

## Artículos originales

Instituto de Hematología e Inmunología

# EL CÁLCULO DEL VOLUMEN PLASMÁTICO MEDIANTE LAS CURVAS DE ACLARAMIENTO DE LA TRANSFERRINA MARCADA CON <sup>59</sup>FE

Ing. Teresa A. Fundora Sarraff,<sup>1</sup> Lic. Mario Figueredo Ruiz,<sup>1</sup> Dra. Norma Fernández Delgado,<sup>1</sup> Dra. Hortensia Gautier du Défaix Gómez,<sup>1</sup> Lic. Mariela Forrellat Barrios,<sup>1</sup> y Prof. Ivor Cavill<sup>2</sup>

## RESUMEN

---

Se calculó el volumen plasmático con transferrina marcada con <sup>59</sup>Fe (Tf-<sup>59</sup>Fe) en 2 grupos de pacientes, uno con policitemia vera (PV) y otro con policitemia relativa (PR), mediante 2 procedimientos: con el valor de la actividad a tiempo cero obtenida por regresión y con los recuentos por minuto de una muestra extraída a los 3 minutos posteriores a la inyección de la Tf-<sup>59</sup>Fe. En todos los casos la actividad a tiempo cero fue mayor que la actividad de la muestra a los 3 min. Los valores del volumen plasmático calculados por el primer procedimiento fueron menores. Las diferencias en el grupo con PV fueron significativamente mayores que las encontradas en el grupo con PR. Este estudio refuerza la utilidad de calcular la distribución de la Tf-<sup>59</sup>Fe a tiempo cero, cuando esta se ha mezclado homogéneamente en la circulación y los cambios de la curva de aclaramiento son menos críticos.

*DeCS:* RECEPTORES DE TRANSFERRINA; VOLUMEN PLASMÁTICO; POLICITEMIA VERA.

---

En la actualidad las indicaciones de los estudios de los volúmenes sanguíneos son cada más precisas.<sup>1</sup> Sin embargo, las determinaciones del volumen globular y del volumen plasmático (VP) siguen siendo en la mayoría de los casos indispensables para la realización del diagnóstico, la clasificación y el seguimiento de las policitemias.<sup>2-4</sup>

En nuestro laboratorio, desde hace años, se emplea el <sup>59</sup>Fe en forma de citrato férrico para realizar los estudios ferrocinéticos.<sup>4,5</sup> Aunque el Comité Internacional de Estandarización en Hematología recomienda la utilización de la albúmina sérica humana marcada con <sup>125</sup>I (ASH-<sup>125</sup>I) para determinar el VP<sup>6</sup>, nosotros utilizamos con este fin la

---

<sup>1</sup> Instituto de Hematología e Inmunología.

<sup>2</sup> Department of Haematology. University Hospital of Wales, Cardiff, Reino Unido.

transferrina marcada con  $^{59}\text{Fe}$  (Tf- $^{59}\text{Fe}$ ), por ser un proceder equivalente.<sup>7</sup>

En un estudio inicial realizado por *Najejan, Dresch y Ardaillou* se encontró una sobreestimación del VP después de la inyección de citrato/cloruro de  $^{59}\text{Fe}$ , cuando este se calculó mediante el valor de la actividad a tiempo cero (actividad inicial).<sup>8</sup>

A partir de investigaciones desarrolladas en nuestro laboratorio (datos no publicados) teniendo en cuenta los resultados del trabajo previo de *Najejan, Dresch y Ardaillou*,<sup>8</sup> se sugirió que una muestra extraída en un momento muy cercano al de la inyección de la Tf- $^{59}\text{Fe}$ , podría utilizarse para calcular el VP a pesar de las dificultades que conlleva este procedimiento. En otros trabajos se señalaba la necesidad de obtener un estimado de la actividad a tiempo cero para calcular el VP con ASH- $^{125}\text{I}$  o con Tf- $^{59}\text{Fe}$ ,<sup>7</sup> no obstante, este fue calculado de la dilución del  $^{59}\text{Fe}$  en una observación única a los 3 min posteriores a haber inyectado la Tf- $^{59}\text{Fe}$ .

Con el objetivo de aumentar la exactitud de la determinación del VP introdujimos el procedimiento para calcularlo con el valor de la actividad a tiempo cero y lo realizamos en 2 grupos de pacientes, a los que se les calculó también el VP utilizando el valor de los recuentos por minuto de la muestra extraída a los 3 min.

## MÉTODOS

Se midió el VP a 2 grupos de pacientes: 15 con policitemia vera (PV), a los que se les realizó el estudio durante una etapa de actividad de su enfermedad y como parte de su seguimiento,<sup>4</sup> de ellos 7 masculinos y 8 femeninos, con una edad promedio de 63,4 años (rango de 39 a 86 años) y 10 con policitemia relativa (PR) 9 masculino y 1 femenino, con una edad promedio de 42,5 años (rango de 21 a 65 años).

La determinación del VP se realizó por la mañana con los pacientes en ayunas. El suero proveniente de la defibrinación de 15 mL de sangre total extraídos a los pacientes se incubó durante 15 min con 0,2  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$  de peso corporal de  $^{59}\text{Fe}$  como citrato férrico (Amersham). La transferrina se marcó específicamente con  $^{59}\text{Fe}$  pasando el suero incubado con  $^{59}\text{Fe}$  a través de una columna de intercambio aniónico (IRA 400 CI- Amberlite), como describió *Cavill*.<sup>9</sup> Esto aseguró que no hubiera citrato de  $^{59}\text{Fe}$  libre en la inyección. El eluido se esterilizó mediante un filtro microporo (0,22  $\mu\text{m}$ ). La actividad de la Tf- $^{59}\text{Fe}$  inyectada por vía intravenosa se determinó por el método de las pesadas.<sup>6</sup> Se extrajeron muestras de sangre total a los 3, 15, 30 y 60 min posteriores a la inyección.

La actividad del  $^{59}\text{Fe}$  en las muestras de plasma se midió en un contador de centelleo de pozo para radionúclidos emisores de radiación gamma (LKB Wallac Compugamma 1282).

El VP fue calculado con los recuentos por minuto de la muestra a los 3 min y con el valor obtenido a tiempo cero por extrapolación de la curva de aclaramiento en los primeros 60 min posteriores a la inyección de la Tf- $^{59}\text{Fe}$ . Para realizar los cálculos se utilizó el programa FERRO escrito en TURBO PASCAL, desarrollado en nuestro laboratorio. Se halló la diferencia entre los valores del VP por cada procedimiento para cada paciente y los promedios para cada grupo de pacientes. Se compararon las diferencias encontradas en el grupo con PV con las del grupo con PR mediante la prueba U de Mann-Whitney.

## RESULTADOS

Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2. En todos los casos la actividad

TABLA 1. Volumen plasmático con <sup>59</sup>Fe en pacientes con policitemia vera

Pacientes	Volumen plasmático (mL)		Diferencia	
	Con la muestra a los 3 min	Con el valor a tiempo cero	mL	%
A.V.	2 364	2 254	+110	5
E.B.	2 133	2 080	+53	3
M.L.	2 264	2 083	+181	9
C.G.	2 125	1 985	+140	7
R.R.	2 138	1 971	+167	8
T.R.	1 353	1 281	+72	5
M.S.	1 903	1 697	+206	12
P.B.	3 198	2 815	+378	13
S.P.	2 498	2 245	+253	11
A.N.	2 942	2 633	+309	12
C.D.	3 391	3 212	+179	6
N.C.	2 291	2 181	+110	5
L.P.	2 607	2 459	+148	6
R.M.	2 480	2 459	+21	1
J.H.	2 735	2 719	+16	1
Promedio	2 428	2 272	+156	7

TABLA 2. Volumen plasmático con <sup>59</sup>Fe en pacientes con policitemia relativa

Pacientes	Volumen plasmático (mL)		Diferencia	
	Con la muestra a los 3 min	Con el valor a tiempo cero	mL	%
R.C.	1 753	1 709	+44	3
D.D.	2 525	2 474	+51	2
A.A.	2 381	2 351	+30	1
L.S.	1 572	1 556	+13	1
J.S.	2 789	2 684	+105	4
S.S.	1 833	1 821	+11	1
M.R.	1 971	1 901	+70	4
M.D.	2 677	2 544	+133	5
R.R.	2 046	1 945	+101	5
L.R.	1 792	1 737	+55	3
Promedio	2 134	2 072	+61	3

a tiempo cero fue mayor que la actividad de la muestra a los 3 min. Los valores del VP correspondientes son menores que cuando se calculan para la dilución de la Tf-<sup>59</sup>Fe a los 3 min. En los pacientes con PV este valor se encuentra entre 16 y 378 mL por encima (promedio 156 mL), del que se obtiene con el valor a tiempo cero. En algunos pacientes

esto representa una desviación del 1 %, pero en otros es del 13 %. En el grupo con PR las diferencias son menores, entre 11 y 133 mL (promedio 60,6 mL), que representan del 1 al 5 %. Las diferencias en el grupo con PV fueron significativamente mayores ( $p < 0,001$ ) que las encontradas en el grupo de pacientes con PR.

## DISCUSIÓN

La determinación del PV con  $^{59}\text{Fe}$  es necesaria cuando se van a hacer estudios ferrocinéticos<sup>10</sup> y también tiene ventajas en otras circunstancias, donde es necesario medir el VP.<sup>2,3</sup> En particular, el uso del propio suero del paciente evita cualquier posibilidad de contaminación viral por el uso de ASH- $^{125}\text{I}$  obtenida a partir de una mezcla de sangre de donantes y que por demás, es necesario importar. El  $^{59}\text{Fe}$  tiene menor costo que la ASH- $^{125}\text{I}$  y la dosis de radiación a los tejidos debida al uso del  $^{59}\text{Fe}$  es menor que la dosis comparable por el uso del  $^{125}\text{I}$ .<sup>7</sup>

Debido a que el plasma no está confinado sólo al espacio intravascular, las proteínas plasmáticas marcadas que se utilizan como radiotrazadores, viajan de este al espacio extravascular y viceversa, hasta alcanzar un equilibrio. Por las dificultades que esto trae para poder obtener un estimado exacto del VP, se han propuesto diferentes procedimientos para calcularlo.<sup>6-8</sup>

En el estudio realizado por *Najejan, Dresch y Ardaillou* se describió cómo después de la inyección de citrato/cloruro de  $^{59}\text{Fe}$ , la actividad circulante en el plasma disminuía más rápidamente en los primeros 5 min después de la inyección que subsecuentemente. Como consecuencia, el valor de la actividad a tiempo cero obtenida por regresión en los primeros 5 min fue menor que lo que era apropiado. El VP calculado con esos datos fue significativamente mayor que el valor determinado con los recuentos después de los primeros 5 min.<sup>8</sup> Consideramos que esto fue el resultado del aclaramiento rápido del  $^{59}\text{Fe}$  no unido a la transferrina, ya que este sale rápidamente del espacio intravascular al extravascular diluyéndose en realidad en un espacio mayor y provoca, por lo tanto, la sobreestimación del VP que encontraron dichos autores.

Como se comprobó posteriormente, cuando se marca específicamente la transferrina con  $^{59}\text{Fe}$ , esta tiene el mismo volumen de distribución que la albúmina, y la actividad inicial puede calcularse al menos de 3 muestras tomadas durante no más de 60 min después de la inyección de la Tf- $^{59}\text{Fe}$ .<sup>7</sup>

Los resultados de este trabajo muestran que en todos los casos existe diferencia en el VP entre los valores calculados con el estimado a tiempo cero y los calculados con los recuentos de  $^{59}\text{Fe}$  de la muestra a los 3 min. Como ambos puntos son parte de la misma curva de aclaramiento, esto es un reflejo de la caída de los niveles de  $^{59}\text{Fe}$  en el plasma durante los primeros 3 min posteriores a la inyección, lo que demuestra que tales cambios no pueden asumirse como insignificantes. Más aún, en un período de tiempo en que los cambios son muy rápidos, es muy difícil asegurar que se extraiga una muestra exactamente a los 3 min posteriores a la inyección, ya que en algunos pacientes tomar una muestra de sangre puede tardarse varios minutos, lo que puede conllevar a inexactitudes.

Este estudio, por consiguiente, refuerza lo adecuado de calcular la distribución de la Tf- $^{59}\text{Fe}$  a tiempo cero basándose en la extrapolación que se hace de observaciones hechas después que el suero Tf- $^{59}\text{Fe}$  inyectado se ha mezclado bien en la circulación, y cuando los cambios de la curva de aclaramiento son menos críticos. En la práctica, la primera muestra no debe tomarse antes de los 10 min posteriores a la inyección.

El hecho de que las diferencias en el grupo con PV fueran significativamente mayores que las encontradas en el grupo de pacientes con PR, está relacionado con las características fisiológicas del metabolismo interno del hierro en ambas entidades. En la PV la velocidad de

aclaramiento fraccional de  $^{59}\text{Fe}$  del plasma es mayor que en la PR, por la gran avidez de la médula ósea por el hierro, que es requerido para mantener la hiperproducción de glóbulos rojos presente en el grupo de pacientes estudiados, que se encontraban en una etapa de actividad de su enfermedad.

Con la medición de VP con el valor de la actividad a tiempo cero se logra una mayor exactitud en el resultado que se obtiene. Este procedimiento, con el acceso actual a los ordenadores, es sencillo de implementar, ya que mediante un programa

de computación que realice la regresión en escala semilogarítmica, se puede obtener el valor de la actividad a tiempo cero y además realizar el resto de las operaciones matemáticas necesarias para calcular el VP.

#### AGRADECIMIENTOS

*A los técnicos Rafael Ferrer Semanat y Ana Iris González Iglesias por su valiosa colaboración en la ejecución de este trabajo, y a la Dra. Elena Putínstseva por sus oportunos comentarios al revisar el manuscrito.*

### SUMMARY

---

The plasma volume was calculated with transferrin marked with  $^{59}\text{Fe}$  (Tf- $^{59}\text{Fe}$ ) in 2 groups of patients, one with polycythemia vera and the other with relative polycythemia (RP), by using 2 methods: with the value of the activity at zero time obtained by regression and with the recouts per minute of a sample taken 3 minutes after the injection of Tf- $^{59}\text{Fe}$ . In all the cases, the activity at zero time was higher than the activity of the sample 3 minutes later. The values of plasma volume calculated by the first method were lower. The differences in the group with PV were significantly higher than the ones found in the group with RP. This study confirms the usefulness of calculating the distribution of Tf- $^{59}\text{Fe}$  at zero time when this has been homogeneously mixed in the circulation and the changes in the clearance curve are less critical.

*Subject headings:* RECEPTORS, TRANSFERRIN; PLASMA VOLUME; POLYCYTHEMIA VERA.

---

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferrant A. What clinical and laboratory data are indicative of polycythemia and when are blood volume studies needed? *Nouv Rev Fr Hematol* 1994;36:151-4.
2. Berlin NI. Classification of the polycythemias and initial clinical features in polycythemia vera. En: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI, eds. *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Philadelphia: WB Saunders, 1995:22-30.
3. Weinreb NJ. Relative polycythemia. En: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI, eds. *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Philadelphia: WB Saunders, 1995:226-58.
4. García Y, Callejas J, Hernández P. Use of ferrokinetics in the follow-up of patients with polycythaemia vera. *Haematologia* 1988;21:41-6.
5. García Y, Putínstseva E, Hernández P, Callejas J, Álvarez ME. Estudio del metabolismo día-noche en pacientes con policitemia vera. *Sangre* 1981;26:1091-6.
6. ICSH. Recommended methods for measurement of red cell and plasma volume. *J Nucl Med* 1980;21:793-800.

7. Ricketts C, Cavill I. Measurement of plasma volume using <sup>59</sup>Fe-labelled transferrin. *J Clin Pathol* 1978;31:196-8.
8. Najean Y, Dresch C, Ardaillou N. Iron metabolism-study of different kinetic models in normal conditions. *Am J Physiol* 1967;213:533-46.
9. Cavill I. The preparation of <sup>59</sup>Fe-labelled transferrin for ferrokinetic studies. *J Clin Pathol* 1971;24:472-4.
10. ———. Plasma clearance studies. *Methods Haematol* 1986;14:214-43.

Recibido: 21 de diciembre de 1999. Aprobado 31 de enero del 2000.

Ing. *Teresa A. Fundora Sarraff*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: (537)578268. Fax: (537)338979. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu