

VARIABILIDAD DE LA ERITROSEDIMENTACIÓN EN SUJETOS SANOS, ANTES Y DESPUÉS DE LA DESFIBRINACIÓN IN VITRO.

NÉLIDA N. POLINI*, JORGE RUBÉN ZAVATTI**

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar la variabilidad que puede esperarse en la reducción de la eritrosedimentación (ERS) después de la defibrinación de la muestra de sangre y su correlación con el fibrinógeno plasmático funcional (FF) y las globulinas plasmáticas (GP), en sujetos sanos. De acuerdo al criterio bioantropológico corriente la muestra poblacional se dividió en tres grupos etarios: adolescentes (n=50), juveniles (n=30) y adultos (n=40). Se determinó la ERS antes y después de defibrinar la muestra de sangre por el método de Westergren, la concentración del FF por el método manual de Clauss en una sola etapa y el contenido de GP por semimicroelectroforesis. El análisis estadístico de los datos permitió determinar que en los juveniles, en ambos sexos, se presentaron los menores valo-

res de la ERS tanto antes como después de defibrinar la sangre (mujeres: de 2-22 a 0-10 mm/hora; varones: de 0,5-12 a 0-2 mm/hora), incrementando el riesgo de considerar a un sujeto de este grupo sano cuando no lo está. En general, ambas ERS fueron mayores para las mujeres, siendo la diferencia estadísticamente significativa sólo en la edad adulta ($p < 0.05$). También para este sexo resultó significativamente mayor el descenso en la ERS que provoca el defibrinado de la muestra en todas las edades estudiadas ($p < 0.0001$), sin embargo, dicha disminución no esta asociada a los niveles de FF y/o GP observados. Por último, contrariamente a lo que sucede con los enfermos, en los sujetos sanos, no se encontró correlación entre la reducción de la ERS con las concentraciones del FF ni con el contenido de las GP.

Palabras Claves: Eritrosedimentación, Fibrinógeno, Globulinas.

Summary

The aim of this work was to study the erythrocyte-sedimentation rate (ERS) that may be expected after the defibrination of the blood sample, and its correlation with the functional plasma-fibrinogen (FF) and plasma-globulins (GP) in healthy subjects. The sample population was divided, in accordance with the usual bioanthropological criteria, into three age groups: adolescents (n=50), young adults (n=30) and adults (n=40). The ERS was measured before and after the defibrination of the blood-sample by the Westergren method, the plasma-fibrinogen concentration was estimated by the Clauss one-stage manual method, and the globulin level by means of semimicroelectrophoresis. According to the statistical analysis of the data, young adults irrespective of their sex presented the lowest ERS values both before and after defibrination

* Cátedra de Análisis Clínicos II. Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. U.N.S. Bahía Blanca (Argentina).

** Facultad de Ciencias Naturales. U.N. de la Patagonia San Juan Bosco. Puerto Madryn (Argentina).

Correspondencia: Dra. Nélide N. Polini. Departamento de Biol., Bioq. y Farmacia. San Juan 670.

8000 Bahía Blanca. República Argentina. Tel: 0291-4595101-Interno: 2417. Fax: 0291- 4595130

Email: nnpolini@uns.edu.ar

Este trabajo fue subsidiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Sur.

(women: from 2-22 to 0-10 mm/h; men: from 0,5-12 to 0-2 mm/h), a fact which increases the risk of considering a sick patient healthy. In general, both ERS were higher for women, although this difference was statistically relevant only for the adult age group ($p < 0,05$). Moreover, as a result of defibrination the females from all the age groups studied featured a significantly greater reduction in their ERS ($p < 0,0001$). However, this fall in rate is associated with neither the FF nor the GP levels observed. Finally, unlike what occurs with sick patients, healthy individuals did not present a correlation between the reduction in ERS and either the FF concentration or the globulin level.

Keywords: erythrocyte-sedimentation rate; fibrinogen; globulins.

INTRODUCCIÓN

La ERS es una determinación simple, inespecífica y ampliamente usada en la clínica. A los fines del diagnóstico podría compararse con la temperatura corporal, frecuencia del pulso y recuento leucocitario porque brinda información de carácter general. Es un suplemento útil para el diagnóstico clínico porque suele estar incrementada – aún cuando parámetros como los mencionados u otros estudios clínicos y de laboratorio, son normales o negativos – en las infecciones agudas y crónicas, anemia, polimialgia reumática, colagenosis, neoplasias, mielomas, necrosis tisular, tuberculosis pulmonar, carditis reumática, artritis reumatoidea y enfermedades hematológicas como las disglobulemias, linfomas y leucemias (1,2).

Realizar la ERS en forma seriada en un mismo individuo, permite seguir la evolución de patologías como las indicadas. En la práctica, una ERS elevada se considera como signo de patología presente y obliga a buscar la causa del incremento. Por el contrario, la normalidad de este parámetro no excluye la posible existencia de enfermedad (3).

Los cambios en la ERS están en relación directa con la rapidez con que los hematíes se agregan y sedimentan. Este fenómeno depende de factores como el número, forma y volumen corpuscular medio de los hematíes; de la concentración del FF y de los niveles de las GP (4,5,6).

Trabajos anteriores han demostrado que diferentes enfermedades producen un aumento importante en la ERS respecto a los valores esperados en sujetos sanos, aún en muestras de sangre desfibrinadas. Dicho incremento es más intenso cuando la causa es un exceso en los niveles de las GP y menos pronunciado cuando hay un aumento en la concentración del FF. Desfibrinando la muestra de sangre se incrementa la especificidad de la determinación, proporcionándole al médico una valiosa ayuda en la investigación inicial de los valores de ERS altos (7).

Del análisis de lo señalado en los párrafos anteriores, surge que es necesario desarrollar criterios de normalidad que resulten útiles en el diagnóstico clínico. Con el propósito de contribuir a dicho fin, este trabajo tiene por objeto estudiar la variabilidad de los valores de la ERS – antes y después de desfibrinar las muestras de sangre – el FF y las GP, con la edad y el sexo, en los sujetos sanos, así como el efecto de los FF y las GP en las ERS del mismo grupo de individuos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos y diseño del estudio

Este estudio se llevó a cabo en 120 sujetos sanos, de edades comprendidas entre 12 y 65 años, de los cuales 60 eran varones y 60 mujeres. De acuerdo al criterio bioantropológico habitual (8) la muestra poblacional quedó dividida en tres grupos etarios: adolescentes (12 a 18 años, $n = 50$), juveniles (19 a 25 años, $n = 30$) y adultos (mayores de 26 años, $n = 40$). En los 10 días previos a la extracción, los sujetos no habían ingerido medicación de ningún tipo ni habían padecido enfermedades clínicamente diagnosticadas. Las muestras de sangre se obtuvieron de mañana, después de un ayuno de 12 horas, en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Departamento de Sanidad de la Universidad Nacional del Sur.

Análisis de laboratorio

Por punción venosa única, sin éstasis, a cada sujeto sano se le extrajeron 18 ml de sangre. El volumen fue dividido en dos especímenes de 9 ml cada uno. Un espécimen se mezcló con 3 ml de citrato de sodio al 3.2% según las indicaciones del Comité Internacional de Estandarización en Hematología (9); mientras que el otro se lo hizo rotar en un erlenmeyer con perlas de vidrio a 16 rpm durante 5 minutos. El coágulo de fibrina resultante fue removido y a la sangre desfibrinada se le agregó citrato de sodio al 3.2% en la misma proporción que al primer espécimen.

En ambos se midió la ERS por el método de Westergreen (10). Al sobrenadante del plasma se le determinó los niveles de FF por duplicado utilizando el método manual cronométrico de Clauss (11) utilizando equipos comerciales (Fibrinógeno-Kit del laboratorio Bio-Mérieux,

Francia), con las modificaciones de Grannis (12). En el sobrenadante del suero se midió las concentraciones de las GP por el método de semimicroelectroforesis de Herr y Margni (13), utilizando tiras de acetato de celulosa gelatinizado (Helena laboratories, Titan III, Estados Unidos) las que se tiñeron con Ponceau S (Anedra, Argentina), se transparentaron y leyeron en un densitómetro (Cellomatic Junior, Italia).

Métodos estadísticos

Los resultados individuales de los sujetos sanos se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA) considerando el sexo y la edad como factores (14). El nivel de significación seleccionado para la prueba de F fue de $p < 0.05$. Antes de aplicar el ANOVA se verificó que los datos cumplan con los criterios de normalidad y homogeneidad de la varianza (15).

RESULTADOS

En la tabla I se consigna, discriminado por sexo y grupo etario, el resumen de los resultados de las ERS - antes y después de desfibrinar - y las concentraciones de FF y GP.

La desfibrinación produce en promedio, reducciones en la ERS del orden de los 5 mm/hora (ERS media antes de desfibrinar 6,55 mm/hora y 1,32 mm/hora después de desfibrinar), mientras que en la edad juvenil en ambos sexos se presentan los menores valores de la ERS tanto antes como después de desfibrinar la sangre y, en general, ambas determinaciones de ERS dieron valores más elevados en las mujeres que en los varones.

Los análisis de la varianza (ANOVA) que contienen las tablas II (a y b) indican que el grupo etario es un factor significativo en la variación de las dos

Tabla I

RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS								
Sexo	Edad		ERS (1)	ERS+Des (2)	Reducción (3)	FF (4)	GP (5)	
Mujeres N = 60	Adolescentes N = 27	Media	9,6	1,8	7,7	2,7	32,0	
		DS	5,2	2,9	4,0	0,5	4,1	
		MAX	21,0	10,0	20,0	4,0	44,3	
			MIN	3,0	0,0	3,0	2,1	27,4
	Juveniles N = 14	Media	6,1	1,3	4,8	2,6	31,3	
		DS	5,3	2,7	2,8	0,4	3,9	
		MAX	22,0	10,0	12,0	3,7	38,7	
			MIN	2,0	0,0	2,0	1,9	26,6
	Adultas N = 19	Media	9,0	1,7	7,3	2,3	29,6	
		DS	4,9	1,8	3,2	0,3	2,3	
		MAX	20,0	5,0	15,0	3,1	33,4	
			MIN	3,0	0,0	3,0	1,9	25,7
Varones N = 60	Adolescentes N = 23	Media	7,3	2,4	4,9	2,8	32,0	
		DS	6,6	3,6	4,5	0,5	5,1	
		MAX	28,0	11,0	17,0	4,0	44,4	
			MIN	0,0	0,0	0,0	2,3	20,0
	Juveniles N = 16	Media	2,8	0,1	2,7	2,4	31,5	
		DS	2,8	0,5	2,7	0,8	4,5	
		MAX	12,0	2,0	12,0	3,9	41,4	
			MIN	0,5	0,0	0,5	0,1	25,2
	Adultos N = 21	Media	4,5	0,6	3,9	2,6	29,6	
		DS	4,5	1,5	3,2	0,3	3,1	
		MAX	20,0	6,0	14,0	3,1	35,3	
			MIN	1,0	0,0	1,0	2,0	23,2

1. Eritrosedimentación antes de desfibrinar la muestra de sangre [mm/hora].
2. Eritrosedimentación después de desfibrinar la muestra de sangre [mm/hora].
3. Reducción en la eritrosedimentación producida por la desfibrinación de la muestra [mm/hora].
4. Concentración del fibrinógeno plasmático funcional en la muestra de sangre [g/litro].
5. Concentración de las globulinas plasmáticas en la muestra de sangre [g/litro].

Tabla II (a)

ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) PARA LA ERS ANTES DE DEFIBRINAR LA MUESTRA DE SANGRE.					
Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrada	F	Nivel de Significación
EFECTOS PRINCIPALES:					
Sexo (A)	315,2	1	315,2	11,94	0,0008
Grupo Etario (B)	298,8	2	149,4	5,66	0,0045
INTERACCIONES					
A x B	29,7	2	14,8	0,56	0,5716
RESIDUO	3009,9	114	26,4		
TOTAL (Corregido)	3648,7	119			

Tabla II (b)

**ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) PARA LA ERS
DESPUÉS DE DEFIBRINAR LA MUESTRA DE SANGRE.**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrada	F	Nivel de Significación
EFFECTOS PRINCIPALES:					
Sexo (A)	8,87	1	8,87	1,41	0,2384
Grupo Etario (B)	43,47	2	21,73	3,44	0,0353
INTERACCIONES					
A x B	22,68	2	11,34	1,80	0,1705
RESIDUO	719,68	114	6,31		
TOTAL (Corregido)	791,83	119			

Tabla III (a)

**CONTRASTE DE LAS MEDIAS EN LOS TRES GRUPOS ETARIOS PARA LA ERS,
ANTES DE DEFIBRINAR LAS MUESTRAS DE SANGRE**

Grupo Etario	Número de Datos (N)	Media
Adolescentes	50	8,452
Juveniles	30	4,458
Adultos	40	6,738
Contraste	Diferencia	Intervalo ($p < 0.05$) (1)
Adolescentes-Juveniles	3,994 (2)	$\pm 2,357$
Adolescentes-Adultos	1,714	$\pm 2,164$
Juveniles-Adultos	-2,281	$\pm 2,463$

Tabla III (b)

**CONTRASTE DE LAS MEDIAS DE GRUPOS ETARIOS PARA LA ERS,
DESPUÉS DE DEFIBRINAR LAS MUESTRAS DE SANGRE.**

Grupo Etario	Número de Datos	Media
Adolescentes	50	2,125
Juveniles	30	0,688
Adultos	40	1,154
Contraste	Diferencia	Intervalo ($p < 0.05$) (1)
Adolescentes-Juveniles	1,437 (2)	$\pm 1,153$
Adolescentes-Adultos	0,971	$\pm 1,058$
Juveniles-Adultos	-0,467	$\pm 1,205$

(1) Intervalo de Confianza para $p < 0.05$ correspondiente a la diferencia entre las medias comparadas. Si la Diferencia obtenida se ubica fuera de dicho intervalo la misma es significativa para la probabilidad indicada.

(2) Diferencia Significativa.

Tabla IV (a)

ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA EL FIBRINÓGENO PLASMÁTICO FUNCIONAL

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrada	F	Nivel de Significación
EFFECTOS PRINCIPALES:					
Sexo (A)	0,138	1	0,138	0,55	0,468
Grupo Etario (B)	2,316	2	1,158	4,61	0,012
INTERACCIONES					
A x B	0,720	2	0,360	1,43	0,243
RESIDUO	28,65	114	0,251		
TOTAL (Corregido)	31,85	119			

determinaciones de ERS, en tanto que el sexo lo es sólo para la ERS medida antes de defibrinar la muestra. La interacción de los factores es no significativa para ambas medidas de la ERS.

Los valores medios de ERS y ERS defibrinada para las tres clases de edad en las que fue clasificada la muestra (tablas III a y b), señalan que los datos correspondientes a los juveniles son los que provocan la significación del factor grupo etario en los ANOVA realizados; en particular su diferencia respecto de los promedios de los adolescentes.

Las tablas IV (a y b) muestran los ANOVA de FF y GP en relación a los factores sexo y grupo etario. Para ambos grupos de proteínas el factor edad fue significativo.

En los sujetos sanos, contrariamente a lo que sucede con los enfermos (7), no se encontró correlación entre la reducción de la ERS con las concentraciones del FF ni con el contenido de las GP (FF: $y = 0,0142x + 5,40$; $r^2 = 3 \times 10^{-6}$) (GP: $y = 0,0122x - 0,15$; $r^2 = 0,022$).

Tomando en consideración los resultados obtenidos, se proponen intervalos de valores "normales" de las variables estudiadas discriminados por sexo y edad (tabla V).

CONCLUSIONES

Los grupos juveniles de ambos sexos presentan valores significativamente menores de ERS - tanto antes como después de defibrinar la sangre - aunque dentro del intervalo de valores considerados "normales" (2). Esta particularidad hace que se incremente el riesgo de considerar sano a un individuo juvenil que no lo está.

En general los valores de las ERS antes y después de desfi-

brinar, fueron mayores en las mujeres, no obstante, la diferencia entre sexos es estadísticamente significativa sólo en los adultos ($p < 0,05$).

Asimismo, para las mujeres resultó significativo ($p < 0,0001$) el descenso en la ERS que provoca el desfibrinado de la muestra. Sin embargo, dicha disminución no esta asociada a los niveles de FF y/o GP observados.

Generalizando, en los sujetos sanos, contrariamente a lo que sucede con individuos enfermos, no se detectó una relación significativa entre la dismución de la ERS y las concentraciones de FF y GP. En consecuencia, en los sujetos sanos, desfibrinar la muestra de sangre no contribuye a incrementar la especificidad de la determinación de la eritrosedimentación.

Bibliografía

1. Saadeh C. The erythrocyte sedimentation rate: old and new clinical applications. *South Med J*; 1998; 3:220-5.
2. Brigden M. The erythrocyte sedimentation rate: still a helpful test when used judiciously. *Postgrad Med* 1998;104: 515-23.
3. Wintrobe MM, Lee GR, Bithell TC, Foester J, Athens J, Lukens J. Principios del examen hematológico. In: *Hematología Clínica*, 9.ª ed. Buenos Aires. Argentina: Intermédica; 1994;I,2: 25-31.
4. Henry JB. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. 9.ª ed. Masson y Salvat editores. Barcelona. 1993; 618-20.
5. Sox HC and Liang MH. "The erythrocyte sedimentation rate. Guidelines for rational use". *Am Intern Med* 1986; 104: 515-8.
6. Bedell SE, Bush BT. "Erythrocyte Sedimentation Rate: from folklore to facts". *Am J of Med* 1985; 78: 1001-9.
7. Holdstock G, Mitchell JRA. "Erythrocyte-sedimentation rate before and after in-vitro defibrination: a rapid and simple method for increasing its specificity". *Lancet*, 1977; 31:1314-6.
8. Tanner JM. Growth at adolescence. 1ª ed. Blackwell Ed. Oxford, England; 1962.
9. International Committee for Standardization in Haematology. Recommendation for measurement of erythrocyte sedimentation rate of human blood. *Am J of Clin Path* 1986; 66: 505.
10. Westergren A. "The technique of the red cell sedimentation reaction". *Am Rev Tuberc* 1926; 14: 94-101.
11. Clauss A. "Gerinnungsphysiologische schnellmethode zur bestimmung des fibrinogens". *Acta Haemat* 1957; 17: 237- 46.
12. Grannis GF. "Plasma fibrinogen: determination, normal values, physiopatologic shifts and fluctuation". *Clin Chem* 1970; 16: 486-94.
13. Herr EE y Margni RA. Electro e inmunoelectroforesis. Manual de laboratorio e interpretaciones fundamentales. 1ª ed. Buenos Aires. Argentina. G.Fernández ed., 1971; 51-57.
14. Snedecor GW, Cochran WG. Métodos Estadísticos. CEC SA. Méjico, 1984.
15. Sokal RR, Rohlf FJ. Biometry, 2ª ed. Freeman. New York, 1981.

Tabla IV (b)

ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA LAS GLOBULINAS PLASMÁTICAS

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrada	F	Nivel de Significación
EFECTOS PRINCIPALES:					
Sexo (A)	0,258	1	0,258	0,016	0,899
Grupo Etario (B)	129,381	2	64,691	4,128	0,019
INTERACCIONES					
A x B	0,236	2	0,118	0,008	0,993
RESIDUO	1786,42	114	15,670		
TOTAL (Corregido)	1916,71	119			

Tabla V

INTERVALOS DE VALORES "NORMALES" PARA ERITROSEDIMENTACIÓN, FIBRINÓGENO FUNCIOANLY GLOBULINAS PLASMÁTICAS

Sexo	Edad	ERS (mm/h)	FF (g/l)	GP (g/l)
Mujeres	Adolescentes	7 a 12	2,5 a 3,0	30 a 34
	Juveniles	3 a 9	2,0 a 3,0	29 a 34
	Adultas	7 a 11	2,0 a 2,5	28 a 31
Varones	Adolescentes	4 a 10	2,5 a 3,0	30 a 34
	Juveniles	1 a 4	2,0 a 3,0	29 a 34
	Adultos	2 a 7	2,5 a 3,0	28 a 31