

Efectos de la inhalación prolongada de gases anestésicos sobre el sistema Hematopoiético de ratas

Dr. J. Antonio Aldrete

LOS gases anestésicos generalmente usados en el quirófano, causan poca o ninguna alteración en el sistema hematopoiético cuando su inhalación es restringida a los períodos de duración de los procedimientos quirúrgicos comunes. Leucocitosis y otros cambios observados en las cuentas celulares sanguíneas, son generalmente secundarias a procesos de inflamación o alteraciones de la volémia.

El óxido nitroso ha sido considerado como un gas inocuo, siempre y cuando se administre con un porcentaje adecuado de oxígeno. Sobre esta base, se le ha sugerido como analgésico y coadyuvante en el tratamiento de casos severos de tétanos, en los cuales la curarización y la ventilación pulmonar mecánica, han sido indicados para contrarrestar el trismus y la contracción muscular generalizada observados en estos casos.

Fue Gormsen (1), quien primero notó la presencia de agranulocitosis y trombocitopenia en enfermos tratados en la forma mencionada; sin embargo, debido a que otros medicamentos fueron empleados, él pensó que el curare o la cloropromazina podían ser la causa de los cambios hematológicos. Las-

sen (2), habiendo sido uno de los propagadores de esta técnica, después de haber estudiado varios casos, reportó que los episodios de leucopenia y aplasia de la médula ósea eran concomitantes con la inhalación de óxido nitroso, demostrando en esta forma, la acción depresora del gas sobre el sistema hematopoiético. Desde entonces, se ha sugerido que la inhalación de este gas se limite a concentraciones de 50 por ciento y a lo máximo por tres días consecutivos; recomendando hacer determinaciones de cuentas celulares sanguíneas regularmente.

Inicialmente, Lassen y Christensen (3), y después Eastwood y colaboradores (4), demostraron una vez más el efecto del N_2O sobre los leucocitos, cuando su inhalación por tres o más días disminuyó a niveles normales, las cuentas leucocitarias previamente elevadas en pacientes con leucemia mielógena.

Green y Eastwood (5), sometieron ratas a varias concentraciones de óxido nitroso por varios días. Cuarenta por ciento, inhalado por 15 días, produjo una disminución de la cuenta leucocitaria de 50% del nivel inicial. En cambio, la inhalación de 80% de óxido nitroso resultó en una leucopenia

* Profesor asistente de Anestesiología de la Universidad de Colorado y Jefe de la Sección de Anestesiología del Hospital de Veteranos, Denver, Colorado.

Trabajo presentado en el XIII Congreso Mexicano de Anestesiología, Acapulco, Gro, Noviembre, 1967.

de 80% del nivel original, en sólo 5 días. Concomitantemente, estos autores observaron hipoplasia medular, así como cesación de mitosis de las células jóvenes. Recientemente, Parbrook (6) comprobó este mismo fenómeno en gatos, cobayos, conejos y ratones; demostrando también un retardo de la cicatrización de incisiones hechas en animales inhalando N_2O .

Estos reportes despertaron nuestro interés en la materia, motivando los experimentos que a continuación se describen, con el propósito de investigar si esta cualidad leucocitopénica es exclusiva del N_2O o inherente también a otros gases con propiedades anestésicas.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron varios grupos de ratas albinas de la raza Sprague-Dawley, habiéndoseles restringido a una cámara plexi-glass, que medía 50x50x40 cms., durante un período de seis días. El piso de la cámara estaba cubierto con cal sodada con objeto de impedir la acumulación de anhídrido carbónico y separada de los animales por una red de alambre. Sobre el techo, había un motor conectado a un ventilador situado en el interior de la cámara, que fue construida a semejanza de un modelo previamente descrito por Zauder y Orkin (7). Los gases usados fueron pasados continuamente, a través de la cámara, con un flujo total de tres litros por minuto. La concentración de oxígeno fue medida frecuentemente, utilizando el analizador No. 114 de Beckman.

Dos décimas de centímetro cúbico de sangre fueron obtenidas del plexo oftálmico de las ratas, antes, a los tres y a los seis días del experimento. Similarmente, las siguientes determinaciones fueron llevadas a cabo: a) Hematocrito por la micro-adaptación del método de Wintrobe, b) Cuentas de glóbulos blancos y rojos, usando el

contador electrónico Coulter y c) Plaquetas, que fueron contadas por el método de Skirmont et al. (8). Tres días después de haberse iniciado el experimento, la cámara de seclusión fue abierta y limpiada; el agua y la comida fueron reemplazadas. En el sexto día, además de las determinaciones ya mencionadas, se obtuvo una muestra por aspiración de la médula ósea del hueso ilíaco, después de la cual, los animales fueron sacrificados y en la autopsia, se obtuvieron secciones de hígado, bazo, timo, corazón, pulmón y testículo, las cuales fueron fijadas en formalina.

RESULTADOS

Con el objeto de verificar nuestro método y compararlo con el de Green y Eastwood (5), un grupo de ratas fue expuesto a la inhalación continua de 70% óxido nitroso y 30% de oxígeno. Dos de los animales murieron al quinto día. Los sobrevivientes sufrieron una disminución del nivel inicial de glóbulos blancos de 69%. Las plaquetas bajaron en un 20% y los eritrocitos 13.5%. El examen de la médula ósea mostró una disminución de la cuenta celular de 40% y una alteración de la proporción de granulocitos o eritroblastos de 0.4:1, en lugar de la normal que es 1:1. Una vez asegurada la eficiencia de nuestro sistema, se procedió a hacer exposiciones similares en varios grupos de ratas con diferentes gases. Las concentraciones usadas en los gases con propiedades anestésicas fueron arbitrariamente determinadas después de varios intentos, habiendo llegado a la proporción necesaria del gas que se requería para producir un efecto narcotizante en los animales, sin producir pérdida total de la conciencia, la cual fue llamada "Concentración sub-anestésica".

HIDROCARBONOS.—Ratas en una atmósfera conteniendo 60% de etileno y 40%

de oxígeno, sufrieron una leucopenia de 48%; mientras que los eritrocitos y las plaquetas disminuyeron respectivamente 11% y 19% de sus valores iniciales. Ratas que inhalaban 6% de ciclopropano (habiéndose completado el resto de la atmósfera con 74% de aire y 20% de oxígeno) tuvieron una baja de leucocitos de 65%, con disminución de los eritrocitos y trombocitos de 14% y 13% respectivamente. Un grupo de ratas fue expuesto a 50% de acetileno y 50% de oxígeno; en este grupo se observó una leucopenia de 56%, eritropenia de 18% y trombocitopenia de 22%. Las muestras de médula ósea obtenidas por aspiración revelaron una disminución de la cuenta celular de aproximadamente 30% con una alteración de la proporción de granulocitos de 0.5:1. Solamente en este grupo se notó una disminución de los megacariocitos alrededor de un 25%.

GASES INERTES: Tres grupos de seis ratas cada uno fueron sometidos a la inhalación prolongada de 80% de helio, neón y argón, combinados con 20% de oxígeno. Otro grupo fue sometido a la inhalación de 80% de xenón, sin embargo; como esta concentración produjo pérdida de la conciencia, tal cantidad fue disminuida, habiéndose llegado a la mezcla de 65% de xenón y 35% de oxígeno, la cual produjo los efectos "subanestésicos" descritos. De estos grupos, el único que sufrió alteración del sistema hematopoiético fue el expuesto a xenón. Tales cambios fueron: 30% disminución de los glóbulos blancos, disminución de 18% de los glóbulos rojos y una baja de las plaquetas de sólo 4%. Los frotis de médula ósea revelaron una disminución de granulocitos; la cuenta celular total disminuyó en un 25%.

GAS INORGANICO: Otras seis ratas fueron expuestas, a una atmósfera, conte-

niendo 80% de hexafluoruro de azufre y 20% de oxígeno. La inhalación continua de esta mezcla, fue prolongada hasta 9 días. No se observaron alteraciones de las cuentas celulares ni de la médula ósea. Los animales no parecieron ser afectados por este gas.

GRUPOS DE CONTROL: Cinco diferente grupos de ratas fueron restringidos a la misma cámara, por períodos de seis días. Uno de los grupos fue expuesto únicamente a aire. A un segundo grupo respirando aire, se le limitó el alimento en una cantidad igual al ingerido por los animales expuestos al óxido nitroso (2/3 partes de la cantidad habitual). Un tercer grupo recibió una inyección de reserpina de 0.8 mg/Kg. intramuscular, con el objeto de disminuir su actividad física en una forma similar a como lo hicieron los gases anestésicos. El cuarto grupo inhaló 100% de oxígeno durante seis días. Finalmente, un quinto grupo fue sometido a la inhalación continua de una atmósfera conteniendo 37% de oxígeno y 63% de aire, cuya mezcla equivale a 50% de nitrógeno y 49.6% de oxígeno aproximadamente. Los resultados observados en estos grupos fueron los siguientes: el grupo que respiró aire, mostró los aumentos pequeños de células sanguíneas características de los animales en crecimiento, semejantes a los previamente descritos por otros investigadores (5, 6). Las ratas a las cuales se les restringió el alimento, a las que se les hizo menos activos por medio de reserpina y a las que respiraron la mezcla de aire y oxígeno, desarrollaron aumentos de las cuentas celulares insignificantes similares al primer grupo. Dos de las seis ratas que respiraron oxígeno puro murieron al tercer día y las cuatro restantes al cuarto día. Las cuentas celulares no se alteraron en forma significativa, ni tampoco la apariencia de la médula ósea. En la autopsia

de estos animales se notó un edema pulmonar difuso e inflamación del parénquima renal.

CUADRO No. 1

Grupo	Concentración del Gas en Oxígeno	Promedio de las Variaciones de las Cuentas Celulares (Porcentaje del Valor Inicial)			Cambio de la Celularidad de la Médula Osea	Porcentaje del Valor Inicial de Hematocrito
		Leucocitos	Eritrocitos	Trombocitos		
1	Aire	+15.2	+ 2.8	+ 3.5	Ninguno	+ 4
2	Aire - Alimento	+10	+ 1	+ 1	Ninguno	+ 5
3	Aire-Reserpina	+ 4	+ 3	+ 1	Ninguno	+ 2
4	100% Oxígeno	-11	-12	- 2	Ninguno	- 4
5	63% Aire	+ 6	+ 2	+ 2	Ninguno	+ 2
6	70% Oxido Nitroso	-69.9*	-13.2	-20.2**	- 40%	- 2
7	80% Hexaf. Azufre	+10	+11.2	+ 0.2	Ninguno	+ 2
8	80% Helio	- 1	- 1	- 4	Ninguno	+ 2
9	80% Neón	- 4	- 2	- 3	Ninguno	+ 2
10	80% Argón	- 6	- 2	- 3	Ninguno	+ 1
11	65% Xenón	-30*	-18**	- 4	- 25%	- 4
12	60% Etileno	-48.2*	-11.2	-19.3**	- 30%	+ 2
13	6% Ciclopropano	-65.6*	-14	-13.5	- 30%	+ 8
14	50% Acetileno	-56.6*	-18**	-22**	- 30%	- 8

ALTERACIONES DE LAS CUENTAS CELULARES SANGUINEAS, DE LA CELULARIDAD DE LA MEDULA OSEA Y DEL HEMATOCRITO EN GRUPOS DE RATAS INHALANDO VARIOS GASES

Con excepción del grupo expuesto al Hexafluoruro de Azufre (durante 9 días), los grupos restantes fueron sujetos a seis días de inhalación continua. El ciclopropano fué mezclado con 20% de oxígeno y 74% de aire.

*— $p < .001$, **— $p < .05$

DISCUSION

El sistema hematopoiético de las ratas albinas jóvenes, posee una capacidad de producir granulocitos 52 veces mayor que la cantidad requerida para mantener la cuenta periférica normal (11). Este hecho sugiere que la raza de ratas albinas, cuando joven, constituye un modelo experimental deseable para investigar el efecto tóxico que ciertas drogas ejercen sobre el sistema hematopoiético.

Nuestra técnica y métodos produjeron resultados semejantes a los descritos por Green y Eastwood (5), empleando el óxido nitroso. Los grupos control que respiraron aire, tuvieron incrementos de las células sanguíneas, similares a los descritos con anterioridad por otros autores. Estos aumentos también podían ser producidos por una deshidratación mínima, sufrida por las ratas expuestas al aire y a gases sin propiedades anestésicas. La muerte prematura de las ratas respirando oxígeno, se con-

sidera como evidencia de la toxicidad del gas cuando es inhalado continuamente; tales observaciones son también semejantes a las descritas por Karsner (9) y Ohlsson (10).

La anorexia, la inactividad y diferentes concentraciones de oxígeno, inhaladas durante seis días, han sido descartadas como posibles factores leucopénicos. Sin embargo, la vigilia completa por seis días o dosis mayores de reserpina sí pueden producir un efecto depresor en los glóbulos blancos. Se cree que en las ratas que respiraron gases anestésicos, tales variantes no tuvieron significado.

Los gases inertes han servido anteriormente como instrumento para investigar mecanismos de anestesia. En estos estudios, una vez más han servido para relacionar las propiedades físicas y químicas de agentes gaseosos, con los efectos que pudieran tener sobre el sistema hematopoiético. Lawrence y sus colaboradores (12), dedujeron de la hipótesis de narcosis descrita por Meyer y Overton, que los gases raros: kriptón y xenón, podrían tener propiedades anestésicas; ya que poseían un coeficiente elevado de solubilidad de aceite en agua. Posteriormente, esta proposición fue confirmada por Cullen y Gross (13), quienes observaron que a una atmósfera de presión, sólo el xenón era capaz de producir anestesia semejante a la obtenida con el óxido nitroso. El hexafluoruro de azufre, inerte en condiciones ordinarias, posee propiedades analgésicas moderadas (14). Crapenter (15) notó, que este gas podía proteger al ratón, (sólo a presiones elevadas), contra las convulsiones producidas por el electroshock.

En nuestras observaciones con gases inertes, sólo el xenón produjo una Leucopenia significativa, lo que explica, aunque parcialmente, la posible relación entre la acción anestésica de algunos gases y su ac-

ción depresora sobre la hematopoesis. Brauer ha reportado la observación de Leucopenia en monos, a los cuales se les ha anestesiado por períodos largos con helio y nitrógeno dentro de cámaras hiperbáricas; lo cual sugiere la posibilidad de que los gases inertes pueden adquirir poderes narcotizantes en condiciones de presión elevada y al mismo tiempo, producir Leucopenia si su inhalación es prolongada (16).

De los líquidos volátiles, sólo el halotane ha sido estudiado en forma similar. Bruce y Keopke (17) reportaron granulocitopenia y disminución de la cariocinesis de granulocitos medulares en ratas inhalando 0.4% de halotane por períodos de 3 a 5 días.

De interés son los resultados obtenidos en los grupos de ratas expuestos a la inhalación prolongada de gases, con propiedades anestésicas: el etileno, ciclopropano, acetileno y xenón, produjeron en concentraciones "subanestésicas", una disminución significativa de las cuentas de glóbulos blancos y disminuciones moderadas de glóbulos rojos y plaquetas. Igualmente, cierta depresión de la actividad divisoria de los granulocitos de la médula ósea fue observada en los animales expuestos a estos gases.

SITIO DE ACCIÓN: De los experimentos previamente descritos, no es posible definir con claridad el mecanismo y el sitio de acción depresora que los gases anestésicos ejercen sobre las células sanguíneas y la médula ósea. Sin embargo, podemos decir que tal acción no es exclusiva del óxido nitroso, sino que es común a otros gases con propiedades narcotizantes. Ciertas alteraciones hematológicas han sido descritas como secuela de la exposición prolongada a bencina (98), uretano (19) y alcohol (20), así como después de inyecciones de barbitúricos (21, 22) todos ellos poseen propiedades narcotizantes. Estudios más específicos, de tipo enzimático y de cultivo

de tejidos, son necesarios, para dilucidar la relación farmacológica entre el efecto contrario a la hematopoyesis y la depresión del sistema nervioso central que poseen ciertas drogas.

Este problema no es del todo extraño, ya que el mecanismo de narcosis se encuentra aún en fase de debate. Los anestésicos alteran la fisiología celular en varias formas; producen defectos teratogénicos (23, 24), retardo o detención del crecimiento celular en cultivos de tejido (25), así como vacuolización y destrucción de células he-

páticas (26). Ya sea que esta acción ocurra en el núcleo o en el protoplasma celular, el enigma aún está sin resolverse, sin embargo; se ha confirmado el efecto que drogas con propiedades anestésicas ejercen sobre la estructura y las funciones celulares. Los resultados aquí descritos, junto con las referencias mencionadas, sugieren que tales drogas no sólo tienen un efecto inhibitorio sobre el sistema nervioso, sino que también pueden influir otros sistemas celulares.

REFERENCIAS

- 1.—GORMSEN, J.—*Agranulocytosis and Thrombocytopenia in a case of Tetanus treated with Curare and Chlorpromazine.*—Danish Med. Bull. 2:87, 1955.
- 2.—LASSEN, H. C. A., HENRIKSEN, E., NEUKIRCH, F. AND KRISTENSEN, H. S.—*Treatment of Tetanus: Severe Bone Marrow Depression after Prolonged Nitrous Oxide Anesthesia.*—Lancet: 270, 1956.
- 3.—LASSEN, H. C. AND KRISTENSEN, H. S.—*Remission of Chronic Myelogenous Leukemia Following Prolonged Nitrous Oxide Inhalation.*—Dan. Med. Bull. 6:252, 1959.
- 4.—EASTWOOD, D. W., GREEN, C. D., LAMBDIN, M. A. AND GARDNER, R.—*The Effect of Nitrous Oxide on the White Cell Count in Leukemia.*—New Eng. J. Med. 268:297, 1963.
- 5.—GREEN, C. D. AND EASTWOOD, D. W.—*Effects of Nitrous Oxide Inhalation on Hemopoiesis in Rats.*—Anesthesiology 24:341, 1963.
- 6.—PARBROOK, C. D.—*Leucopenic Effects of Prolonged Nitrous Oxide Treatment.*—Brit. J. Anesth. 39:119, 1967.
- 7.—ZAUDER, H. L. AND ORKIN, L. R.—*Chamber for Anesthetization of Small Animals.*—Anesthesiology, 20:707, 1959.
- 8.—SKIRMONT, E. A., MARKS, E. K. AND JACOBSON, L. O.—*A Modified Technique for Counting Blood Platelets.*—Am. J. Med. Technol. 15:86, 1949.
- 9.—KARSNER, H. T.—*The Pathological Effects of Atmospheres rich in Oxygen.*—J. Exper. Med. 23:149, 1916.
- 10.—OHLSSON, W. T.—*A Study on Oxygen Toxicity at Atmospheric Pressure with Special reference to the Pathogenesis of Pulmonary Damage and Clinical Oxygen Therapy.*—Acta Med. Scand. 190:1, 1947.
- 11.—KINDRED, J. E.—*Histological Changes Occurring in the Hemopoietic Organs of Albino Rats after Single Injections of 2-Chloethyl Vesicants.*—Arch. Path. 43:253, 1947.
- 12.—LAWRENCE, J. H., LOOMIS, W. F., TOBIAS, O. F. AND TURPIN, F. H.—*Preliminary Observations on the Narcotic Effects of Xenon with a Review of Values for Solubilities of Gases in Water and Oils.*—J. Physiol. 105:197, 1946.
- 13.—CULLEN, S. C. AND GROSS, E. G.—*The Anesthetic Properties of Xenon in Animals and Human Beings, with Additional Observations on Krypton.*—Science, 113:580, 1951.
- 14.—VIRTUE, R. W. AND WEAVER, R. H.—*The Mild Anesthetic Properties of Sulfur Hexafluoride.*—Anesthesiology, 13:605, 1952.
- 15.—CARPENTER, F. G.—*Depressant Action of Inert Gases on the Central Nervous System in Mice.* Am. J. Physiol. 172:471, 1953.
- 16.—BRAUER, R. W.—*Anesthetic Effects of Hyperbaric Environment. Proceedings of the Symposium on Toxicity of Anesthetics.*—Seattle, Washington, May 12-13, 1967.
- 17.—BRUCE, D. L. AND KOEPKE, J. A.—*Changes in Granulopoiesis in the Rat Associated with Prolonged Halothane Anesthesia.*—Anesthesiology, 27:811, 1966.
- 18.—ERF, L. A. AND RHOADS, C. P.—*The Hematological Effects of Benzene (Benzol) Poisoning.* J. Indust. Hyg. Toxicol. 21:421, 1939.
- 19.—PATTERSON, E., HADDOW, A., THOMAS, I. A. AND WATKINSON, J. M.—*Leukemia Treated with Urethane.*—Lancet, 1:677, 1946.
- 20.—MCFARLAND, W. AND LIBRE, E. P.—*Abnormal Leucocyte Response in Alcoholism.*—Ann. Int. Med. 59:865, 1963.
- 21.—GRACA, G. J. AND GARST, E. L.—*Early Blood Changes in Dogs Following Intravenous Pentobarbital Anesthesia.*—Anesthesiology, 18:461, 1957.
- 22.—USENIK, E. A. AND CRONKITE, E. P.—*Effects of Barbiturate Anesthetics on Leukocytes in Normal and Splenectomized Dogs.*—Anesth. Analg. 44:167, 1965.