Servicio de Hematología de la 1ª Clínica Médica (Jefe: Michel Jamra).

‡ Catedrático de la 1ª Clínica Médica.

au procédé de prélèvement des échantillons, des modifications visant à compenser les variations du volume sanguin et à réduire la période au cours de laquelle les échantillons sont prélevés. Ils constatent que le radiochrome fournit des indications particulièrement utiles sur les processus de destruction des globules, mais qu'il ne permet guère de déterminer les modifications qui interviennent dans les processus de production. Il est possible de suivre ces processus en étudiant l'utilisation du fer, ou mieux encore, sa cinétique. Etudiant l'érythrocinétique, les auteurs indiquent le rôle joué par les modèles employés, analysent les données de diverses manières — suivant le modèle adopté — et montrent l'influence du modèle choisi sur le résultat final. Ils indiquent les modifications techniques ainsi que les procédés permettant d'obtenir des résultats aussi proches que possible de la réalité. Ils signalent également l'utilité des calculatrices analogiques pour l'étude de l'érythrocinétique. Enfin, ils passent en revue les observations cliniques et les diagnostics effectués au cours des quatre dernières années à l'aide du ^{51}Cr et du ^{59}Fe (près de quatre cents mesures du taux de survie des érythrocytes, dont une centaine ont été accompagnées de la détermination du volume sanguin à l'aide de ^{51}Cr et d'albumine humaine marquée à l'aide de ^{131}I et une centaine d'études complètes de l'érythrocinétique).

Аннотация

Рассматриваются проблема определения объема с помощью хрома-51 и йода-131, связанного с белках человека, вытекающие заключения, связанные с внутренним и периферическим гематокритом и "секвестр" красных шариков. В подробном анализе результатов, полученных при определении с помощью хрома-51 жизнеспособности красных шариков, уделяется особое внимание выбору аналитической обработки полученных данных, причем рассматривается применимость обычно используемых методов. Одновременно предлагаются изменения метода отбора проб, имеющие целью компенсировать колебания объема и сократить время отбора проб. Отмечается, что использование радиохрома позволяет получить данные, которые особенно полезны для изучения процесса уничтожения шариков, но в то же время не дают удовлетворительных указаний относительно изменений процессов производства. Эти последние процессы могут быть с успехом исследованы благодаря изучению использования железа или, еще лучше, его кинетики. В части, посвященной изучению кинетики красных шариков, особое значение предписывается принятой модели, и даются примеры различной обработки (в зависимости от принятой модели) и влияния последней на окончательные результаты. Указываются технические изменения и рекомендуемые методы для получения более реальных результатов. Одновременно указывается целесообразность использования аналогичного счетного прибора для изучения кинетики красных шариков. В заключение приводится обзор клинических наблюдений и результатов определений, полученных за последние четыре года с помощью хрома-51 и железа-59 (около 400 определений жизнеспособности, 100 определений объема с хромом-51 и йодированным белком человека, а также результаты наблюдений сотни пациентов с полным исследованием кинетики красных шариков).

RESUMEN

Estudian el problema de la determinación de la volemia con ^{51}Cr y albúmina humana complejada con ^{131}I y las consecuencias que se deducen y ligadas con el hematocrito corpóreo y periférico, así como el "secuestro" de los eritrocitos. En el examen de las disquisiciones a que conduce el empleo del ^{51}Cr para la deter-

minación de la sobrevivencia de los eritrocitos, se detienen en el problema de elección del tratamiento analítico de los datos, discutiendo la aplicabilidad de los procedimientos usuales. Concomitantemente, sugieren modificaciones en el procedimiento de colección de muestras, tendientes a compensar fluctuaciones de la volemia y a reducir el periodo durante el cual son tomadas las muestras. Observan que el uso del radiocromo da indicaciones particularmente útiles en lo que respecta a los procesos de destrucción de los glóbulos, siendo poco efectivo para indicar modificaciones en los procesos de producción. Estos pueden observarse mediante el estudio del aprovechamiento del hierro, o mejor aún el de su cinética. En el estudio de la eritrocinesis, dan relevante papel al desempeñado por los modelos adoptados, sometiendo los datos a tratamientos diversos (según empleo de los diversos modelos) y mostrando la influencia del modelo usado, en los resultados finales. Indican modificaciones técnicas y procedimientos aconsejados cuando se cesan resultados que se aproximen más a la realidad. Al mismo tiempo indican la utilidad del empleo de computador analógico en el estudio de la eritrocinesis. Finalmente presentan datos basados en una revisión de sus observaciones clínicas y determinaciones efectuadas en los cuatro últimos años con el uso de ^{51}Cr y ^{59}Fe (cerca de cuatro centenas de determinaciones de sobrevivencia, una centena de determinaciones simultáneas de volemia con ^{51}Cr y albúmina humana yodada, y una centena de pacientes con estudio completo de eritrocinesis).

I. INTRODUCCION

Sin duda la Hematología es uno de los dominios que más se ha beneficiado del uso de los radioisótopos, desde el punto de vista de la propedéutica médica. Muchos han sido los radionuclídeos cuyo empleo en ese campo ya fué experimentado con finalidades diagnósticas. Actualmente, los más extensamente utilizados son los radioisótopos del hierro (en forma de cloruro y/o citrato), del cromo (bajo la forma de cloruro y/o cromato), del cobalto (en la molécula de la vitamina B_{12}) y del yodo (formando complejo con la Suero-albúmina humana). Problemas de los más variados han sido abordados gracias al empleo de éstos y otros radionuclídeos y, de entre ellos, se destacan los relacionados a la determinación de la volemia, a la de la duración de la vida de los eritrocitos, a la de la conservación de la sangre, a la de la cinética del hierro (inclusive absorción intestinal), al lugar de producción, secuestro y destrucción de glóbulos rojos, a la absorción de vitamina B_{12} (diagnóstico diferencial de las anemias megaloblásticas), etc.

Hace más de 4 años iniciamos el estudio de las técnicas relativas al empleo de los métodos radioisotópicos en Hematología, con finalidad diagnóstica y de investigación clínica. El empleo de esa metodología ha suscitado problemas técnico y cuestiones relacionadas con la correcta interpretación de los resultados. En el presente trabajo traemos nuestros puntos de vista sobre esos problemas y cuestiones, sin dar énfasis especial a la presentación de resultados clínicos (de los cuales muchos ya fueron objeto de otras publicaciones¹⁸⁻²⁰), limitándonos más a un análisis crítico y a bases teóricas de la metodología.

Nos ocuparemos, en primer término, del uso concurrenciente del ^{51}Cr e ^{131}I para la determinación del volumen globular y plasmático; a continuación, examinaremos el uso del ^{51}Cr para la determinación de la volemia y de la sobrevivencia de los eritrocitos (usando dosis única de marcador), para después tratar del empleo del ^{59}Fe (aisladamente y en asociación con el ^{51}Cr).

2. USO DEL ^{51}Cr (RADIOCROMATO DE SODIO) Y DEL ^{131}I COMPLEJADO CON LA SUERO-ALBUMINA HUMANA (SAHRI)

El uso aislado de un marcador de plasma o de glóbulos, suministra el volumen plasmático o el globular. La determinación de la volemia queda condicionada al conocimiento del hematocrito corporal. La cuestión es resuelta, en ese caso, empleándose los valores medios de la relación entre el hematocrito corporal y el periférico. En todas las circunstancias en que se puede sospechar que tal relación está alterada, es recomendable la determinación independiente y simultánea del volumen plasmático y del globular — que, sumados, darán la volemia. La técnica que empleamos en tales casos, recurriendo a la marcación del plasma por la SAHRI y de los glóbulos por el Radiocromato de sodio es objeto de trabajo en publicación²⁶ y no vamos a describirla, sino llamar la atención hacia algunos detalles.

El radiocromato de sodio a ser utilizado debe ser de elevada actividad específica. La SAHRI debe ser de preparación reciente o de ella debe retirarse, previamente, el ^{131}I libre, pasándola por una columna de resina aniónica conveniente. Este procedimiento es esencial para la obtención de resultados exactos.^{12,16} Los glóbulos y el plasma son marcados por separado y mezclados antes de la re-inyección. La masa inyectada M_i es determinada, así como la masa m_r utilizada para el padrón. La evaluación de las cantidades de ^{51}Cr y de ^{131}I , en términos de conteos por minuto (o impulsos por minuto) es hecha realizándose mediciones con analizador de un canal de gran estabilidad y por comparación con la que se tiene cuando se emplean muestras puras de esos radioisótopos. Las expresiones finales son las siguientes:

$$X_i = 500 \frac{M_i}{m_r} \bar{x} \quad (1)$$

$$Y_i = 500 \frac{M_i}{m_r} \bar{y} \quad (2)$$

$$x = \frac{C_1 - C_2 K_2}{1 - K_1 K_2} \quad (3)$$

$$y = \frac{C_2 - C_1 K_1}{1 - K_1 K_2} \quad (4)$$

Con X_i indicamos los impulsos por minuto debidos al ^{51}Cr y con Y_i los correspondientes al ^{131}I inyectado. \bar{x} e \bar{y} son las medias de los x y y calculados por las (3) y (4), en "triplicatas" del padrón (alícuotas de 4 ml). En estas últimas expresiones C_1 y C_2 son los "conteos" obtenidos con la "ventana" del analizador del lado del fotopico del ^{51}Cr (320 kV) y del totopico de 364 kV de ^{131}I (Fig. 1). Las constantes K_1 y K_2 son calculadas a partir de muestras puras de ^{51}Cr y de ^{131}I .

Son recogidas muestras a los 10, 20, 30, 60 y 120 min y hechos los conteos con el analizador y calculadas las cantidades (en impulsos por minuto) correspondientes al ^{51}Cr y al ^{131}I relativas a cada muestra usando las formulas (3) y (4). Estos datos son representados en gráfico semi-logarítmico (Fig. 2). Por extrapolación se tiene la cantidad y_0 de ^{131}I en el instante cero y, por media, la

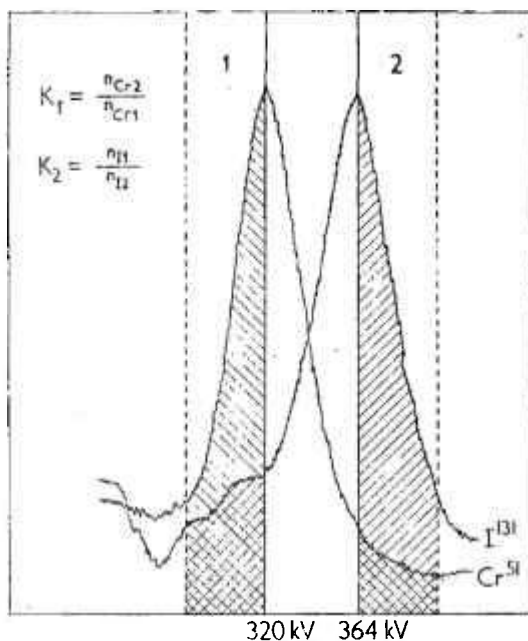


FIG. 1.

x_0 de ^{51}Cr . Siendo v el volumen de las muestras "contadas" y V_g y V_p , respectivamente, el volumen globular y plasmático, se tiene,

$$V_g = \frac{X_i}{x_0} \cdot v \cdot H_i \tag{5}$$

$$V_p = \frac{Y_i}{y_0} \cdot v \cdot (1 - H_i) \tag{6}$$

La volemia será dada por la suma de V_g y V_p :

$$V = v \left[\frac{X_i}{x_0} \cdot H_i + \frac{Y_i}{y_0} (1 - H_i) \right] \tag{7}$$

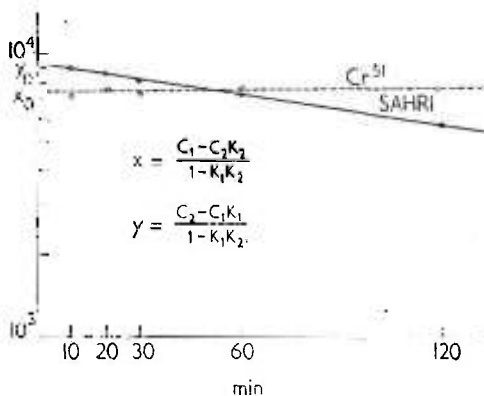


FIG. 2.

El hematocrito corporal H_{tc} puede ser obtenido dividiendo V_g por V :

$$H_{tc} = \frac{V_g}{V_g + V_p} \quad (8)$$

3. USO DEL ^{51}Cr EN LA DETERMINACION DE LA VOLEMIA Y DE LA SOBREVIVENCIA DE LOS ERITROCITOS (DOSIS UNICA DE MARCADOR)

Varias técnicas han sido preconizadas, teniendo en vista, con dosis única de marcador, obtener la volemia y la sobrevivencia de los eritrocitos.^{22, 24} Empleamos un tal procedimiento cuando, a seguir, pretendemos estudiar la eritroquinesis, donde se necesitan los dos datos, volemia y duración de vida de los glóbulos rojos. Desde el punto de vista de la determinación de la volemia (mediante determinación del volumen globular) el ^{51}Cr es indudablemente uno de los mejores marcadores. Bajo el punto de vista de la determinación de la sobrevivencia, el hecho de que el cromo eluye, constituye una dificultad. Representa, verdaderamente, la mayor objeción que se puede hacer al empleo de ese marcador, con esa finalidad. El desconocimiento del ritmo de elución, ha llevado a algunos investigadores como Necheles *et al.*,²⁴ a proponer que se calcule apenas la "media vida aparente" o "media vida ^{51}Cr " (T_{Cr}). Entretanto, la posibilidad del empleo del ^{51}Cr en cualquier paciente, independientemente del grupo sanguíneo y la viabilidad de la determinación de la sobrevivencia de los glóbulos rojos del paciente en su propia circulación, representan ventajas tan grandes que han llevado a una difusión grande del método.

Cabe aquí una observación. Hay autores para los cuales la elución sería más un hecho aparente que real.⁴ Lo que ocurriría sería una marcación no uniforme de los hematíes o un efecto tóxico sobre parte de los glóbulos. Estos incorporarían una cantidad de radiocromo que estaría en dependencia con la "edad": los más jóvenes incorporando menos que los "viejos", darían lugar a una curva de desaparición del ^{51}Cr de la circulación, análoga a la observada y cuyo aspecto es atribuible a la elución. Que no se trata de efecto tóxico decurre de la determinación simultánea de la sobrevivencia por el método de Ashby y por el radiocromo.⁹ Además de eso, la verificación de que la elución ocurre *in vitro*³⁴ nos lleva a aceptar como ocurriendo también *in vivo*. No queda, sin embargo, excluida enteramente, la hipótesis de posible marcación "no uniforme".

En trabajo anterior,¹⁹ expusimos en detalle la técnica que empleamos. Llamaremos, en el momento, la atención para algunos puntos que nos parecen más importantes. Preferimos no lavar los glóbulos antes de re-inyectarlos. Determinamos la masa M_i de la mezcla que inyectamos y la m_p que va servir para el padrón. Siendo ésta diluida en volumétrico de 500 ml y tomándose alícuota de 4 ml para el contaje, se tiene, para la cantidad inyectada (en impulsos por minuto).

$$C_p = 125 \cdot c_p \cdot \frac{M_i}{m_p} \quad (9)$$

donde c_p es el contaje líquido de 4 ml del "padrón".

Para la determinación de la volemia son recogidas muestras a los 25, 30, 60 y 120 min de la inyección. Los glóbulos son lavados con solución salina fisiológica — para retirar el radiocromo que se encontraba fuera de los mismos en la

mezcla inyectada — y, posteriormente, son hemolisados con agua (conteniendo cromato de sodio no radioactivo como acarreador) que restablece el volumen primitivo de la muestra. De este lisado se retira 4 ml que son “contados”. Tomamos la media C de los cuatro resultados (o de los tres últimos, cuando hay secuestro, lo que se reconoce por el conteje más elevado de la primera muestra) como representativo de la cantidad de radiocromo en los hematíes contenidos en 4 ml de sangre o en el volumen $4 \cdot H_t$ ml de glóbulos (H_t es el hematocrito periférico corregido para el “plasma trapped”). Corría fueron inyectados C_i contajes y en $4 \cdot H_t$ ml se tiene C , la dilución se hizo en un volumen V_g de glóbulos que se obtiene por,

$$V_g = 500 \frac{c_p \cdot M_i}{C \cdot m_i} \cdot H_t \quad (10)$$

Para obtener la volemia se recurre al hematocrito corporal, considerándolo como 0,92 H_t . Hay una posible causa de error en las determinaciones hechas según nuestra técnica. Está relacionada con la posibilidad de que parte del ^{51}Cr que marca los hematíes, presente una labilidad mayor y pueda ser retirada con los lavados. Como sometimos las muestras y la mezcla usada para el padrón a las mismas manipulaciones, nos parece que el hecho poco influirá en los resultados.

Para la determinación de la sobrevivencia, son recolectadas (a partir de las 24 h de la marcación) 8 a 10 muestras, por un período de 25 a 30 días, o en plazo mas corto, cuando hay urgencia en la obtención del resultado o hay razones para sospechar una reducción acentuada de la sobrevivencia. Al revés, cuando se desea realizar una determinación mas exacta, puede ocurrir que se necesite recolectar muestras por tiempo mucho mayor (dos meses o mismo más). Las colectas deben ser hechas con el paciente siempre en las mismas condiciones. De preferencia, en reposo y en decúbito dorsal y en el mismo horario.

Se separa el plasma, se restablece el volumen primitivo con agua y despues de hemolisis y homogeneización se toma 4 ml para el conteje. Para evitar la necesidad de corrección del decaimiento radioactivo, todas las muestras son contadas en una misma fecha y con error estadístico no mayor que el 1%.

El cálculo de la sobrevivencia está condicionado por diferentes factores, algunos relacionados con el problema hematológico en causa y otros, con la finalidad que se tiene en vista. En efecto, se sabe que la dependencia de los contajes (realizados en una misma fecha) con el tiempo, se traduce, analíticamente, por expresiones diferentes ^{7, 8, 19, 25} según existan o no, factores de agresión o defectos intrínsecos en los glóbulos, etc. Por otro lado, hay casos en que el conocimiento de que la duración de la vida de los eritrocitos se encuentra significativamente alterada (disminuida, en general) es clínicamente satisfactorio. En otros, sin embargo, existe la necesidad de obtenerse la duración media de la vida de los hematíes con la mayor exactitud posible. En estas circunstancias, es preferible, desde el comienzo, someter los datos a un tratamiento que, en primera aproximación, se aplica a cualquier caso. Deseamos advertir que, cualquiera que sea el método de cálculo adoptado, los resultados son válidos dentro de ciertas hipótesis. Una premisa admitida — explícita o implícitamente — en la generalidad de los procedimientos de cálculo que han sido propuestos, es la constancia del valor medio de la volemia durante el período de recolección de las muestras.

El procedimiento general que empleamos es el común ^{6, 8, 10, 15} y que contiene implícitamente la hipótesis de que la destrucción de los hematíes se da al

acaso y que la cantidad de ^{51}Cr que eluye es proporcional a la presente. En primera aproximación puede ser aplicado a cualquier caso. La variación de los contajes (hechos en una misma fecha) con el tiempo es representada por:

$$c(t) = c_0 \cdot e^{-(k+k_1)t} \tag{11}$$

$$R(t) = 100 \cdot e^{-(k+k_1)t} \tag{12}$$

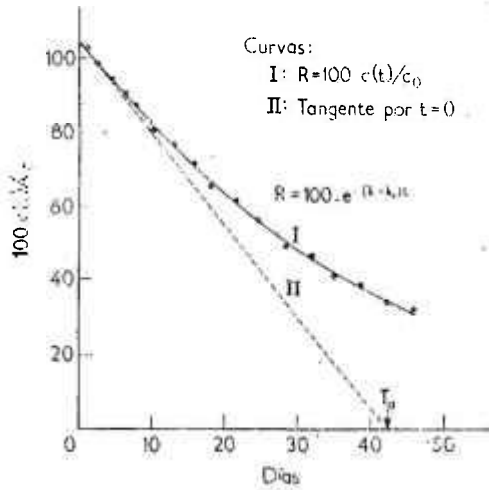


FIG. 3.

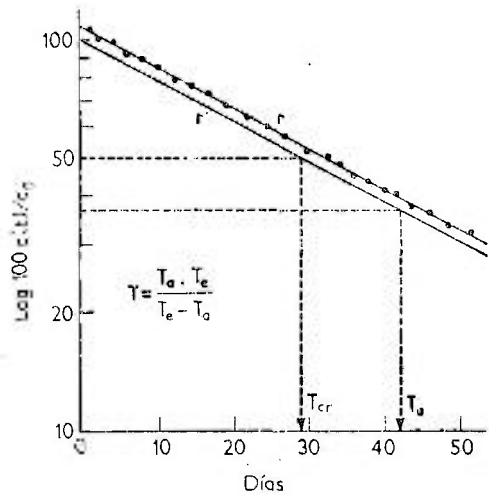


FIG. 4.

con k "constante de destrucción" de los glóbulos y k_1 , "constante de elución". Los datos son representados en gráfico lineal y en gráfico semi-logarítmico. Por los puntos medios trazamos la "curva de sobrevivencia" (Figs. 3 y 4). En el gráfico lineal se traza por el punto $t = 0$ una tangente a la curva de sobrevivencia: la intersección de ésta con el eje de los tiempos se dará en un

punto de abscisa $t = T_a$. Se tiene una primera estimación de la vida media aparente T_a . Una segunda estimación se tiene en el gráfico semi-logarítmico, pues el coeficiente angular de la recta es $-1/(k+k_1) = -1/T_a$. Por otro lado, T_a puede ser encontrado en el gráfico semi-logarítmico tirándose una recta r' paralela a la recta trazada y pasando por el punto del eje de las ordenadas que representa $R = 100\%$ y buscando la abscisa que en r' corresponde a la ordenada representativa de $R = 37\%$. A partir de T_a se calcula T :

$$T = \frac{T_a \cdot T_a}{T_r - T_a} \quad (13)$$

Tomamos, habitualmente, $T_a = 1/k_1 = 85$ días.

Cuando los puntos en el gráfico semi-logarítmico no se ajustan bien a una recta, o se tiene razones para formular otras hipótesis en relación al proceso de destrucción de los eritrocitos, sometemos los datos a otras "manipulaciones". La elección del nuevo procedimiento de cálculo se hace en base al primer resultado y a otros datos clínicos y de laboratorio. Como ilustración indicamos, a seguir, otras ecuaciones a que tratamos de ajustar los datos:

$$c(t) = c_0(1-t/T) \cdot e^{-kt} \quad (14)$$

$$c(t) = c_0(1-t/T) \cdot e^{-(K+k_1)t} \quad (15)$$

K : "constante de agresión".

$$c(t) = c_0 \frac{e^{-Kt} - e^{-KT}}{1 - e^{-KT}} \cdot e^{-kt} \quad (16)$$

$$c(t) = c_0(1-t/T_r)(1-t/T_{ex})e^{-kt} \quad (17)$$

La (17) es preferible a la (12) cuando T cae dentro de los límites normales (80 a 130 días) o próximo de ellos. La (15) es la ecuación de elección cuando transfundimos hematíes normales en pacientes en los cuales quedan sujetos a una agresión. En este caso, la sobrevivencia de los eritrocitos transfundidos, en el receptor (T_r), será dada por la (18). Si los hematíes sufren agresión desde su producción es la (16) la que debemos ajustar a los datos. La (19) es, entonces, la expresión de la vida media efectiva (T_r) de los hematíes. La (17) es la ecuación de Callender *et al.*³ adaptada al uso de radiocromo. La empleamos cuando las anteriores no permiten buen ajuste. La sobrevivencia es dada por la (20), en ese caso:

$$T_r = \frac{1}{K} + \frac{1}{K^2 T} + \frac{e^{-KT}}{KT^2} \quad (18)$$

$$T_r = \frac{1}{K} (1 - e^{-KT}) \quad (19)$$

$$T = \frac{3T_r \cdot T_{ex} - T_{ex}^2}{6 \cdot T_r} \quad (20)$$

Ya hicimos en nuestro laboratorio más de 400 determinaciones de sobrevivencia con uso del ^{51}Cr . En la gran mayoría de los casos el procedimiento general fue conducido a resultados clínicamente satisfactorios. En algunos casos la (16) ha dado resultados más consistentes, mientras que para los normales la (15) es la que elegimos.

Diferentes autores^{21, 22} se refieren a una caída inicial, más acentuada, de la radioactividad de los glóbulos, en las primeras 24 h después de la marcación y reinyección. La razón de este hecho no se halla bien esclarecida: puede ser interpretado admitiéndose que parte del ^{51}Cr que penetra en los glóbulos, se halla débilmente o no se halla ligada a la globina, eluyéndose más rápidamente, con semi-periodo de 1,5 días. Recientemente, Mollison,²² reexaminando el problema del aspecto de las curvas de sobrevivencia obtenidas con ^{51}Cr en individuos normales, llama la atención para el hecho y pone en evidencia que el proceso de marcación puede influir en los resultados: sugiere, también, la posibilidad de que la componente rápida de la elución pueda ser, en verdad, doble, una con semi-periodo de algunas horas y otra con dos días. Tales observaciones indican que el problema de la marcación de los hematíes debe ser mejor estudiado y entendido. En lo que dice respecto a la determinación de la sobrevivencia, recogiendo la primera muestra después de las 24 h posteriores a la reinyección, el efecto decorrente de la "elución rápida" queda prácticamente eliminado.

La interurrencia de alteraciones en las condiciones del paciente, puede alterar o no, el aspecto de la curva de sobrevivencia. Imaginemos que el ritmo de producción de los glóbulos sea, a partir de un momento dado (después de la marcación), disminuido, traduciéndose por una reducción del hematocrito. Como el organismo tiende a mantener la volemia, el volumen de distribución permanece el mismo: ninguna alteración será observada en la curva de sobrevivencia. Lo mismo ocurre cuando hay un aumento del ritmo de producción (consecuente al tratamiento con corticoides, por ejemplo) (después de la marcación): el hematocrito tiende a aumentar, mas, desde que la volemia no se altere, el aspecto de la curva de sobrevivencia continuará el mismo. Supongamos, ahora, que el paciente entre en crisis hemolítica (después de la marcación), habiendo una reducción del hematocrito: el aspecto de la curva de sobrevivencia será modificado y esa mudanza traduce una reducción de la vida de los eritrocitos. En la hipótesis figurada, los datos deberán ser reunidos en dos grupos a ser tratados separadamente. Se tendrá dos resultados: uno indicará la vida media de los glóbulos rojos del paciente fuera de la crisis y el otro, durante la crisis. Un hecho semejante tendrá lugar cuando, durante la prueba, un factor hemolítico presente sea removido o deje de actuar: la sobrevivencia irá a aumentar, modificándose, consecuentemente, el aspecto de la curva. Las observaciones de arriba nos llevan a aceptar la marcación de los glóbulos con ^{51}Cr , como capaz de suministrar buenas indicaciones sobre los procesos de destrucción de los eritrocitos.

Los procedimientos de cálculo indicados, son válidos en la suposición de que la volemia del paciente se mantiene, en media, constante. Se sabe que el organismo tiende a mantener la volemia: ésta se halla sujeta a oscilaciones (a consecuencia de diferentes causas, como postura, por ejemplo), mas, su valor medio no varía en forma acentuada (tomándose al paciente en condiciones análogas), a menos que ocurran hemorragias, transfusiones, etc. Es claro que habiendo modificaciones de la volemia el volumen de distribución de los glóbulos marcados es alterado: las muestras no representarán mas la misma fracción de ese volumen y esto inducirá un error en el conteo, que se traducirá por una dispersión — mayor o menor — de los puntos representativos, alrededor de la curva de sobrevivencia. Turnbull *et al.*,³⁶ indicaron como corregir ese error, haciendo determinaciones seriadas de la volemia. Desde el punto de vista de la práctica corriente, es preferible recoger un número relativamente

elevado de muestras (cerca de diez, en el método que indicamos): los errores decurrentes de las oscilaciones de la volemia, tienden a compensarse.

Otra causa de error, que puede afectar los datos, está representada por la variación de la relación entre el hematocrito corporal y el periférico. Turnbull *et al.*³⁶ examinan, también, esa cuestión, indicando la corrección, que envuelve — como en el caso de la volemia — la determinación seriada del volumen sanguíneo. A nuestro ver, un mostraje adecuado contorna el problema.

En algunos casos, el aspecto de la curva de sobrevivencia sufre alteraciones que no pueden ser convenientemente interpretadas. Es lo que sucede, por ejemplo, cuando los glóbulos marcados no fueron producidos en rit no uniforme (premisa implícita en todos los procedimientos de cálculo indicados). No se puede, entonces, pretender obtener valores precisos para la vida media. Lo más que se puede hacer, son estimativas groseras que serán, entretanto, útiles desde el punto de vista clínico.

4. USO DEL ^{59}Fe

Dos aspectos de la cinética del hierro han sido particularmente estudiados con auxilio de sus radioisótopos (especialmente el ^{59}Fe): la renovación del hierro plasmático y la del hierro eritrocitario. Para la comprensión exacta de lo que ocurre en diferentes hemopatías, es necesario, muchas veces, un conocimiento más completo del "movimiento" del hierro en el organismo y de su distribución. Para alcanzar ese objetivo, son preconizados dos tipos de mediciones, realizadas después de la administración endovenosa de dosis trazadoras de ^{59}Fe : mediciones *in vitro* de muestras de plasma y de glóbulos rojos y, mediciones *in vivo*, por contaje externo, en determinadas regiones del cuerpo (hígado, bazo, sacro).

Muchas veces el ^{59}Fe es usado concomitantemente^{27, 37} con el ^{51}Cr , éste para permitir la determinación de la volemia y de la sobrevivencia de los eritrocitos por camino independiente del empleo del radiohierro.

(A) ADMINISTRACION DEL RADIOHIERRO

La técnica de la administración endovenosa del radiohierro, cuando se tiene en vista el estudio de la ferrocinética, envuelve dos premisas. La primera, relacionada con la cantidad de hierro a ser introducida en el organismo y la segunda, relativa a la forma bajo la cual la administración es hecha. La cantidad de hierro debe constituir, realmente, una dosis trazadora, esto es, no debe inducir alteración en el equilibrio de distribución. En estas circunstancias, el radiohierro debe ser de actividad específica lo más elevada posible a fin de que la masa administrada no sobrepase una o dos decenas de microgramos de hierro. Sobre la cuestión parece haber uniformidad de punto de vista entre los investigadores. En cuanto a la forma bajo la cual el trazador es introducido en la circulación, las opiniones difieren. Están los que, siguiendo a Loeffler *et al.*,¹⁷ preconizan la inyección directa en la vena del paciente. Justifican tal procedimiento alegando dos hechos. Primero, que aún en la hipótesis, poco frecuente, de encontrarnos delante de un caso en que 95% de la capacidad del plasma en ligarse al hierro esté saturada, la disponibilidad de 5% representaría 150 μg de hierro que todavía podrían ser ligados a cada litro de plasma. Segundo, que la ligadura del hierro a la siderofilina es muy rápida, pues, se sabe²³ que después de dos minutos, es prácticamente completa. Tales argumentos no nos convencen. Es hecho sabido que las vías metabólicas

del hierro iónico — no complejoado con la transferrina — no son exactamente las mismas que las del hierro ligado a la proteína transportadora. Siendo así, parte del hierro introducido directamente en la circulación puede ser, inclusive, eliminado antes de la formación del complejo. Las consideraciones anteriores nos llevan a adoptar la marcación *in vitro* del plasma del paciente o a emplear plasma reciente de un donante normal. A veces, del plasma marcado es hecho un padrón y avaluado la cantidad inyectada en términos de impulsos por minuto. Otras veces no. La masa inyectada M_i , en el primer caso, es determinada, así como la m_p utilizada para el padrón. Si éste fué preparado por dilución en balón aforado de 250 ml y, en alícuotas de volumen v , el contaje líquido es c_p , inyectamos C_i "impulsos por minuto":

$$C_i = 250 \frac{M_i \cdot c_p}{m_p \cdot v} \quad (21)$$

(B) MOSTRAJE Y CONTAJE "IN VITRO"

Después de 5 min de la inyección, se recoge la primera muestra. Nuevas colectas son hechas a los 10 y a los 30 min y subsiguientemente, cada 30 min hasta la 4ª o 6ª h. A continuación, cada 24 o 48 h (de la administración del ^{59}Fe) son hechas nuevas tomas de sangre hasta el 12º o 14º día. Las tomas de sangre deben ser de volúmen tal que permitan obtener cerca de 3 ml de plasma en cada caso.

De las muestras recogidas en el día de la administración solo nos interesamos por el plasma. De las restantes preparamos plasma y glóbulos para contaje, por separado. Las cuentas líquidas de las muestras de plasma son reducidas a igual volúmen e igual tiempo. Los contajes líquidos de los glóbulos (efectivamente lisados de glóbulos) c_g , reducidos a un mismo tiempo, son multiplicados por la relación entre la volemia V y el volúmen v de las muestras. Se obtienen así los contajes C_j presentes en la sangre total y debida al radiohierro incorporado a la hemoglobina. Ese número dividido por el "contaje inyectado" suministra la fracción A_j de radiohierro incorporado a los glóbulos hasta la fecha correspondiente a la muestra:

$$C_j = \frac{V}{v} \cdot c_g$$

$$A_j = \frac{c_g \cdot m_p \cdot V}{250 \cdot c_p \cdot M_i} \quad (22)$$

Cuando el padrón no fué preparado, se extrapola en el gráfico semi-logarítmico en que son representados los contajes líquidos de las muestras de plasma (ver adelante), el contaje c_0 que se tendría en el tiempo cero. Suponiéndose que en ese instante todo el hierro radioactivo se encuentra en el plasma, el número de contajes inyectados sería, $V_p \cdot c_0 / v$, con V_p , volúmen plasmático. Para A_j resulta,

$$A_j = \frac{c_g}{c_0} \cdot \frac{1}{1 - H_{10}} \quad (23)$$

(C) CONTAJES "IN VIVO"

Para la realización de contajes *in vivo* se emplea una cabeza de cintilación con cristal cilíndrico de 2 in. x 2 in. ligada a un analizador de impulso usado como discriminador. Son hechos contajes sobre el hígado, el bazo y el sacro

(médula), entre las tomas de sangre a los 10 y a los 20 min y, subsiguientemente, de hora en hora hasta la 4ª h. Posteriormente, se realizaron nuevos contajes cada 24 h hasta el 14º día. Los contajes líquidos obtenidos en cada uno de los tres lugares, son divididos por el correspondiente valor extrapolado para el tiempo cero. Esos cocientes multiplicados por cien, darán los contajes relativos.

(1) REPRESENTACION DE LOS RESULTADOS DE LOS CONTAJES

Los contajes líquidos relativos a las muestras de plasma son representados en papel semi-logarítmico, y se traza la *curva de depuración plasmática* del ^{59}Fe . En la Fig. 5 indicamos algunos tipos de curvas obtenidas cuando el

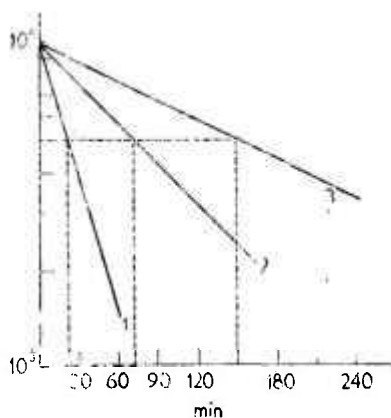


FIG. 5.

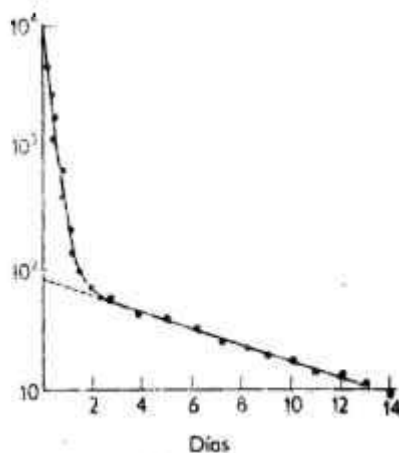


FIG. 6.

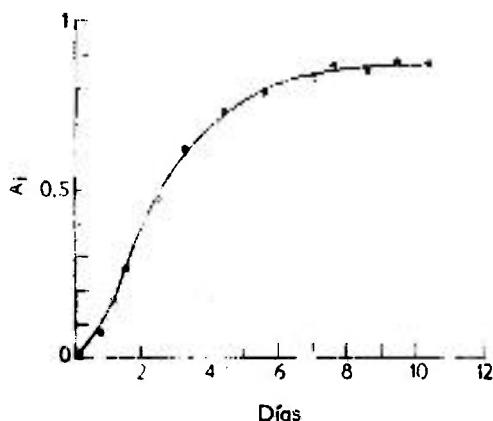


FIG. 7.

mostraje fué conducido hasta la cuarta hora. Son prácticamente rectas. En la Fig. 6 se halla representada la curva obtenida en un individuo "normal" y llevada hasta el 14º día. Se ve claramente que la recta es substituida por una curva descomponible en dos rectas

Las fracciones A_j que indican el porcentaje de radiohierro incorporado a los hematíes, son representadas en función del tiempo, en gráfico lineal (Fig. 7), y trazada la *curva de aprovechamiento* o de *incorporación del radiohierro*. En la Fig. 8 están representados algunos tipos de curvas de incorporación que hemos obtenido.

Los contajes relativos sobre el hígado, el bazo y el sacro, son representados en escala lineal.

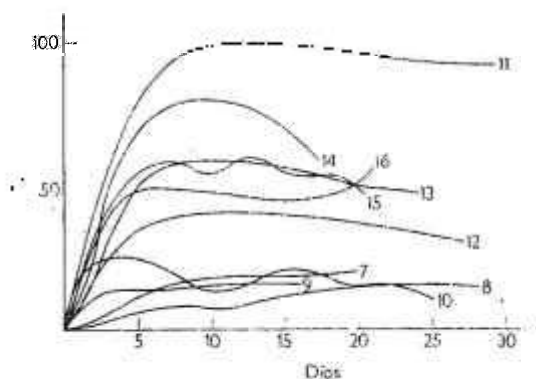


Fig. 8.

(E) CALCULO DE LOS RESULTADOS

Seguindo a Huff *et al.*,¹³ se determina la *tasa de renovación diaria del hierro plasmático* y la *del hierro eritrocitario* (o la producción diaria de hemoglobina, lo que es equivalente). La *tasa de renovación diaria del hierro plasmático* (F_p) (cantidad de hierro que es renovada por día y por 100 ml de sangre) es dada por,

$$F_p = \frac{F_c}{T_{1/2}} (1 - H_{12}) \quad (23)$$

con F_c , ferremia en microgramos de hierro por 100 ml de plasma y $T_{1/2}$ tiempo de media-depuración, dado en minutos y obtenido a partir de la curva de depuración plasmática (considerada como recta). Para obtenerse la (24) se hizo la aproximación $24 \times 60 \times 0,693 \cong 1000$, sugerida por Bothwell *et al.*¹ Con las unidades indicadas F_p será dado en mg/día/100 ml de sangre.

La *tasa de renovación diaria del hierro eritrocitario* (F_e) es calculada multiplicándose F_p por un *coeficiente de incorporación* k_i o de *aprovechamiento*, obtenido a partir de la curva de incorporación del ^{59}Fe :

$$F_e = k_i \cdot F_p \quad (25)$$

¿. través de F_h y de la determinación del hierro hemoglobínico por 100 ml de sangre F_t , se puede calcular la vida media T de los eritrocitos que no será sino el tiempo que tarda F_t en ser renovado, esto es,

$$T = \frac{F_t}{F_h} \quad (26)$$

El resultado sería verdadero si F_h representase realmente la cantidad de hierro eritrocitario que es renovada diariamente.

(F) USO DE MODELOS

En principio, "siguiéndose" la distribución de un trazador se puede determinar los *coeficientes de transferencia* entre los varios compartimientos en que el elemento se distribuye en el organismo. Y, conociéndose la cantidad presente en una fase (compartimiento), se puede determinar cuanto hay en las otras, en condiciones de equilibrio. La resolución del problema envuelve la elección de un "modelo" para representar la distribución compartimental del elemento "trazado". Un mismo conjunto de datos experimentales puede conducir a conclusiones diferentes, según el modelo empleado. Ya Huff *et al.*¹³ llamaron la atención hacia el papel del modelo, no solo en el cálculo, sino también en la interpretación de los resultados. Según el método habitual de cálculo,^{11,14} tratase el problema de la depuración plasmática del ⁵⁹Fe como el de la retirada del trazador de un compartimiento, en ritmo constante, y sin "feed-back". Como los compartimientos extra-vasculares son mayores que el plasmático, a raíz de la velocidad relativamente pequeña de los intercambios se puede, en una primera aproximación, considerar depreciable el retorno del trazador al plasma, en las primeras horas que siguen a la administración del radiohierro. Mas adelante mostraremos que esta hipótesis lleva a un aprovechamiento del hierro igual al 100%, lo que no siempre es verdad. Por otro lado, en diferentes hemopatías, la situación puede ser tal, que el retorno del trazador al plasma, no puede ser mas despreciado. Tales hechos han llevado a diferentes autores, entre los cuales, Huff y Judd,¹⁴ Pollycove y Mortimer,²⁸⁻³¹ Sharney *et al.*,^{32,34} a introducir modelos en los cuales la distribución del hierro es representada de forma mas próxima a la real. Es obvio que el modelo empleado deberá variar con el problema clínico y su elección debe ser hecha en base al conjunto de las mediciones realizadas y de otros datos, clínicos y de laboratorio, disponibles. Infortunadamente, no se tiene todavía una comprensión muy clara de todos los factores que influyen en la renovación del hierro plasmático y la producción de células rojas.

(G) MODELO A QUE SE ADAPTARIA EL ESQUEMA USUAL

Procuramos a continuación, verificar, hasta que punto el esquema usual de cálculo es compatible con un modelo de distribución del hierro en el cual no hay retorno al compartimiento plasma, a no ser a través de la lisis de los eritrocitos. Examinemos, inicialmente, el modelo representado en la Fig. 9. Fueron representados tres compartimientos: "plasmático" (P), "medular" (M) (incluyendo el "pool lábil") y el "eritrocitario" (H). Las ecuaciones que darían la evolución con el tiempo de la actividad en esos compartimientos son:

$$P^* = P_0^* \cdot e^{-k_{12} \cdot t} \quad (27)$$

$$M^* = \frac{k_{12} \cdot P_0^*}{k_{23} - k_{12}} [e^{-k_{12} \cdot t} - e^{-k_{23} \cdot t}] \quad (28)$$

$$H^* = \frac{P_0^*}{k_{12} - k_{23}} [k_{23} \cdot e^{-k_{12} \cdot t} - k_{12} \cdot e^{-k_{23} \cdot t}] + P_0^* \quad (29)$$

El coeficiente k_{12} representaria el ritmo de la depuración plasmática

$$k_{12} = 0,693/T_{1/2}$$

del ⁵⁹Fe. P^* , M^* y H^* son las cantidades de trazador en cada compartimiento, en el instante t . La cantidad inyectada es P_0^* . La desaparición del ⁵⁹Fe del

plasma es representada por una exponencial simple. Como P y H (hierro en el plasma y en los glóbulos) pueden ser determinados por métodos clásicos, k_{21} queda determinado por la condición de equilibrio: $P = k_{31} \cdot H$. Su recíproco daría la vida media T de los eritrocitos.

Es fácil reconocer que dentro de ese modelo, el aprovechamiento del radiohierro es 100% ($k_i = 1$). En efecto, de la (29) resulta, después de un tiempo

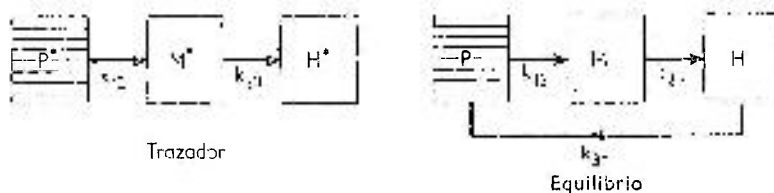


FIG. 9.

suficientemente largo, $H_{\max}^* = P_0^*$, esto es, todo el trazador acabaría siendo transferido a los hematias. La tasa de renovación del hierro plasmático sería igual a la del hierro eritrocitario. Ese resultado proviene de haberse considerado que todo el hierro radioactivo sale del plasma para el compartimento medular, lo que no corresponde a los hechos, pues se sabe que para compartimientos extra-medulares, mesmo en normales va una fracción de lo que es

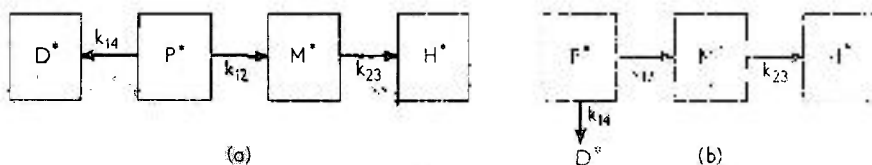


FIG. 10.

transferido para la médula. De este último inconveniente no escapa, como veremos mas adelante, el modelo de Pollock y Mortimer²⁸⁻³⁰ para normales cuando no consideran el "depósito".

Como podríamos modificar el modelo para obtener k_i inferior a 1, manteniendo la salida del trazador del plasma representada por una exponencial simple? Bastaría imaginar la existencia de un compartimento D (Fig. 10) que, o acumule indefinidamente hierro o a través del cual, el hierro es separado del organismo. Se reconoce que, en el primer caso la cantidad que se acumularía en D (funcionando como "depósito") alcanzaría valores extremadamente elevados (mas de un gramo de hierro por año, en un individuo con 85% de aprovechamiento). En el segundo, la cantidad "eliminada" por el organismo sería cerca de tres veces lo que ocurre. Las ecuaciones que representarían la variación de la cantidad de trazador, en función del tiempo, en cada compartimiento, son:

$$P^* = P_0^* \cdot e^{-rt} \tag{30}$$

$$M^* = \frac{k_{12} \cdot P_0^*}{k_{23} - r} [e^{-rt} - e^{-k_{23}t}] \tag{31}$$

$$H^* = \frac{k_{12} \cdot P_0^*}{r - k_{23}} \frac{k_{34}}{r} [e^{-r_1 t} - e^{-r_2 t}] + k_1 \cdot P_0^* \quad (32)$$

$$L^* = \frac{k_{14} \cdot J_0^*}{k_{23} \cdot r} [e^{-r_1 t} - e^{-r_2 t}] \quad (33)$$

$$r = k_{12} + k_{13} \quad (34)$$

$$k_1 = \frac{k_{13}}{k_{14} + J_{24}} \quad (35)$$

La cantidad máxima de trazador en el compartimiento "eritrocitario" es $H_{\max}^* = k_1 \cdot P_0^*$. El coeficiente de utilización k_1 es la relación entre k_{13} y $r = k_{12} + k_{13}$. La necesidad de determinar k_1 experimentalmente provendría del desconocimiento de k_{14} .

No existe distribución compartimental del hierro que implique la salida del trazador del plasma según una exponencial simple y que se encuadre dentro de los hechos observados. Esto no nos debe causar mayores preocupaciones: en verdad, la experiencia muestra que la curva de depuración plasmática del hierro no es una recta, cuando el experimento es conducido por tiempo superior al usual, llegándose hasta el 12° o 14° día. En estas condiciones, no solo por razones teóricas, sino también experimentales, debemos admitir en los modelos el retorno del trazador al plasma. Del punto de vista práctico la implicación inmediata es que la curva de depuración deberá ser trazada con datos de cerca dos semanas: como al final de 24 h la radioactividad en el plasma es, aproximadamente, 10% a 10% de la cantidad inicial, resulta que los detectores empleados deberán ser de eficiencia más alta que los usuales, para que el tiempo de conteo de las muestras no sea demasiado largo.

(H) MODELO DE POLLYCOVE Y MORTIMER

En la Fig. 11 está esquematizado el modelo de Pollycove y Mortimer²⁸⁻³⁰ para los "normales". L es el "pool lábil" medular, S la "serie eritrocitaria".

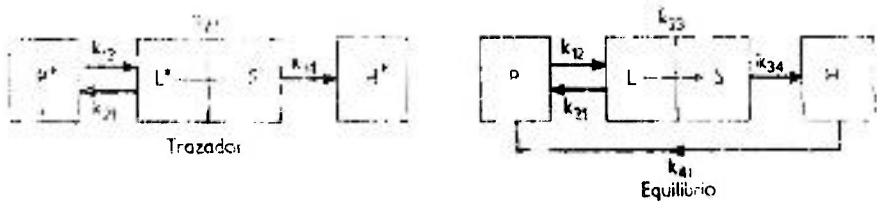
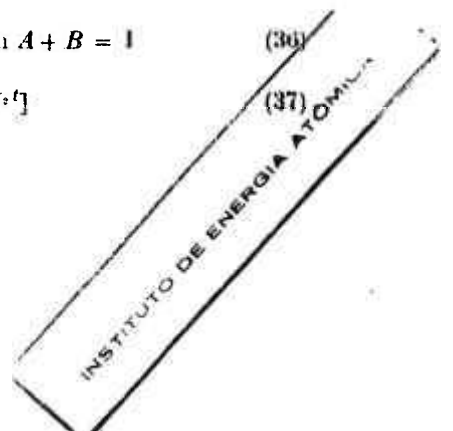


Fig. 11.

Los otros símbolos tienen el significado anterior. Las ecuaciones para la evolución de la actividad del trazador en los compartimientos son las siguientes:

$$P^* = P_0^* (A \cdot e^{-r_1 t} + B \cdot e^{-r_2 t}) \quad \text{con } A + B = 1 \quad (36)$$

$$L^* = \frac{k_{14} \cdot P_0^*}{k_{23} \cdot r} [e^{-r_1 t} - e^{-r_2 t}] \quad (37)$$



$$S^* = \frac{k_{12} k_{23} P_0^*}{r_2 - r_1} \left[\frac{1}{k_{34} - r_1} e^{-r_1 t} - \frac{1}{k_{34} - r_2} e^{-r_2 t} + \frac{(r_2 - r_1)}{(k_{34} - r_2)(k_{34} - r_1)} e^{-k_{34} t} \right] \quad (38)$$

$$H^* = \frac{k_{12} k_{23} k_{34} P_0^*}{r_2 - r_1} \left[\frac{e^{-r_1 t}}{r_1(r_1 - k_{34})} - \frac{e^{-r_2 t}}{r_2(r_2 - k_{34})} + \frac{(r_2 - r_1) e^{-k_{34} t}}{(k_{34} - r_1)(k_{34} - r_2) k_{34}} \right] + P_0^* \quad (39)$$

En esas expresiones r_1 y r_2 son dados por:

$$\left. \begin{aligned} -r_1 &= \frac{-(k_{12} + k_{21} + k_{23}) - \sqrt{[(k_{12} + k_{21} + k_{23})^2 - 4k_{12} \cdot k_{23}]}{2} \\ -r_2 &= \frac{-(k_{12} + k_{21} + k_{23}) + \sqrt{[(k_{12} + k_{21} + k_{23})^2 - 4k_{12} \cdot k_{23}]}{2} \end{aligned} \right\} \quad (40)$$

y para que sean reales, se debe tener: $(k_{12} + k_{21} + k_{23})^2 \leq 4k_{12} k_{23}$. Ajustándose la (36) a los datos de la curva de depuración plasmática se obtiene r_1 , r_2 y B (${}_0A = 1 - B$). Tres de los coeficientes de transferencia pueden ser calculados de inmediatos, a partir de esos parámetros:

$$\left. \begin{aligned} k_{12} &= r_1 - B(r_1 - r_2) \\ k_{23} &= \frac{r_1 \cdot r_2}{k_{12}} \\ k_{21} &= r_2 + B(r_1 - r_2) - \frac{r_1 r_2}{k_{12}} \end{aligned} \right\} \quad (41)$$

Con esos datos y las ecuaciones de equilibrio, podremos determinar la cantidad de hierro en el "pool lábil" y la tasa de renovación del hierro eritrocitario. Se tiene,

$$L = \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{23}} \cdot P \quad (42)$$

$$F_k = \frac{k_{12} k_{23}}{k_{12} + k_{23}} \cdot P \quad (43)$$

Determinándose el hierro eritrocitario H , podremos obtener k_{41} , cuyo recíproco sería la vida média de los glóbulos rojos:

$$k_{41} = \frac{k_{23} \cdot L}{H} \quad (44)$$

$$T = \frac{1}{k_{41}} = \frac{H}{k_{23} \cdot L} \quad (45)$$

En nuestra experiencia los valores que resultan para T son mayores de los que resultarían según el primer modelo examinado, pero, todavía, inferiores a los obtenidos por otros métodos. Las expresiones arriba son, esencialmente, las mismas que Dal Santo⁵ refiere haberlas obtenidos por comunicación personal de Polycove y que fueron recientemente publicadas por este.³¹

Observemos que la (39) conduce a un aprovechamiento de cien por ciento, pues se tiene $H_{\max}^* = P_0^*$. No debemos, pues, esperar que los valores obtenidos para los coeficientes de transferencia sean los verdaderos. Ventaja indiscutible

de este modelo, con respecto al primero, reside en el hecho de que la existencia del "pool lábil" es tenida en cuenta.

Podemos modificarlo (Fig. 12) para llevar en cuenta el hecho de que el aprovechamiento sea inferior a 100% y de manera a mantener la salida del trazador del plasma representada por una expresión como la (36). Para esto, es suficiente suponer que del compartimiento plasma el hierro puede seguir otro camino que no sea el del "pool lábil" medular y que lleve, sea a un depósito

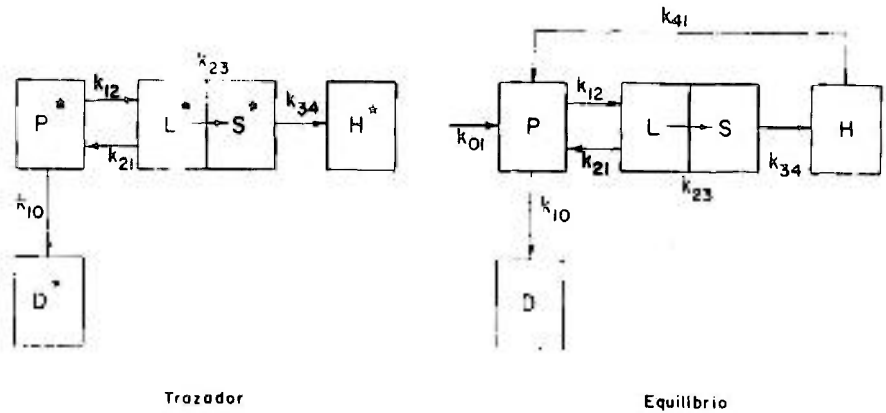


FIG. 10.

(D en la Fig. 12), o a la eliminación o a ambos destinos concomitantemente. Las ecuaciones que traducirían, entonces, la evolución con el tiempo, de la actividad en los diferentes compartimientos, serían:

$$P^* = P_0^* (A \cdot e^{-r_1 t} + B \cdot e^{-r_2 t}), \quad \text{con } A + B = 1 \quad (46)$$

$$L^* = \frac{k_{12} P_0^*}{r_2 - r_1} [e^{-r_1 t} - e^{-r_2 t}] \quad (47)$$

$$S^* = \frac{k_{23} k_{12} P_0^*}{r_2 - r_1} \left[\frac{1}{k_{34} - r_1} e^{-r_1 t} - \frac{1}{k_{34} - r_2} e^{-r_2 t} - \frac{r_1 - r_2}{(k_{34} - r_1)(k_{34} - r_2)} e^{-k_{34} t} \right] \quad (48)$$

$$H^* = \frac{k_{12} k_{23} k_{34} P_0^*}{r_2 - r_1} \left[\frac{e^{-r_1 t}}{r_1(r_1 - k_{34})} - \frac{e^{-r_2 t}}{r_2(r_2 - k_{34})} + \frac{(r_1 - r_2) e^{-k_{34} t}}{(k_{34} - r_1)(k_{34} - r_2) k_{34}} \right] + k_i P_0^* \quad (49)$$

$$k_i = \frac{k_{12} k_{23}}{r_1 r_2}; \quad r_1 r_2 = k_{12} k_{23} + k_{10} k_{23} + k_{10} k_{21}$$

$$r_1 + r_2 = k_{10} + k_{12} + k_{21} + k_{23} \quad (50)$$

$$k_{23} + k_{21} = r_2 - B(r_2 - r_1)$$

$$k_{12} + k_{10} = r_1 + B(r_2 - r_1)$$

$$D^* = -k_{10} P_0^* \left[\frac{1 - B}{r_1} e^{-r_1 t} + \frac{B}{r_2} e^{-r_2 t} \right] + k_{10} P_0^* \frac{k_{21} + k_{23}}{r_1 r_2} \quad (51)$$

El total que acabaría siendo transferido para el compartimiento H sería $H_{\max}^* = k_{12} \cdot k_{23} \cdot P_0^* / r_1 \cdot r_2$ y el que sería encontrado en D (suponiendo que el tiempo es suficientemente grande pero inferior al que decorre hasta el inicio de la lisis de los glóbulos marcados) sería dado por $D_{\max}^* = k_{10}(k_{21} + k_{23}) P_0^* / r_1 \cdot r_2$. Los valores que se encuentran para la cantidad acumulada o eliminada, dentro del esquema de la Fig. 12, son inferiores a los que se calcula a partir del modelo esquematizado en Fig. 10, pero son todavía superiores a los que, se sabe, son los reales. Este hecho sugiere que se deba considerar, de un lado, la transferencia para un depósito (posiblemente a través de uno "pool lábil", con feed-back para el plasma) y de otro, que no todo el hierro que es transferido para el erytron pasa a los hematíes: una parte de la hemoglobina puede permanecer con restos del citoplasma celular que quedan con el núcleo cuando este es eliminado para dar lugar a las células rojas. Tales hipótesis deben ser mejor examinadas al lado de otras, para que se pueda elaborar modelos que permitan llegar a resultados que se encuadren perfectamente dentro de los hechos observados. Por otro lado, es necesario que se investigue mejor la ley de distribución de la vida de los eritrocitos, para que se pueda evaluar hasta que punto puede ser despreciada la vuelta del trazador al plasma, a través de la lisis precoz de los glóbulos marcados, en los individuos normales. Nos parece que para la formulación de un modelo adecuado de la cinética del hierro, aún en individuos normales, es necesario obtener mas datos que los disponibles en este momento. El problema se complica cuando pasamos a considerar modelos satisfactorios en diferentes hemopatías, particularmente en las hemolíticas.

(I) USO DEL COMPUTADOR ANALOGICO

Frente a las dificultades arriba mencionadas el clínico, acostumbrado a recurrir a esquemas más simplistas, prefiere quedar con F_p y F_h calculados de la manera ya tradicional aún sabiendo de sus limitaciones. Para auxiliar al investigador no solo en la elección de los modelos, sino también en la obtención de parámetros característicos de la distribución compartimental, se puede recurrir al uso de los computadores electrónicos. En efecto, la determinación de los parámetros característicos de la distribución compartimental de un trazador, envuelve la solución de ecuaciones diferenciales: como ya señaló Brownell,² tales sistemas pueden ser resueltos con el auxilio de computadores. Entretanto, la elección del modelo, aunque pudiendo ser auxiliada por el empleo de computadores, debe ser primordialmente hecha en base a los datos fisiológicos o fisiopatológicos disponibles.

(J) USO DEL ^{51}Cr CONCOMITANTEMENTE CON EL ^{59}Fe

El uso concomitante del ^{51}Cr con el ^{59}Fe proviene de la dificultad práctica de determinar la sobrevivencia de los eritrocitos en base a los datos de depuración y aprovechamiento del hierro. Den un lado, mismo cuando se emplean modelos mas completos, no siempre se consigue tener datos susceptibles de un análisis matemático conveniente. De hecho, algunas veces, como en casos de *Thalase-mia*, no se tiene un "plateau" definido en la curva de aprovechamiento. A pesar de todo, es costumbre aceptar que la tasa de renovación plasmática del hierro calculada por los caminos habituales, da una buena idea de la eritropoiesis. Por otro lado, el ^{51}Cr daría un buen índice de la destrucción de los glóbulos. Cabe aquí una observación. Los datos obtenidos con el ^{51}Cr dicen

respecto a la sobrevivencia de los eritrocitos marcados tomados en la circulación periférica: no queda excluida la hipótesis de que en muchos casos, la población así marcada represente, apenas, una fracción de los glóbulos producidos: la de los mas resistentes de la población producida. Este factor debe concurrir para que los resultados obtenidos con el ^{51}Cr — principalmente en los casos en que hay hemólisis — sean efectivamente mas elevados que los reales, para la vida media. Nos parece que cuestiones como esa podrán ser esclarecidas debidamente con la determinación simultánea de la sobrevivencia, hecha con el DF^{32}P y el ^{51}Cr . Investigaciones de ese tipo podrán, por otro lado, traer bastante luz sobre el problema de la elución del ^{51}Cr , en las diferentes hemopatías.

Desde el punto de vista puramente clínico, la situación es mas favorable de lo que podría parecer delante de las cuestiones y dudas suscitadas arriba. Así, una revista hecha por los autores, de casi una centena de casos, les permite concluir que, del punto de vista de la clínica práctica, la determinación de la tasa de renovación del hierro plasmático y del hierro eritrocitario, al lado de la determinación de la sobrevivencia por el ^{51}Cr , suministran elementos casi siempre suficientes para, al lado de otros datos — como mediciones realizadas sobre la médula, el hígado y el bazo — tenerse una visión satisfactoria del cuadro clínico. Sin embargo, estamos ciertos de que la realización de un estudio mas completo de la cinética del hierro, con empleo de medios mas eficientes para la detección de las radiaciones, al lado de contajes *in vivo*, podrán ser obtenidos resultados mas interesantes e ilustrativos.

BIBLOGRAFIA

1. Bothwell, T. H., Hurtado, A. V., Donohue, D. M. y Finch, C. A. *Blood* **12**, 409 (1957). Erythrokinetics: IV. The plasma iron turnover as a measure of erythropoiesis.
2. Brownell, G. L. *J. clin. Endocrin.* **11**, 1095 (1951). Analysis of techniques for the determination of thyroid function with radioiodine.
3. Callender, S. T., Powell, E. O. y Witts, L. J. *J. Path. Bact.* **59**, 519 (1947). Normal red-cell survival in men and women.
4. Crosby, W. H. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **77**, 615 (1959). Methods for study of hemolytic disease.
5. Dal Santo, G. *Minerva nucleare* **2**, 307 (1958). Sulla possibilità di una valutazione quantitativa della ferrocinetica e della sintesi dell'emoglobina.
6. Donohue, D. M., Motulsky, A. G., Giblet, E. R., Pirzio-Biroli, G., Viranuvatti, V. y Finch, C. A. *Brit. J. Haemat.* **1**, 249 (1955). The use of chromium as a red cell tag.
7. Dornhorst, A. C. *Blood* **6**, 1284 (1951). The interpretation of red-cell survival curves.
8. Eadie, G. S. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **77**, 737 (1959). Studies on red-cell survival.
9. Eadie, G. S. y Brown, I. W. *J. clin. Invest.* **34**, 629 (1955). The potential life span and ultimate survival of fresh red blood cells in normal healthy recipients studied by simultaneous Cr^{51} and differential hemolysis.
10. Fieschi, A., di Pietrantonj, F. y Tizianello, A. *Sangre* **4**, 335 (1959). La curva de supervivencia eritrocitaria obtenida mediante el método del cromo radioactivo (Cr^{51}).
11. Finch, C. A., Gibson, J. G., Peacock, W. C. y Fluharty, R. G. *Blood* **4**, 905 (1949). Iron metabolism. Utilization of intravenous radioactive iron.

12. Hlad, C. J. y Tanz, R. *J. Lab. clin. Med.* **52**, 289 (1958). An analysis of technical errors in radioalbumin blood volume methods and presentation of a modified method.
13. Huff, R. L., Hennessy, T. G., Austin, R. E., Garcia, J. F., Roberts, B. M. y Lawrence, J. H. *J. clin. Invest.* **29**, 1041 (1950). Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patients having various hematopoietic disorders.
14. Huff, R. L. y Judd, O. J. "Advances in Biological and Medical Physics", IV. 223. Academic Press, New York (1956). Kinetics of iron metabolism.
15. Hughes-Jones, N. C. y Mollison, P. L. *Clin. Sci.* **15**, 207 (1956). The interpretation of measurements with Cr⁵¹ labelled cells.
16. Levey, S., Hower, J. y Loughride, R. H. *J. Lab. clin. Med.* **41**, 316 (1953). Laboratory factors influencing the determination of plasma volume using human albumin tagged with I¹³¹.
17. Loeffler, R. K., Rashfoff, I. A., Laevitt, D., Mayer, J. y Port, S. *Proc. Soc. exp. Biol., N. Y.* **88**, 441 (1955). Radioiron citrate as a tracer to determine disappearance rate of plasma iron in normals subjects.
18. Maspes, V., Pieroni, R. R. y Mellone, O. *Sangre* **4**, 45 (1959). Supervivencia de los hematíes de las sangres tratadas con violeta de genciana. Su importancia en la profilaxia de la enfermedad de Chagas transmitida mediante transfusión.
19. Maspes, V., Pieroni, R. R. y Varelli, C. R. *Sangre* (en publicación). Determinación de la volemia y de la supervivencia de los eritrocitos con dosis única de marcador.
20. Maspes, V., Jamra, M., Pieroni, R. R., Cillo, D. M., Gomes, Z. J. y Morais Rego, S. *Sangre* **4**, 351 (1959). Contribución al estudio del metabolismo del hierro en hemopatías diversas mediante el empleo de los isótopos radioactivos Fe⁵⁹ y Cr⁵¹.
21. Mollison, P. L. *Clin. Sci.* **21**, 21 (1961). Further observations on the normal survival curve of Cr⁵¹ labelled red cells.
22. Mollison, P. L. y Veall, N. *Brit. J. Haemat.* **1**, 62 (1955). The use of the isotope Cr⁵¹ as a label for red cells.
23. Monasterio, G. y Lattanzi, A. *Rass. Fisiopat. clin. terap.* **15**, 141 (1943). Il ricambio del ferro in condizioni normali. La ferremia serica dopo somministrazione endovena di ascorbinato ferroso.
24. Necheles, T. F., Weinstein, I. M. y Leroy, G. V. *J. Lab. clin. Med.* **42**, 358 (1953). Radioactive sodium chromate for the study of survival of red cells. I: The effect of sodium chromate on red cells.
25. Pieroni, R. R. y Maspes, V. Publicação I.E.A. n° 30. Alguns aspectos do problema da determinação da sobrevivencia dos eritrocitos.
26. Pieroni, R. R., Kieffer, J. y Maspes, V. "Uso concomitante do radio-cromato de sódio e da Sahri (I¹³¹) para determinação do volume globular e plasmático" (en prensa).
27. Pieroni, R. R., Maspes, V. y Herdade, S. B. *Sangre* **6**, 61 (1961). Determinación del Cr⁵¹ y del Fe⁵⁹ presentes en muestras de material biológico. Estudio de algunas técnicas.
28. Pollycove, M. y Mortimer, R. "Proc. 6th Int. Conf. of the Int. Soc. of Hemat.", p. 313. Grune & Stratton, New York (1958). The quantitative determination of individual iron kinetics and hemoglobin formation in human subjects.
29. Pollycove, M. y Mortimer, R. *Clin. Res. Proc.* **4**, 51 (1956). The quantitative determination of individual iron kinetics and hemoglobin formation in human subjects.
30. Pollycove, M. Iron kinetics. In "Iron in Clinical Medicine", pp. 43-57. Ed. R. O. Wallerstein y S. R. Mettler. Univ. Calif. Press, Berkeley and Los Angeles (1958).

31. Pollycove, M. y Mortimer, R. *J. clin. Invest.* **40**, 753 (1961). The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects.
32. Rambach, W. A., Cooper, J. A. y Alt, H. L. *J. Lab. clin. Med.* **46**, 941 (1955). The uptake of radio-iron in the bone marrow as a measure of erythropoiesis.
33. Sharney, L., Schwartz, L., Wasserman, L. R., Port, S. y Leavitt, D. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* **87**, 489 (1954). Pool systems in iron metabolism: with special reference to Polycythemia Vera.
34. Sharney, L., Wasserman, L. R., Schwartz, L., Tendler, D. y Wroman, L. "Proc. 6th Int. Conf. of the Int. Soc. of Hemat.", p. 314. Grune & Stratton, New York (1958). Extension of analysis of iron kinetics in terms of multiple pool systems.
35. Sunderman, H. J., White, F. D. y Israels, L. G. *Science* **126**, 650 (1957). Elution of chromium-51 from labeled hemoglobins of human adult and cord blood.
36. Turnbull, A., Hope, A. y Verel, D. *Clin. Sci.* **16**, 389 (1957). The effect of changes in red cell and plasma volumes in the estimation of red cell survival.
37. Weinstein, I. M. y Beutler, E. *J. Lab. clin. Med.* **45**, 616 (1955). The use of Cr^{51} and Fe^{59} in a combined procedure to study erythrocyte production and destruction in normal human subjects and in patients with hemolytic or aplastic anemia.

DISCUSSION

VARELA: I should like to ask where you would locate the labile compartment which is responsible for the second and third component of the $T_{1/2}$ ^{59}Fe curve.

PIERONI: The primary purpose of these investigations is to provide analytical data. As for the "labile pool", this is located mainly in the marrow, and the passage of the tracer through it can be followed by means of the sacrum measurements. To a certain extent, other locations are possible as well, mainly as a result of the deposits that are effected. A model which has hardly any labile pool in the marrow is liable to prove not entirely satisfactory.

VARELA: I think that one of the locations where it is most difficult to obtain reliable data after the injection of ^{59}Fe is the liver. In this case, it is very difficult to make proper allowance for the radioactivity from the ribs. It would be useful to study the liver in cases where this difficulty is obviated, for example, in patients in whom part of the ribs are removed during an operation. We have studied dogs in this way and have found that, once the ribs are removed, the liver counts are much lower; this would indicate that the labile pool is located not in the liver but in the bone marrow.

PIERONI: We too have noticed this interference from the ribs when making liver counts. We did try using a collimator, which makes it possible, as it were, to see through the intercostal area, but this reduced the efficiency of our technique so much that we dropped the idea. Your idea of studying experimental animals or human surgical cases might prove to be very valuable.

SPIRCHEZ (Chairman): Professor S. Manoilov has indicated his desire to describe in more detail some of the work done by I. F. Seits and I. S. Lukanova of the Leningrad Institute for Blood Transfusion, pertinent to the subject matter and dealing particularly with the use of radioisotopes for detecting differences between the leukocytes of normal and leukaemic subjects.