

## **Anemia experimental por Trementina. Acción de la efedrina y de la vitamina B<sub>12</sub>**

(Con 2 tablas)

por

**G. Hodgson, J. Tohá y R. Tapia**

### **INTRODUCCION**

Los abscesos causados por la inyección de esencia de trementina en cerdos, perros y ratas, van asociados con la aparición de una anemia, que se parece mucho a la anemia denominada de "infección" en el hombre (1, 2, 3).

La anemia por trementina es una anemia poco intensa, normocítica y generalmente normocroma. Se acompaña de un trastorno marcado del metabolismo del hierro, alteración que es lo más característico del cuadro; hay mala absorción de hierro (1,4) una acentuada hipoferremia e hipercupremia (1), una baja de la siderofilina (5,6) y una deficiente utilización del hierro, no sólo en la síntesis de la hemoglobina (1,2,3) sino que de otras cromoproteínas (7). La hipoferremia no es debida a la mala absorción de hierro (4), sino que más bien a una disminución de la capacidad de transporte por parte del plasma (8) y a una actividad exagerada del sistema retículo-endotelial, que fija grandes cantidades de hierro. El bloqueo de este sistema con sales de torio evita la hipoferremia (9). En la génesis de la hipoferremia intervienen además las cápsulas suprarrenales (10).

El hierro inyectado por vía endovenosa no mejora el cuadro de la "anemia por infección" y es rápidamente captado por el sistema retículo-endotelial (11-12); sin embargo prácticamente no se encuentra Fe<sup>59</sup> en los tejidos inflamados (12).

Se ha visto que la anemia por trementina no se desarrolla, o es muy leve, cuando esta esencia se inyecta a perros con intensa estimulación de la eritropoyesis por sangría (13). También se ha visto que la administración de cobalto previe-

ne la anemia por trementina (14); o si ésta ya se ha desarrollado, la hace desaparecer rápidamente. La administración de cobalto como es sabido produce una intensa estimulación de la eritropoyesis (15,16). En la anemia por infección en la especie humana se han obtenido buenos resultados con el cobalto (17).

Por otra parte se ha descrito, que la efedrina produce aumento de la eritropoyesis en el hombre y en el conejo (18). Por esta razón nos interesó averiguar —si a semejanza del cobalto— este fármaco sería capaz de prevenir o disminuir la intensidad de la anemia por trementina.

La vitamina B<sub>12</sub> es fundamentalmente un agente de actividad eritropoyética en la anemia perniciosa. Esta vitamina interviendría en la síntesis de la núcleo-proteínas (19,20). Además se ha creído que ella podría intervenir en la síntesis de las protoporfirinas. Se ha visto que la vitamina B<sub>12</sub> aumenta la velocidad de recuperación del número de glóbulos rojos en la anemia experimental por fenilhidrazina (21). Por estas razones decidimos estudiar también la influencia de la inyección diaria de vitamina B<sub>12</sub> sobre la anemia por trementina.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 31 conejos adultos, de ambos sexos, cuyo peso medio fué de 1900 g. Estos conejos se dividieron en cuatro grupos:

A) (11 conejos). Este grupo recibió por una sola vez esencia de trementina (2 ml. por inyección intramuscular en el muslo izquierdo).

B) (8 conejos). Recibió la misma dosis de esencia de trementina y además una inyección subcutánea diaria de 45 mgr. clorhidrato de efedrina (Merck U. S. P.) durante 16 días, a partir del día de la inyección de trementina.

C) (6 conejos). Recibió solamente 16 inyecciones de efedrina.

D) (8 conejos). Recibió una inyección de trementina y una inyección diaria (intramuscular) de 5 µg de vitamina B<sub>12</sub> (Merck) \* durante 16 días.

En todos los animales se controlaron los reticulocitos, los glóbulos rojos y se determinó el porcentaje de la hemoglobina cada cuatro días. Estos controles se iniciaron dos semanas antes de las inyecciones y prosiguieron 20 días después. En el tercer grupo no se contaron los glóbulos rojos.

Los reticulocitos se tiñeron con azul brillante de cresilo y se estableció el porcentaje de dichas células en 1000 glóbulos rojos. La hemoglobina se determinó según el método de **Sanford** y **Sheard**, utilizando un fotocolorímetro Leitz. Los glóbulos rojos se contaron en cámara Levy-Hausser, con retículo Neubauer. Se contaron los glóbulos rojos en 10 cuadros grandes. Además, durante el desarrollo de los experimentos se hizo un control de peso de los conejos cada cuatro días.

\* Agradecemos a la firma "Merck Chilena" el obsequio de la vitamina B<sub>12</sub> utilizada en estos estudios.

## RESULTADOS

A) **Inyección de trementina.**—Como se puede observar en la tabla Nº 1 (A), después de la inyección de trementina aparece una anemia que llega a su máximo el octavo día y que se recupera espontáneamente alrededor de los 16 días. Esta recuperación fué precedida de una leve crisis reticulocitaria (Tabla 1). Es interesante anotar que los abscesos producidos por la trementina perduraron semanas después de la recuperación de la anemia.

En la Tabla 1 se encuentran además los valores de la

T A B L A    Nº    1

Valores promedios de los reticulocitos, de la hemoglobina, de los glóbulos rojos y de la hemoglobina corpuscular media (Hb. C. M.) en los grupos A. B. y C.  
No existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de estos tres grupos.

Grupo	Control	Día	-8	0	+ 4	+ 8	+ 12	+ 16	+ 20	+ 24
A	Reticulocitos (%)		1,8	1,4	1,4	2,1	3,1	2,1	1,5	1,2
	Hemoglobina (g x 100)		9	9	8,1	7,7	8,2	9,1	9,3	9,1
	Glóbulos rojos (mill/mm <sup>3</sup> )		5,0	5,0	4,5	4,3	4,7	4,8	5,0	5,1
	Hb. C. M. (μ. μ. g.)		18	18	18	18	17	19	18	18
B	Reticulocitos (%)		1	0,4	0,8	2,5	2,4	2,0	0,8	0,7
	Hemoglobina (g x 100)		9	9,5	8,4	8,5	8,3	8,9	9,9	9,4
	Glóbulos rojos (mill/mm <sup>3</sup> )		4,9	5,1	4,4	4,5	4,8	5,1	5,3	5,1
	Hb. C. M.		18	18	19	19	17	17	18	18
D	Reticulocitos (%)		1,3	1,4	1,3	2,2	2,6	1,5	1,4	1,2
	Hemoglobina (g x 100)		9,3	9,2	8,1	8,2	8,8	8,8	9,2	9,5
	Glóbulos rojos (mill/mm <sup>3</sup> )		5,1	5,1	4,5	4,5	4,8	4,7	5,0	5,4
	Hb. C. M.		18	18	18	18	18	19	18	18

“hemoglobina corpuscular media” de los conejos inyectados con esencia de trementina. Se observa que este índice no sufrió variaciones durante el experimento.

B) **Conejos inyectados con trementina y efedrina.**—Los resultados de esta serie se encuentran representados en la Tabla 1 (B). Se constata que no hay diferencia entre la intensidad de la anemia por trementina y la evolución de ésta en los animales que recibieron efedrina en inyecciones repetidas.

T A B L A N° 2

Promedio de los valores de la hemoglobina y de los reticulocitos en el grupo C, con sus respectivos errores standard (E.S.)

Control	Día	-8	0	4	8	12	16	20	24
Reticulocitos (%)		1,8 (E. S.) 0,36	1,5 0,18	1,1 0,13	1,2 0,24	3,8 0,18	2,1 0,30	1,0 0,28	0,8 0,23
Hemoglobina (g x 100 ml.)		9,8 (E. S.) 0,42	10,0 0,39	10,3 0,39	9,1 0,32	10,0 0,30	10,3 0,24	10,8 0,20	10,1 0,28

C) **Conejos inyectados con efedrina.**—Se desprende de la Tabla 2 que la inyección subcutánea repetida de efedrina, no produce un aumento de la hemoglobina. Solamente hay un leve aumento de los reticulocitos el día 12º.

D) **Inyección de trementina en conejos tratados con vitamina B<sub>12</sub>.**—Los resultados de esta serie están representados en la Tabla 1 (D). Se observa que la inyección repetida de vitamina B<sub>12</sub> no tiene efecto sobre la anemia por trementina.

## DISCUSION

Se comprueba que la inyección única (intramuscular) de trementina produce una leve anemia normocroma en el conejo. Esta anemia no va asociada a una disminución de los reticulocitos, como sucede cuando hay marcada disminución de la producción medular. Por lo tanto, es interesante analizar cuantitativamente el mecanismo de producción de la anemia en este caso. Se sabe que la “vida media” del glóbulo rojo del conejo es de 70 días (22), y por ende se desprende que la producción

\* La diferencia entre este valor y el valor control es estadísticamente significativa ( $P < 0.01$ ).



media de glóbulos rojos es de 1/70 del número total de eritrocitos en circulación. Para un conejo con 5 millones/mm<sup>3</sup>, esto significa que se producen 71000 eritrocitos por cada milímetro cúbico de sangre circulante, y 0.13 gramos de hemoglobina por 100 ml. de sangre. En el caso que la anemia por trementina se debiera a un cese total de la producción de glóbulos rojos, la intensidad máxima de la anemia podría ser al cuarto día de 284.000 eritrocitos por debajo de su nivel normal; siempre que no hubiere variación de la volemia. En nuestros experimentos, el déficit de eritrocitos al cuarto día es de 500.000. Por lo tanto, la anemia que se observa en este caso debería explicarse —en parte a lo menos— por otros factores. Estos podrían ser por ejemplo, un aumento del volumen plasmático o una mayor destrucción eritrocitaria. Sobre la posible disminución de la producción de los glóbulos se puede decir, que el hecho que el porcentaje de reticulocitos esté en su nivel normal parece indicar que no hay hipo-producción por parte de la médula ósea. Sin embargo, es difícil medir exactamente la producción medular por intermedio del recuento reticulocitario, si no se tienen datos sobre la velocidad de maduración de estas células. Ignoramos cual es esta velocidad en esta serie de experimentos, y por lo tanto debemos ser parcos en avaluar la producción de la médula ósea si tenemos que basarnos en la información que nos dan estos experimentos. Estudios realizados por otros autores (1) en la anemia por infección indican que la médula ósea está hiperplásica. En lo que se refiere a una posible mayor destrucción eritrocitaria, se ha visto que en la "anemia por infección", la tasa de bilirubina en la sangre está dentro de límites normales (1).

Respecto a los resultados negativos obtenidos con la efedrina estos eran de esperar, pues en el experimento control no mostró este fármaco una franca actividad eritropoyética. Nuestros resultados contradicen las afirmaciones hechas por **Davis** (18) y están de acuerdo con un trabajo reciente de **Schilling** (23) quien tampoco encontró un efecto eritropoyético de la efedrina.

En lo que se refiere a los resultados negativos obtenidos con la vitamina B<sub>12</sub> sólo se puede decir, que no hemos encontrado datos en la literatura respecto a la actividad de esta vitamina en la anemia por trementina; pero se ha observado que el complejo vitamínico B es ineficaz en la anemia por infección (1), como también lo es el hígado crudo (1).

## RESUMEN

1) Se comprueba que la inyección de esencia de trementina produce una leve anemia en conejos.

2) Se observa que la efedrina y la vitamina B<sub>12</sub> carecen de acción en esta anemia.

3) Se discute la génesis de la anemia por trementina.

## SUMMARY

- 1) Anemia is produced in rabbits by turpentine.
- 2) It is observed that neither Ephedrine nor Vitamin B<sub>12</sub> have any effect on this anemia.
- 3) The mechanism of turpentine anemia is discussed.

## ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Durch Einspritzungen von Terpentinöl werden Kaninchen leicht anemisch gemacht.
- 2) Weder Vitamin B<sub>12</sub> noch Ephedrin haben Einfluss auf diese Art von Anemie.
- 3) Der Mechanismus der Terpentinöl-Anemie wird diskutiert.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—WINTROBE, M. M., GREENBERG, G. R., HUMPHREYS, S. R., ASHENBRUCKER, H., WORTH, W., KREMER, R.—*J. Clin. Invest.*: 26, 103, 1947.
- 2.—CARTWRIGHT, G. E., LAURITSEN, M., JONES, P. S., MERRIL, J. M., WINTROBE, M. M.—*J. Clin. Invest.*: 25, 81, 1946.
- 3.—WINTROBE, M. M., GREENBERG, G. R., HUMPHREYS, S. R., ASHENBRUCKER, H., WORTH, W., KREMER, R.—*J. Clin. Invest.*: 26, 103, 1947.
- 4.—GUBLER, C., CARTWRIGHT, G., WINTROBE, M. M.—*J. Biol. Chem.*: 184, 63, 1950.
- 5.—CARTWRIGHT, G. E., WINTROBE, M. M.—*J. Clin. Invest.*: 28, 86, 1949.
- 6.—LAURELL, C. E.—*Acta Physiol. Scand.*: 14 Suppl. 46, 1947.
- 7.—INDOVINA, I.—*Am. J. Physiol.*: 165, 348, 1951.
- 8.—DRABKIN, D. L.—*Physiol. Rev.*: 31, 373, 1951.
- 9.—CARTWRIGHT, G. E., GUBLER, C., WINTROBE, M. M.—*J. Chem.*: 184, 579, 1950.
- 10.—CARTWRIGHT, G. E., HAMILTON, I., GUBLER, C., FELLOWS, N., ASHENBRUCKER, H., WINTROBE, M. M.—*J. Clin. Invest.*: 30, 161, 1951.
- 11.—GREENBERG, G. R., ASHENBRUCKER, H., LAURITSEN, M., WINTROBE, M. M.—*J. Clin. Invest.*: 26, 114, 1947.
- 12.—GREENBERG, G. R., ASHENBRUCKER, H., LAURITSEN, M., WORTH, W., HUMPHREYS, S., WINTROBE, M. M.—*J. Clin. Invest.*: 26, 121, 1947.

- 13.—IUILE, C. C., BLY, C. G., STEWART, W. B., IZZO, A. Z., WELLS, J. C., WHIPPLE, C. H.—*J. Exp. Med.*: 90, 273, 1949.
- 14.—WINTROBE, M. M., GRINSTEIN, M., DUBACH, J. J., HUMPHREYS, S. B., ASHENBRUCKER, H., WORTH, W.—*Blood.*: 2, 323, 1947.
- 15.—WARREN, C. O., SCHUMNEHL, O. D., WOOD, I. E.—*Am. J. Physiol.*: 142, 173, 1944.
- 16.—ORTEN, J. M.—*Am. J. Physiol.*: 144: 414, 1935/36.
- 17.—WEISSBECKER, L.—*Proc. 3 Int. Congress. Hemat. Grune & Stratton, New York. 1951. Pag. 68.*
- 18.—DAVIS, J. E.—*Am. J. Physiol.*: 134, 219, 1941.
- 19.—VILTER, R. W., HERRIGAN, D., MUELLER, J. F., JAROLD, T., VILTER, C., F., HAWKINS, V., SEAMAN, A.—*Blood.*: 5, 695, 1950.
- 20.—HERRIGAN, D., JAROLD, T., VILTER, R.—*J. Clin. Invest.*: 30, 31, 1951.
- 21.—VIJAYARAGHAVAN, P., DUNN, M. S.—*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*: 75, 754, 1950.
- 22.—NEUBERGER, A., NIVEN, J.—*J. of Physiol.*: 112, 292, 1951.
- 23.—SCHILLING, R. F.—*Am. J. Physiol.*: 167, 59, 1951.

