

DETERMINACION DE MASA ERITROCITICA Y VOLEMIA EN CANINOS UTILIZANDO CROMO RADIOACTIVO. VALORES NORMALES (*)

Por Rafael Celani Barry (1), Lidia V. de Heras (2)
y Lydia P. de Grieco (3)

RESUMEN

Utilizando eritrocitos marcados con $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$, se determinó la masa eritrocítica y la volemia de catorce perros normales.

Los animales eran de ambos sexos, de las razas más comunes en esta zona, y estaban comprendidos entre 6 meses y 8 años de edad, y entre 10 y 30 kilogramos de peso.

Los valores encontrados: 38,0 ml/Kg para masa eritrocítica y 8,07 % ml/Kg para volemia, concuerdan bien con los datos existentes en la bibliografía.

La relación volemia-peso resultó ser una relación lineal, como se esperaba.

En las condiciones de trabajo no se observó hemólisis.

ERYTHROCYTYC MASS AND BLOOD VOLUME DETERMINATION ON DOGS USING RADIOACTIVE CHROMIUM. NORMAL VALUES

SUMMARY

Using $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ labelled red cells erythrocytic mass and blood volume of 14 normal dogs was determined. The dogs were of both sexes belonging to ordinary breeds in this area, between 6 months and 8 years of age and from 10 to 30 Kg weight.

The values founded: 38,0 ml/Kg for the erythrocytic mass and 8,07 % ml/Kg for the blood volume agreed entirely with the bibliographic data.

The rate Globular Volume vs. Weight resulted in a linear relation such as expected.

Under the conditions established for the experience haemolysis was not to be found.

(*) Trabajo realizado en la Sección Radioisótopos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Recibido el 12-V-1971.

(1) Doctor en Medicina, Director de la Sección Radioisótopos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, y Profesor Titular de la Cátedra de Análisis Clínicos I de la Carrera de Bacteriólogo de la misma Facultad.

(2) Doctora en Ciencias Químicas, Jefe de Trabajos Prácticos de la Sección Radioisótopos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

(3) Doctora en Ciencias Veterinarias, Profesora titular de la Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Pequeños Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

ANTECEDENTES

Alrededor del año 1945 se hicieron los primeros trabajos sobre determinación de volemia empleando sustancias radioactivas, tratando de hallar un método más simple y exacto que el clásico del Azul de Evans.

Al principio se empleó P-32 (1) el que todavía se utiliza en ciertos casos, y Fe-59 (1 y 2) que se abandonó luego de comprobar que la reutilización del mismo por la médula al destruirse los glóbulos, introducía un factor de error muy grande.

En 1950 Gray y Sterling (3) demostraron que los eritrocitos contienen alrededor de 20 microgramos de Cr por 100 ml. y que puestos en contacto con Cromato de Sodio radioactivo, el Cromo de este compuesto se une rápidamente a la porción proteica de la molécula hemoglobínica.

Esta unión es lo bastante sólida como para no evidenciar variación apreciable al cabo de 24 horas de reinyectar los hematíes marcados. Sobre la base de esta observación, los autores mencionados proponen un método para la determinación de volemia en humanos (4). Poco después Ebaugh, Emerson y Ross (5) encontraron que la solución ACD de $\text{pH} = 6$ y a

temperatura ambiente, facilitaba la unión del Cr a la globina y que luego de 30 minutos de incubación de la sangre con el Cr en esas condiciones, el 90 % del Cr disponible ya se había incorporado a los eritrocitos.

Posteriormente se realizaron modificaciones de la técnica original. En 1954 Read (6), en 1955 Donohue (7) y en 1956 Small y Verloop (8) introdujeron algunas variaciones en el método de Gray y Sterling, y aportaron nuevas sugerencias.

En 1959, Clark y Woodley (9) realizaron un estudio de volemia en caninos, comparando los valores obtenidos utilizando métodos tradicionales (Rosa de Bengala, Azul de Evans), con los obtenidos mediante el Cr-51.

Dado que actualmente la técnica utilizando Cr-51 es la que más se adapta para determinaciones de volemia, y considerando la falta de datos sobre volemia en caninos en nuestro país, es objeto del presente trabajo realizar estas determinaciones en animales normales de esta zona a fin de obtener valores de comparación para posteriores análisis de casos patológicos.

MATERIAL Y METODO

Animales: Se trabajó con 14 perros procedentes del consultorio externo de la Clínica de Pequeños Animales de esta Facultad. Se trató de hallar ejemplares normales de las razas más comunes en esta zona.

Se utilizaron, en general, animales mestizos con características de las siguientes razas: Caniche, Ovejero alemán, Fox-terrier, Caniche, Pointer, Boxer y Labrador. Además, ejemplares puros de Caniche, Pointer y Ovejero alemán.

Los animales eran de ambos sexos de 6 meses a 8 años de edad, y su

peso oscilaba entre 10 y 30 kg.

Drogas

Na₂Cr⁵¹O₄: Se obtuvo de la Comisión Nacional de Energía Atómica, en solución isotónica y estéril con una actividad específica de 200 Ci/g. de Cr. Esta actividad es lo suficientemente alta como para descartar cualquier efecto tóxico debido al Cromo, en las dosis utilizadas.

ACD: Solución de Citrato de Sodio, Acido Cítrico y Dextrosa, estéril y apirógena, "Baxter".

Heparina: Solución estéril conte-

niendo 5000 unidades F. E. U. /cm³ de Heparina sódica, "Abbott Laboratories Argentina".

Acido ascórbico: 1000 mg/ampolla "Redoxón inyectable, Roche".

Instrumental

Detector de centelleo: Detector de pozo con cristal de Na I activado con 1% de Talio, de la firma Nuclear Chicago, U. S. A. Modelo DS - 202.

Escalímetro: Modelo 8775. De la misma fabricación que el detector de centelleo.

Técnica.

Se emplea material de vidrio silicónado para el manipuleo de la sangre, con el objeto de evitar en lo posible la hemólisis, tan frecuente en la sangre de estos animales.

Las muestras se obtienen preferentemente de las venas braquial anterior y safena utilizando jeringas humedecidas con heparina y realizando la aspiración con mucha suavidad.

La sangre se incuba en frasco estéril con Cr - 51, previo agregado de solución ACD de pH = 6,0. Las cantidades de sangre, solución ACD y Cr - 51 utilizadas fueron proporcionales al peso de los animales: 5 a 10 ml de sangre, 20 a 60 microcuries de Cr - 51 (2 microcuries por Kg. de peso), y 2,5 a 5 ml de solución ACD, según el caso.

La mezcla se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos, agitando frecuentemente con suavidad.

Terminado el período de incubación se reinyectan al animal de 6 a 13 ml de sangre marcada, pesando exactamente la cantidad introducida (P_M) y reservando aproximadamente 1 ml de la mezcla para hacer el tes-

tigo con la misma sangre incubada "in vitro".

Treinta minutos después de reinyectada la sangre, tiempo suficiente para lograr una buena mezcla en el torrente circulatorio, se extraen 5 ml de sangre, de los cuales:

a) 3 ml se pasan a un tubo contador adecuado al equipo de mediciones, se lavan 2 veces con solución fisiológica, centrifugando y extrayendo el líquido sobrenadante cada vez. Estos glóbulos lavados se llevan nuevamente a volumen (3 ml) con solución fisiológica y se agrega saponina para hemolizar la solución, evitando así errores por factores geométricos en la medida de la actividad de las muestras.

Se determina entonces la actividad de esta solución (M), colocando el tubo en el pozo del centelleador y midiendo las cuentas por minuto (c. p. m.) con el escalímetro.

La operación de lavado descrita, se realiza simultáneamente con la sangre reservada para el testigo. Con esta sangre lavada se hace una solución al 1%, de la siguiente manera: Se pesa exactamente la cantidad a utilizar (P_T), alrededor de 1 g, y en un matraz aforado de 100 ml se lleva a volumen con solución fisiológica. De esta solución se colocan 3 ml en tubo contador, se agrega saponina, y se determina su actividad en c.p.m. (T) de la misma manera que para (M).

b) Con los 2 ml restantes de sangre extraída, se hace una determinación de hematocrito con el método convencional.

Cálculo.

Se calcula primeramente el total de c.p.m. inyectadas:

$$\frac{T \times PM \times \text{Dilución del testigo}}{P_T} \quad (\text{c.p.m.}) \quad (1)$$

donde: T, actividad del testigo
P_M, peso de la muestra, en gramos.

P_T, peso del testigo en gramos.

Con este valor, se determina el volumen de los eritrocitos (masa globular)*

$$\frac{\text{c. p. m. (1)} \times \text{Hematocrito} \times 0,98 \times 3}{M} \quad (\text{ml})$$

donde: c.p.m. (1), cuentas por minutos calculadas en la ecuación (1).

Hematocrito, valor %.

0,98, corrección por plasma atrapado.

3, volumen de la muestra en ml.

M, actividad de la muestra en c.p.m.

La volemia se calcula como sigue:

$$\frac{\text{Volumen de los eritrocitos}}{\text{Hematocrito}} \quad (\text{ml})$$

RESULTADOS

En la tabla 1 se consignan las siguientes columnas:

a) Número de orden del caso estudiado.

b) Peso del animal en kilogramos.

c) Hematocrito %.

d) Masa globular, en mililitros.

e) Masa globular por Kg de peso, en ml/Kg.

f) Volemia, en mililitros.

g) Volemia por Kg de peso, en % del peso del cuerpo: (% ml/Kg.)

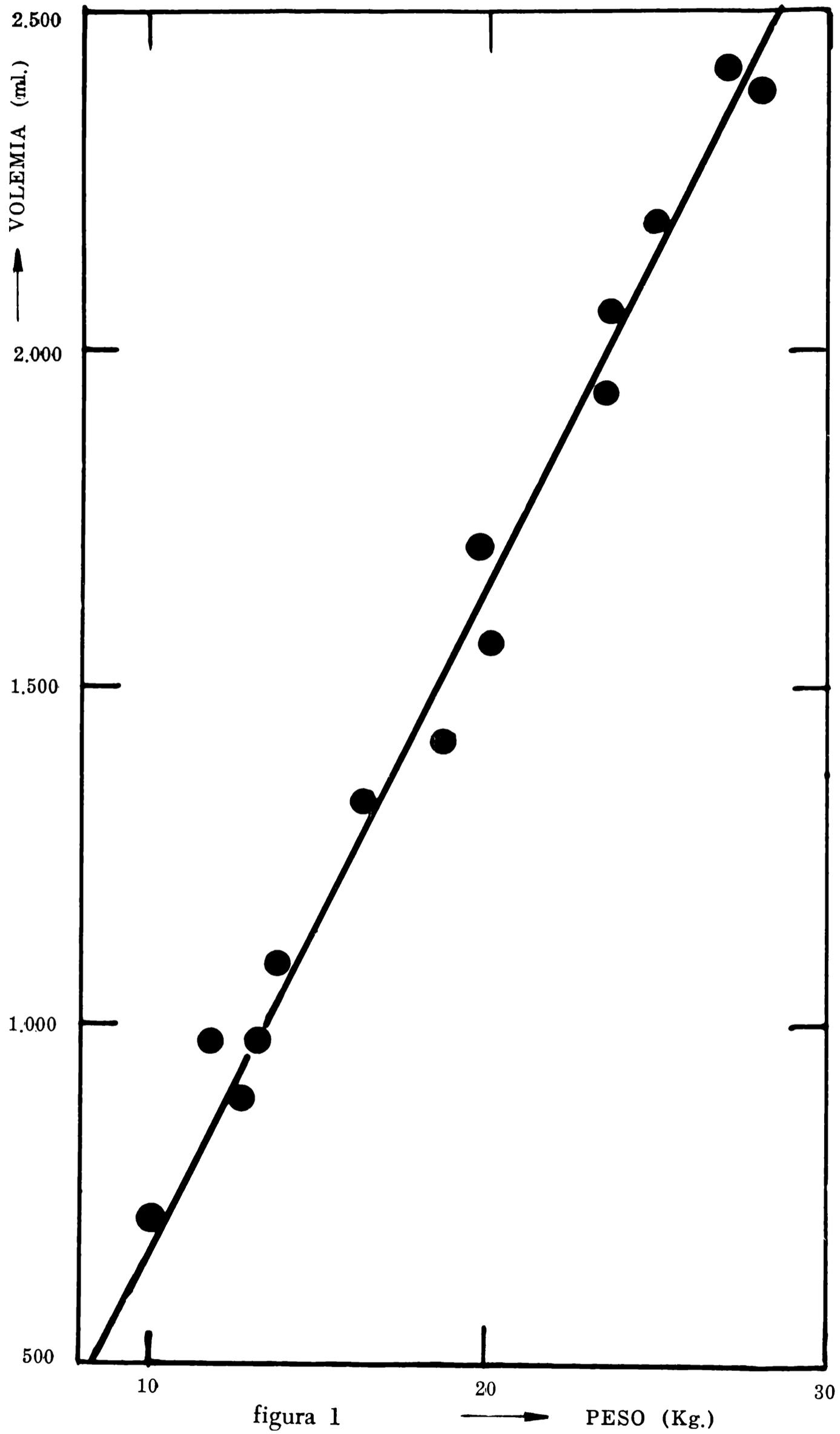
Tabla 1

	Peso (Kg)	Hemat. (%)	Masa glob. (ml)	Masa glob. (% ml/Kg)	Volemia (ml)	Volemia (% ml/Kg)
1	28,0	44,5	1064	38,0	2391	8,54
2	27,2	48,0	1158	42,6	2412	8,87
3	25,0	46,7	1023	40,9	2190	8,76
4	23,9	42,6	879,7	36,8	2065	8,64
5	23,2	46,4	904,8	39,0	1950	8,41
6	12,5	49,1	437,0	35,0	890	7,12
7	14,0	49,5	538,6	38,5	1088	7,77
8	20,0	50,0	852,0	42,6	1704	8,52
9	18,5	51,0	731,9	39,6	1435	7,76
10	20,0	49,5	779,6	39,0	1575	7,88
11	12,0	42,0	404,0	33,7	962	8,02
12	13,0	46,7	455,3	35,0	975	7,50
13	16,5	46,9	626,1	38,0	1335	8,09
14	10,0	46,4	329,4	32,9	710	7,10
Promedios		47,1		38,0		8,07

En la figura 1 está representada la volemia de cada animal, en mililitros

en función del peso en Kg.

(*) A pesar de ser una medida expresada en ml, y correspondiente a volumen globular total, nos pareció conveniente llamarla masa globular siguiendo la costumbre y para evitar confusiones con la denominación de "volumen globular", dada comúnmente para hematocrito.



DISCUSION

El promedio de los valores de volemia por Kg de peso y por ciento encontrado por nosotros: 8,07%, y consignado en la tabla 1, está en muy buena concordancia con el valor encontrado por Clark (9): 8,10%.

Este autor trabajó con 41 perros normales de los Estados Unidos, y

utilizó para sus determinaciones una combinación del método de Cr-51 con el Azul de Evans.

Trabajando con las precauciones y en las condiciones mencionadas, no se observó hemólisis durante los distintos manipuleos de la sangre tratada.

CONCLUSIONES

1.— Los valores encontrados: 38,0 ml/Kg para masa globular y 8,07 % ml/Kg para volemia concuerdan bien con los datos existentes en la bibliografía.

2.— La relación volemia - peso resultó ser una relación lineal.

3.— En las condiciones de trabajo no se observó hemólisis.

BIBLIOGRAFIA

1. BERLIN, N. I.; HUFF, R. L.; VAN DYKE, D. C.; HENNES, T.: *The blood volume of the adult rat, as determined by Fe-59 and P-32 labelled red cells*. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 71, 176 (1949).
2. HAHN, P. F.; ROSS, J. F.; BALE, W. F.; BALFOUR, W. M.; WHIPPLE, G. H.: *Red cell and plasma volumes (circulating and total) as determined by Radio Iron and by Dye*. J. Exp. Med. 75, 221 (1942).
3. GRAY, S. J.; STERLING, K.: *The tagging of red cells and plasma proteins with Radioactive Chromium*. J. Clin. Invest. 29, 1604 (1950).
4. GRAY, S. J.; STERLING, K.: *Determination of the circulating red cell volume in Man by Radioactive Chromium*. J. Clin. Invest. 29, 1614 (1950).
5. EBAUGH, F. G. Jr.; EMERSON, CH. P.; 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).
6. READ, R. C.: *Studies of red-cell volume and turnover using Radiochromium; description of a new closed method of red-cell volume measurement*. New England J. Med. 250, 1021 (1954).
7. DONOHUE, D. M. et al.: *The use of Chromium as a red cell tag*. Brit. J. Hemat. 1, 249 (1955).
8. SMALL, W. J.; VERLOOP, M. C.: *Determination of the blood volume using radioactive Cr-51: Modifications of the original technique*. J. Lab. & Clin. Med. 47, 255 (1956).
9. CLARK, C. H.; WOODLEY, C. H.: *A comparison of blood volumes as measured by Rose Bengal, T-1824 (Evans Blue), Radiochromium-Tagged Erythrocytes, and a combination of the latter two*. Am. J. Vet. Res. 20, 1067 (1959).