

Evaluación de la producción de macrocitosis en relación con la dosis y la forma de administración de la eritropoyetina ¹

A. O. Carmena ², D. Howard ³ y F. Stohlman ³, Jr.

Research Department. St. Elizabeth's Hospital. Boston, Mass. (EE. UU.)

(Recibido el 8 de agosto de 1969)

A. O. CARMENA, D. HOWARD and F. STOHLMAN, Jr., *Evaluation of Macrocytosis in Terms of Dose and Mode of Administration of Erythropoietin*. R. esp. Fisiol., 26, 43-46, 1970.

The dose-response relationship between erythropoietin and the production of macrocytes depends in part, on the interval over which a given amount of erythropoietin is administered. This reflects the rate of metabolism of this substance. With our data we have demonstrated that macrocytosis which results from skipped terminal divisions is greatest when erythropoietin is given as a continuous infusion.

Según un modelo realizado con una computadora electrónica, KRETCHMAR (6) llega a la conclusión que la eritropoyetina ejerce su efecto sobre los precursores de las células eritroides de la médula ósea durante la fase S del ciclo celular. Lo que él llama eritropoyetina «efectiva» estaría presente en las células únicamente durante G₁ y parte de S.

En el trabajo que presentamos aquí, comparamos las conclusiones derivadas de la computación de KRETCHMAR con los resultados encontrados por nosotros al inyectar eritropoyetina en ratas normales en diferentes dosis y distintas vías de administración.

Material y métodos

Ratas hembras adultas Sprague-Dowley fueron inyectadas con solución fisiológica y dosis de 5, 30 y 100 unidades de eritropoyetina urinaria humana. El número de animales por grupo osciló entre 4 y 12.

Las dosis fueron administradas en una sola inyección endovenosa o por infusión endovenosa continuada durante 24 horas. La infusión continuada se realizó cateterizando la vena de la cola con un tubo de polietileno y un inyector eléctrico que permitió inyectar un mililitro cada 24 horas. Se controló diariamente reticulocitosis, hematocrito y distribución del tamaño celular de los glóbulos rojos. La sangre se extrajo por punción de la vena de la cola, empleándose de una a dos gotas de sangre diarias. Para medir el tamaño celular (volumen corpuscular medio) se empleó un Coulter Counter Model B.

(1) Financiado en parte por Research Grant H. E. 07542. National Heart Institute. National Institute of Health (EE. UU.).

(2) Domicilio actual: Instituto Nacional de Hematología. Hospital Nacional Enrique Cabrera. La Habana. Cuba.

(3) Research Department. St. Elizabeth's Hospital. Boston, Mass. (EE. UU.).

Las ratas permanecieron con agua y comida *ad libitum* y movilización a voluntad.

En todos los grupos de animales, el tiempo cero es el de comienzo de la infusión continuada o de la inyección única.

Resultados

En la figura 1 se presentan los valores de reticulocitosis por ciento, en las ratas controles inyectadas con solución fisiológica y en las inyectadas con 5, 30 y 100 unidades de eritropoyetina en infusión continuada durante 24 horas. Se observa un pico de reticulocitosis en los animales in-

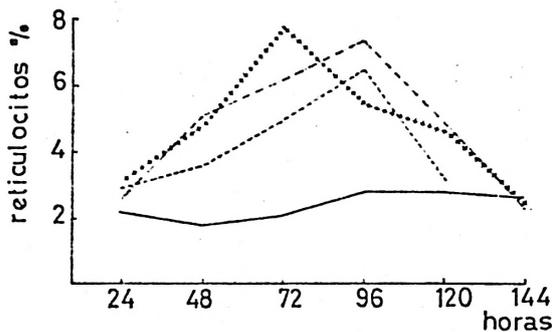


Fig. 1. Reticulocitosis en ratas normales inyectadas con varias dosis de eritropoyetina (EP) en infusión continuada durante 24 horas. (—) Control; (---) 5 unidades EP; (—) 30 unidades EP; (+) 100 unidades EP.

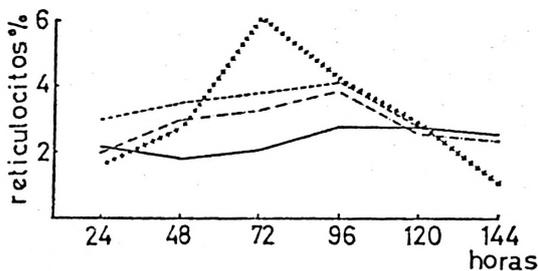


Fig. 2. Reticulocitosis en ratas normales inyectadas con varias dosis de eritropoyetina (EP), en una sola inyección endovenosa. (—) Control; (---) 5 unidades EP; (—) 30 unidades EP; (+) 100 unidades EP.

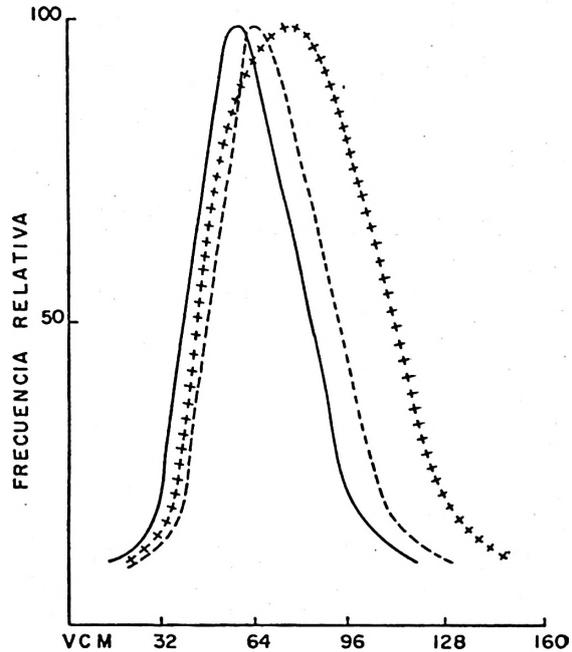


Fig. 3. Volumen corpuscular medio (μ^3) de los glóbulos rojos de ratas normales inyectadas con solución fisiológica y 30 unidades de eritropoyetina (EP) en inyección única endovenosa y por infusión endovenosa continuada durante 24 horas. Curva registrada a las 72 horas de la administración de la hormona. (—) Normal; (---) inyección única; (+) infusión continuada.

yectados con 5 y 30 unidades a las 96 horas de la inyección, mientras que en los que recibieron 100 unidades el pico aparece a las 72 horas.

En la figura 2 se observan los resultados obtenidos con las mismas dosis de eritropoyetina, pero administradas en inyección endovenosa única. Nuevamente aparece un pico a las 96 horas para los grupos de 5 y 30 unidades y a las 72 horas para los de 100 unidades, aunque la reticulocitosis es de menor intensidad que en los animales inyectados con infusión continuada.

No se observó macrocitosis en los animales inyectados con 5 unidades en las dos formas. En los inyectados con 30 unidades, el grado de macrocitosis es mayor

en los perfundidos durante 24 horas. La macrocitosis aparece a las 72 horas de la inyección (fig. 3). Con 100 unidades, la macrocitosis es significativa ya a las 48 horas de la inyección, aunque en mayor grado en los inyectados por infusión continuada que con una sola inyección (fig. 4). La macrocitosis persiste a las 72 horas.

En todos los casos, la macrocitosis desaparece a las 96 horas de la inyección.

Los animales controles inyectados con solución fisiológica en infusión continuada o en una sola inyección, no presentaron reticulocitosis ni macrocitosis. En todos los grupos no hubo variaciones significativas de los hematocritos.

Discusión

FISCHER (1), sugiere que la eritropoyetina administrada en una sola inyección

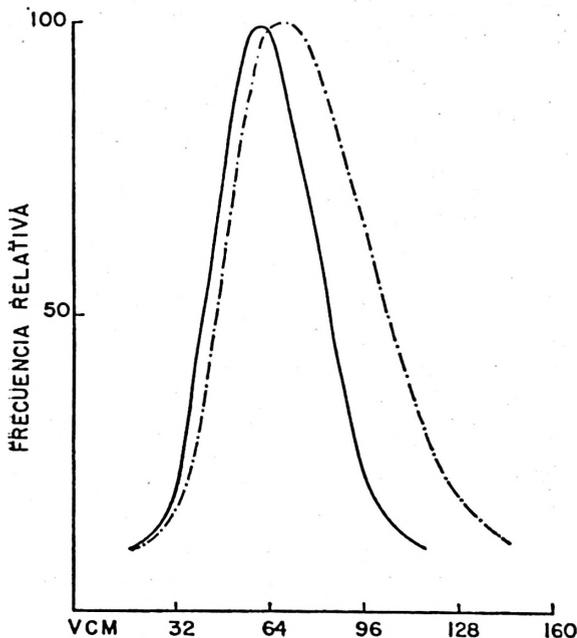


Fig. 4. Volumen corpuscular medio (μ^3) de los glóbulos rojos de ratas normales inyectadas con solución fisiológica, 30 y 100 unidades de eritropoyetina (EP) por infusión continuada durante 24 horas. Curva registrada a las 48 horas de la administración de la hormona. (—) Normal; (---) 100 unidades.

tiene uno o más sitios de acción, actuando no sólo sobre la célula primitiva pluripotencial (Stem Cell), sino sobre los eritroblastos. GALLAGHER *et al.* (2), demuestran que una sola dosis de eritropoyetina intraperitoneal produce un pico de reticulocitos entre 72 y 96 horas. Una nueva inyección de eritropoyetina dada 48 horas después de la primera incrementa la incorporación de Fe-59 al glóbulo rojo y aumenta el porcentaje de la respuesta reticulocitaria. Dosis fraccionadas subcutáneas de eritropoyetina son más activas si se inyectan con suero que con solución salina. Ello se debería a que las proteínas séricas retardarían la absorción de la hormona, resultando en una mayor exposición a las células sensibles (3). Además, la misma dosis, dividida en intervalos de seis horas, es más activa que administrada en una sola inyección (3). A la misma conclusión llegar GURNEY *et al.* (4) con dosis fraccionadas subcutáneas. MOORES *et al.* (7) sugieren que el suero normal, lo que hace es incrementar la actividad de la eritropoyetina, más bien que retardar su absorción. SCHOOLEY (8) afirma que el efecto mayor sobre la eritropoyesis logrado con dosis fraccionadas se debería a la mayor disponibilidad de células precursoras en estado de respuesta a la hormona, producido por la primera dosis. La aparición de macrocitosis es señalada por STOHLMAN *et al.* (9) en ratas normales o hipertransfundidas inyectadas con grandes dosis de eritropoyetina o con dosis fraccionadas.

Nuestros resultados demuestran que la dosis-respuesta entre eritropoyetina inyectada y producción de macrocitosis depende, en parte, en el intervalo entre una y otra dosis. La macrocitosis sería la resultante de «saltos» en las divisiones terminales de los eritroblastos. Es evidente que el grado de macrocitosis es mayor con la administración continuada de la hormona. Ello coincide con lo postulado por KRETCHMAR (6), en el sentido de que al actuar el estímulo hormonal continuada-

mente pasan más células de G₁ a S y que G₁ se hace más corto y, por consiguiente, más sensible a la eritropoyetina. Este autor predice que, con mayor estímulo continuado, G₁ llegaría a ser tan corto, que la población de células sensibles se haría resistente a la acción de la eritropoyetina. Esto no está de acuerdo con los trabajos de KEIGHLEY *et al.* (5), que obtienen un aumento constante de la producción eritrocitaria con la administración de la eritropoyetina hasta después de 195 días, aunque la hormona no fue inyectada continuamente.

En trabajos actualmente en ejecución, trataremos de ver si la acción continuada de la eritropoyetina durante varios días es capaz de producir este fenómeno de falta de respuesta.

Resumen

La producción de macrocitosis en ratas normales inyectadas con dosis altas de eritropoyetina se debería a «saltos» en las divisiones terminales de los eritroblastos. Esta macrocitosis

es proporcional a la dosis de eritropoyetina inyectada. Frente a una misma dosis, el grado de macrocitosis es mayor si la administración se hace por infusión continuada.

Bibliografía

1. FISCHER, S.: En «Erythropoiesis», Jacobson & Doyle. Ed. Grunne Stratton (Nueva York-Londres), p. 204, 1962.
2. GALLAGHER, N. I., SEIFERT, G. L., CALLINAN, J. L., MAES, A. A. y LANGE, R. D.: *J. Lab. Clin. Med.*, **61**, 258, 1963.
3. GARCÍA, J. y SCHOOLEY, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **120**, 614, 1965.
4. GURNEY, C. W., WACKMANN, N. y FILMANOWICZ, E.: *Blood*, **17**, 531, 1961.
5. KEIGHLEY, G., HAMMOND, D. y LOWY, P. H.: *Blood*, **23**, 99, 1964.
6. KRETCHMAR, A. L.: *Science*, **152**, 367, 1966.
7. MOORES, R., GARDNER, E., WRIGHT, C. S. y LEWIS, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **123**, 618, 1966.
8. SCHOOLEY, J. C.: *Blood*, **25**, 795, 1965.
9. STOHLMAN, F., LUCARELLI, G., HOWARD, D., MORSE, B. y LEVENTHAL, M.: *Medicine*, **43**, 651, 1964.