

Efecto de la inyección de orina de conejos sangrados repetidamente sobre la velocidad de regeneración de la hemoglobina en conejos anemizados

(Con 4 tablas)

por

G. Hodgson, J. Tohá, E. González

I. INTRODUCCION

En un trabajo anterior (1) se observó, que la respuesta reticulocitaria de conejos sangrados en una ocasión e inyectados con plasma de conejos anemizados por sangría repetida, era mayor que la de conejos inyectados con plasma de animal normal. Se encontró además que el efecto del plasma de conejo anemizado sobre los reticulocitos desaparece con la exposición de éste al oxígeno (1).

En otro trabajo se ha observado que la inyección repetida de plasma proveniente de conejos sangrados produce, en conejos normales, un aumento significativo de los reticulocitos, de los glóbulos rojos y de la hemoglobina (2).

En el presente trabajo se estudió el efecto de la orina de conejos sangrados sobre la velocidad de recuperación de los valores de la hemoglobina de conejos anemizados en forma standard.

II. MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 42 conejos adultos de ambos sexos, cuyo peso medio era de 2570 g. Estos conejos se mantuvieron en jaulas individuales tres semanas antes de iniciar el experimento y durante todo el desarrollo de éste. Los animales recibieron una alimentación standard a base de "mash-food para conejos" de la Compañía Molinera San Cristóbal (Santiago).

Los conejos se dividieron en cuatro grupos:

A) Grupo de “dadores” anemizados. (10 conejos).

Estos conejos fueron sangrados día por medio (5 veces), extrayéndosele cada vez por punción cardíaca 10 ml. de sangre por Kg. de peso. Después de la quinta sangría, estos conejos se colocaron en jaulas metálicas recién lavadas y esterilizadas por flameo con mechero a gas. Por medio de un gran embudo metálico se recogía la orina —bajo vaselina líquida estéril— en frascos de vidrio también esterilizados. Estos frascos a su vez estaban incluídos en reservorios que contenían una mezcla frigorífica de hielo y sal. La orina recolectada durante la noche se centrifugaba en la mañana siguiente (bajo vaselina y a 3500 r/min.) en una centrífuga refrigerada. La orina excenta de partículas en suspensión se inyectó lentamente previo calentamiento —por vía endovenosa— en los conejos receptores.

En el grupo de dadores anemizados se controló el porcentaje de reticulocitos y la concentración de hemoglobina, antes de comenzar las sangrías y después de la quinta sangría (véase Tabla N° 1).

T A B L A N° 1

Términos medios y errores standard de los valores de hemoglobina y reticulocitos en el grupo de dadores anemizados antes de comenzar las sangrías y después de la quinta sangría.

	Control Pre-sangría	Control Post-sangría
Hemoglobina (g x 100 ml.)	10,4 ± 0,26	5,6 ± 0,34
Reticulocitos (%)	18 ± 2,1	180 ± 5,2

B) Grupo de animales “receptores” de orina obtenida de conejos anemizados. (14 animales).

En los conejos de este grupo se controlaron los reticulocitos y la hemoglobina cada 4 días durante tres semanas antes de comenzar el experimento. El promedio de la concentración de hemoglobina de los últimos cinco controles se fijó como cifra de referencia (100%).

El día de iniciación del experimento se pesaron los conejos y después se les extrajo por punción cardíaca 10 ml. de sangre por Kg. de peso; en seguida se les inyectó orina de conejo anemizado (10 ml./kg.). Durante 16 días —a contar de la inyección de orina— se controlaron los valores de la hemoglo-

bina y de los reticulocitos, día por medio. Los valores de hemoglobina se expresaron en forma de porcentaje y en relación con las cifras controles (100%).

C) Grupo de conejos "receptores" de orina de animales normales. (14 conejos).

Este grupo recibió el mismo tratamiento que el anterior. La orina fué obtenida de los conejos del grupo B, antes que éstos hubieran sido sangrados. La orina fué recolectada de la misma manera que la orina de conejos anemizados.

D) Grupo "control". (14 conejos).

Estos animales recibieron el mismo tratamiento que los grupos anteriores, pero fueron inyectados con cloruro de sodio al 1.12% que es isotónico para los glóbulos rojos de conejos (3).

La concentración de hemoglobina se determinó por el método de **Sanford y Sheard** (4) utilizando el fotocolorímetro de Leitz*.

Los reticulocitos se tiñieron con azul brillante de cresilo y se estableció el porcentaje de reticulocitos en 1000 glóbulos rojos.

La producción de hemoglobina en los receptores se calculó utilizando la fórmula propuesta por **Pearce** y col. (5).

III. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Como se puede ver en la Tabla N^o 2 los valores de la **hemoglobina** en el grupo inyectado con orina de conejo anemizado, fueron significativamente mayores que en el grupo inyectado con suero fisiológico, ($P < 0.02$, los días 4^o, 8^o, 12^o y 14^o) y en el grupo inyectado con orina de conejo normal (el día 8^o $P < 0.05$; y para el día 14^o $P < 0.01$).

En lo que se refiere a la **respuesta reticulocitaria** no hubo diferencia significativa entre los diferentes grupos (Tabla N^o 3).

En cuanto a la **producción de hemoglobina** ésta se encuentra detallada en la Tabla N^o 4. Se observó que la producción de hemoglobina del día 2^o al 4^o, tanto del grupo inyectado con orina de animal anemizado, como de animal normal, es mayor que la del grupo inyectado con suero fisiológico ($P < 0.01$). Posteriormente (del 4^o al 6^o día) este grupo control presenta su máximo de producción, que no difiere del máximo de los grupos anteriormente citados.

* La dispersión de este procedimiento nos ha dado un coeficiente de variación de sólo 1.1%.

T A B L A N° 3

Valores promedios del porcentaje de reticulocitos de los grupos A, B y C, antes de la sangría y después de ésta.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los tres grupos.

Grupo	Día	-8	-4	0	2	4	6	8	10	12	14	16
A		1,1	1,3	1,2	4,1	5,6	5,2	4,4	3,9	3,5	2,7	1,9
B		1,3	1,4	1,4	3,2	4,9	4,4	3,9	3,5	3,1	2,0	2,0
C		1,9	1,9	1,6	3,6	6,4	5,8	4,1	4,0	2,6	1,9	2,0

T A B L A N° 4

Producción de hemoglobina (Hb) de los grupos A, B y C, después de la sangría, expresada en por ciento de la concentración de Hb antes de la sangría. Cada valor de la tabla representa el término medio aritmético y su respectivo error standard (\pm).

Como cifra de referencia indicaremos que la producción de Hb en condiciones normales es de 2,86% en 48 hrs. (19).

Grupo	Días	2º-4º	4º-6º	6º-8º	8º-10º	10º-12º	12º-14º	14º-16º
A		9,4 \pm 0,85	5,4 \pm 0,77	6,2 \pm 1,24	5,2 \pm 1,06	4,3 \pm 1,25	4,5 \pm 1,65	3,0 \pm 1,31
B		9,3 \pm 1,56	8,6 \pm 0,93	2,5 \pm 0,98	6,4 \pm 1,32	3,8 \pm 0,64	1,9 \pm 0,99	4,0 \pm 1,45
C		4,3 \pm 1,15	8,1 \pm 1,61	6,4 \pm 0,97	6,0 \pm 0,98	2,3 \pm 0,99	4,6 \pm 0,71	6,3 \pm 0,82

IV. DISCUSION

No hemos encontrado en la literatura datos sobre la influencia que podría tener la orina de animales anemizados sobre la velocidad de recuperación de las anemias experimentales. Se ha descrito, sin embargo, un aumento de los reticulocitos después de la inyección de orina de animales normales. Este efecto no se pudo atribuir al principio antianémico (6). También se ha descrito la actividad eritropoyética —en cultivo de médula ósea in vitro— de extractos de orina de hombre normal. Estos extractos eran tan activos, como promotores del desarrollo de la médula ósea de conejo, como el suero de este animal; y mucho más efectivos que el ácido fólico. Esta acción estimulante no se debía a la presencia de Vitamina B₁₂ (7).

De los resultados de nuestros experimentos se puede deducir que probablemente en la orina de conejo anemizado hay una substancia (o substancias) que acelera la regeneración de la hemoglobina después de una sangría.

De la Tabla N^o 2 se desprende, que tanto la orina de animal anemizado, como la de conejo normal, tiene influencia sobre la producción de hemoglobina en los conejos inyectados. La inyección de orina desencadena un aumento precoz de la producción hemoglobínica, pero no hace variar la intensidad máxima de ésta.

Indudablemente es de gran interés el hecho, que no sólo se ha comprobado el efecto eritropoyético del plasma de animales anemizados por sangría (1,2), sino que también de la orina de estos animales. Todo parece indicar, que en la estimulación de la eritropoyesis a consecuencia de una hemorragia o a la exposición al "clima de altura" (8, 9), intervienen factores humorales. En ambas condiciones se ha comprobado una baja de la tensión de O₂ en los tejidos (10) y es interesante anotar, que una hipoxia de corta duración de una extremidad en el hombre es capaz de desencadenar un aumento de la eritropoyesis (11). Podría pensarse, que la hipoxia tisular sería el factor que condicionaría la producción de principios eritropoyéticos; mientras que el aumento de la tensión de O₂ en los tejidos inhibiría la producción de estos principios. Esto explicaría la "frenación medular" que se produce cuando se hace respirar al hombre o a animales en una atmósfera rica en oxígeno; o cuando se produce la policitemia experimental por transfusión (10, 12, 13, 14). En ambas condiciones se observa un aumento de la tensión de O₂ en los tejidos (10).

Se ha sugerido, que la baja tensión de oxígeno actuaría estimulando directamente la médula ósea; pero se ha visto en casos con severa estimulación de la eritropoyesis, que la saturación del oxígeno de la médula ósea está dentro de los límites normales (15). Además se ha observado, que después de una intensa sangría la saturación de oxígeno de la sangre de la médula ósea llega rápidamente a su nivel normal (en 6 horas); mientras que por otra parte la sangre de las venas yugulares tarda varios días en volver a su saturación normal (16). Esto indica

que el organismo trata de mantener una buena oxigenación de la médula ósea, aún cuando hay una hipoxia de otros tejidos (territorio drenado por la vena yugular externa por ejemplo). Por otra parte se ha visto, que es indispensable una buena tensión de oxígeno para el desarrollo de la médula ósea "in vitro" (17), y que hay correlación entre el consumo de oxígeno medular y la producción del grupo "hem" (18).

V. RESUMEN

1.—Se comprueba que la velocidad de recuperación de la hemoglobina, después de una hemorragia standard en conejo, es mayor en los animales inyectados con orina de conejos repetidamente sangrados, que en los inyectados con solución de cloruro de sodio al 1.12% o con orina de conejo normal.

2.—Se discute la influencia de los factores humorales en la regulación de la eritropoyesis.

SUMMARY

1.—The injection of urine of anemic rabbits hastens the recovery of hemoglobin to normal values in rabbits after a standard hemorrhage.

2.—The influence of humoral factors on erythropoiesis is discussed.

ZUSAMMENFASSUNG

1.—Die Injektion des Urins von anemischen Kaninchen beschleunigt die Geschwindigkeit mit der die Hemoglobinwerte anemischer Kaninchen sich normalisieren.

2.—Die Einwirkung humoraler Faktoren in Beziehung zur Erythropoiese wird besprochen.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—GÜNTHER, B., HODGSON, G., TOHA, J., QUAPPE, O.—*Acta Physiol. Lat. Amer.* 1, 271, 1951.
- 2.—TOHA, J., HODGSON, G., WEASSON, E.—*Bol. Soc. Biol. Concepción*. En prensa.
- 3.—PONDER, E. cit. por WOLF, A. V.—*Urinary Function of the Kidney*. Grune & Stratton Inc., New York 1950, Pág. 6.
- 4.—SANFORD, A. H., SHEARD, C.—*J. Lab. Clin. Med.*: 15, 483, 1930.

- 5.—PEARCE, M. L., GREENFIELD, M. A., VALENTINE, W. N.—*Blood*: 7, 207, 1952.
 - 6.—WAKERLIN, G. E.—*Am. J. Physiol.*: 126, 647, 1939.
 - 7.—NORRIS, E. R., MAJNARICH, J. J.—*Science*: 109, 32, 1949.
 - 8.—BONSDORFF, E., JALAVISTO, E.—*Acta Physiol. Scand.*: 16, 150, 1948.
 - 9.—REISSMANN, K. R.—*Blood*: 5, 372, 1950.
 - 10.—CAMPBELL, J. A.—*J. of Physiol.*: 65, 225, 1928.
 - 11.—BONSDORF, E.—*Proc. 3rd Int. Congress. of Hematology*. Grune & Stratton, New York. Pag. 82, 1951.
 - 12.—TINSLEY, J., MOORE, C., DUBACH, R., MINNICH, U., GRINSTEIN, M.—*J. Clin. Invest.*: 28, 1544, 1949.
 - 13.—ELMLINGER, P. J., HUFF, R. L., ODA, J. M.—*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*: 79, 16, 1951.
 - 14.—ROSS, B. F., MALONEY, M. A., LEVENSON, S. M.—*Blood*: 6: 1021, 1951.
 - 15.—GRANT, W. C.—*Federation Proc.*: 7, 43, 1948.
 - 16.—GRANT, W. C., ROOT, W. S.—*Am. J. Physiol.*: 150, 618, 1947.
 - 17.—ROSIN, A., RACHMILEWITZ, M.—*Blood*: 3, 165, 1948.
 - 18.—RICHMOND, J. E., ALLMAN, K. I., SOLOMON, K.—*Science*: 113, 404, 1951.
 - 19.—NEUBERGER, A., NIVEN, J.—*J. of Physiol.*: 112, 292, 1951.
-

