

ALTERACIONES HEMATOLOGICAS EN RATAS TRATADAS CON DOSIS ELEVADAS DE VITAMINA K₃ (MENADIONA)

*O.M. Alarcón*¹, *F. Vásquez R.*², *A. Acosta*², *J.L. Burguera*³,
*M. Burguera*³, y *S.Y. Ortega L.*¹

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela
y
Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela

RESUMEN

En el presente estudio se describe el efecto de dosis elevadas (8 a 30 mg de menadiona/kg de peso corporal) de vitamina K₃ inyectada intramuscularmente, durante un lapso de siete días, sobre el frotis sanguíneo, el conteo de glóbulos rojos, los niveles sanguíneos de hemoglobina (Hb), el valor de hematocrito (Ht), la concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM), el número de reticulocitos y de eritroblastos, el conteo globular blanco y el recuento diferencial y la concentración de la bilirrubina total y fraccionada de ratas blancas macho. Luego, se comparan los resultados con lo que sucede en ratas tratadas con dosis iguales de bisulfito de sodio. En los animales tratados con vitamina K₃ se encontró una disminución muy significativa del recuento de glóbulos rojos, de la Hb, del Ht y de la CHCM, concomitantemente con un marcado incremento en el recuento de eritroblastos y reticulocitos. En el frotis sanguíneo se observó policromasia y variaciones en la forma, tamaño y coloración de los glóbulos rojos; los glóbulos blancos eran morfológicamente normales, aunque aumentados en número; linfocitos ocasionales con gránulos azúrofilos; y plaquetas fusiformes y en cantidades aparentemente normales. En cuanto a la serie blanca, se detectó un incremento significativo en los leucocitos circulantes, con notoria neutrofilia, eosinofilia, linfocitosis y monocitosis. También se notó la presencia de una ictericia a predominio de la bilirrubina indirecta.

Estos hallazgos permiten concluir que la vitamina K en las dosis empleadas produce una marcada anemia hemolítica microcítica hipocrómica, y modificaciones del

Manuscrito modificado recibido: 30-4-90.

- 1 Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- 2 Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.
- 3 Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 51001, Venezuela.

contaje leucocitario. Estos cambios, por lo tanto, serán objeto de estudios posteriores, a fin de esclarecer las causas y/o los mecanismos que producen esa alteración de las células sanguíneas.

INTRODUCCION

Las vitaminas K a dosis elevadas producen alteraciones hepáticas y extrahepáticas. Respecto a las primeras, Unger y Shapiro (1) han señalado los efectos adversos de estas vitaminas en el hígado previamente lesionado. Smith y Custer (2), por su parte, publicaron un caso de daño hepático inducido por la administración de la vitamina K a pacientes sin enfermedad hepática previa. En el hígado de ratas tratadas con vitamina K_3 (menadiona) se ha descrito cierto grado de necrosis (3), juntamente con cambios en su mapa enzimático (4) y en su contenido de hierro (3). Entre las alteraciones extrahepáticas se citan anemia aplásica (5), anemia hemolítica (6), metahemoglobinemia, hemorragias petequiales y focales en diversos órganos (3,7). Esto ocurrió concomitantemente con degeneración tubular renal, albuminuria y porfirinuria (8), esplenomegalia, retardo en el crecimiento, anorexia, pérdida de peso (4) y muerte de los animales (5) por insuficiencia respiratoria. Otras manifestaciones incluyen la distorsión del mapa enzimático sérico y cambios en la química sanguínea (9). En prematuros, la administración de dosis elevadas de vitamina K determina una anemia hemolítica y kernicterus (10).

En el presente artículo se describe el efecto de dosis elevadas de la vitamina K_3 (menadiona) (8 a 30 mg/kg de peso corporal/día) inyectada intramuscularmente, durante un lapso de siete días, sobre el conteo globular rojo, los niveles sanguíneos de la hemoglobina (Hb), el valor del hematocrito (Ht), la concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM), el número de reticulocitos y de eritroblastos, el recuento de glóbulos blancos y su recuento diferencial y la concentración de la bilirrubina total y fraccionada en ratas blancas macho. Se compara también con lo que sucede en ratas control tratadas con dosis iguales de bisulfito de sodio.

El propósito de la investigación fue el estudiar las características morfológicas de la anemia producida por la sobredosificación de la vitamina K_3 y describir el efecto de la menadiona sobre el conteo blanco y el recuento diferencial.

MATERIAL Y METODOS

Diseño Experimental

Se emplearon 160 ratas blancas de la cepa Wistar, de dos meses de edad y con pesos que oscilaban entre 160 y 180 g, adaptadas al ambiente de laboratorio durante una semana, como paso previo a las experiencias. Los animales disponían de agua y comida *ad libitum*, siendo el alimento Ratarina Protinal® suplementada con vitaminas y minerales (11).

Al finalizar este período de adaptación, los animales se distribuyeron al azar en los grupos experimentales y control que se describen a continuación, sin que hubiesen diferencias significativas entre los pesos de los diferentes

grupos.

Grupos I al IV - Hipervitaminosis K₃ aguda — Estos grupos estaban integrados por 20 animales cada uno, a los cuales se les inyectó diariamente 1 ml, vía intramuscular, de solución acuosa que contenían 8, 16, 26 y 30 mg de vitamina K₃ (Sigma: 2-metil-1-4-naftoquinona, sal de bisulfito sódico hidrosoluble)/kg de peso corporal, respectivamente, y por espacio de siete días (dosis total = 56, 112, 182 y 210 mg/kg de peso corporal para los grupos I al IV respectivamente).

Grupos IA al IVA - Grupos control — Constituidos igualmente por 20 animales cada uno. A éstos se les inyectó por la misma vía dosis correspondientemente iguales de bisulfito de sodio (Merck)/día/kg de peso corporal en solución acuosa, respectivamente.

Durante todo el período experimental, los animales recibieron el mismo tipo de alimentación y tuvieron libre acceso al agua de bebida. Las ratas se pesaron y se examinaron diariamente en busca de manifestaciones patológicas. Veinticuatro horas después de la última inyección de vitamina K₃ o de bisulfito de sodio, según los experimentos, los animales fueron anestesiados con éter etílico en campana de vidrio como paso previo a la extracción de la sangre por punción del seno retro-orbitario mediante tubos de microhematocrito. La sangre se recolectó en tubos de vidrio de 13 x 100 utilizándose como anticoagulante la mezcla doble de oxalatos (12). Las dosis de vitamina K₃ y de bisulfito inyectadas en estas experiencias fueron similares a las empleadas por Vásquez y Acosta (13).

Los estudios hematológicos incluyeron el recuento de glóbulos rojos, la valoración de la hemoglobina y del hematocrito, el recuento de reticulocitos y de eritroblastos, el conteo blanco y el recuento diferencial, así como el estudio del frotis sanguíneo (14-16). Simultáneamente se cuantificó la bilirrubina total y la fraccionada (16).

La concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM) se determinó de acuerdo con la siguiente fórmula (12): $CHCM = Hb (g/100 ml) \times 100 \times Ht (\%)^{-1}$. El número absoluto de células blancas se estimó a partir del recuento total de leucocitos, y del porcentaje según la fórmula (15): $No. absoluto de células = Recuento de leucocitos \times \% del tipo de célula \times 100^1$.

Se calcularon los valores promedio, las desviaciones y los errores tipo. El análisis estadístico se realizó mediante el análisis de varianza (ANAVA) de una vía y prueba de Tuckey para establecer las diferencias significativas entre los promedios.

RESULTADOS

Hallazgos Clínicos

La observación clínica más interesante fue la ictericia que se presentó en los animales tratados con 26 y 30 mg de menadiona/kg de peso/día. En las ratas de los grupos control no se detectó ningún tipo de alteración.

Frotis Sanguíneo

En los animales tratados con 8 mg de menadiona/kg peso/día se observó

en la serie roja ligera anisocitosis y poiquilocitosis, así como también la presencia de microcitos y macrocitos. Se constató la presencia de eritrocitos crenados y, en ciertos casos, algunos de ellos con policromasia. Los glóbulos blancos, al igual que las plaquetas, eran morfológica y cuantitativamente normales. Con 16 mg de menadiona se observó en la serie roja moderada hipocromia con ligera anisocitosis y poiquilocitosis y predominio de crenados. Se detectaron macrocitos, microcitos y algunos estomatocitos. Se notaron glóbulos rojos con policromasia y, como detalle curioso, la presencia de eritroblastos. En relación con los leucocitos, éstos en general son morfológicamente normales, con gránulos azurófilos en escasos linfocitos y en mayor número por mm^3 . Las plaquetas aparentemente normales en forma y en número. Con 26 mg de menadiona/kg peso/día la serie roja acusó como característica más notable, juntamente con lo previamente descrito, un notorio incremento de los eritroblastos. Los leucocitos morfológicamente normales se mostraron aumentados en sus valores. Las plaquetas alargadas, fusiformes, aunque en cantidades aparentemente normales. Con 30 mg de menadiona, además de lo ya indicado, aumenta la hipocromia y la microcitosis, aparecen algunos esferocitos y se acentúa el número de eritroblastos. Se observaron, además, abundantes plaquetas fusiformes y leucocitos morfológicamente normales, aunque en número muy incrementado, y linfocitos con gránulos azurófilos. Los animales control, tratados con bisulfito de sodio a las dosis mencionadas, prácticamente no mostraron modificaciones en el frotis sanguíneo.

Serie Roja

Las Tablas 1 y 2 muestran el efecto de la vitamina K y del bisulfito sobre el conteo de glóbulos rojos, de reticulocitos y de eritroblastos, y sobre las concentraciones de la hemoglobina, el hematocrito y la concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM). Al estudiar estas Tablas se aprecia que la vitamina K_3 , a las dosis inyectadas, disminuye significativamente el conteo de glóbulos rojos ($F = 224.74$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), la concentración de la hemoglobina ($F = 339.19$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), el valor del hematocrito ($F = 503.35$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) y la CHCM ($F = 177.25$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) al mismo tiempo que aumenta significativamente ($P < 0.001$) el conteo de reticulocitos ($F = 1,131.18$; $GL: 3/76$). Además, la menadiona a las dosis de 26 y 30 mg aumenta significativamente ($P < 0.001$) el número de eritroblastos circulantes. El bisulfito, por su parte, no modifica significativamente estos parámetros, como lo demuestra el análisis estadístico efectuado.

La concentración de bilirrubina total (Tabla 3) también incrementó significativamente ($F = 11.97$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) a expensas fundamentalmente de la no conjugada ($P < 0.001$). Sin embargo, se puede notar un incremento significativo ($P < 0.001$) en menor grado, de la bilirrubina conjugada. El bisulfito no modificó significativamente los niveles séricos de la bilirrubina.

Serie Blanca

En lo que respecta a la serie blanca (Tabla 4), se observa que la vitamina K_3 aumenta significativamente el número de leucocitos circulantes

TABLA 1

EFFECTO DE LA VITAMINA K , (MENADIONA) Y DEL BISULFITO SOBRE EL RECUENTO DE GLOBULOS ROJOS ¹, DE RETICULOCITOS ² Y DE ERITROBLASTOS ¹

| Variable | Grupos | Dosis ³ | | | | P ⁴ |
|---------------|---------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------|
| | | 8 | 16 | 26 | 30 | |
| Contaje rojo | Tratado | 7940000 ± 608 ⁵ | 5125000 ± 7925 ⁵ | 3990000 ± 899 ⁵ | 2030000 ± 792 ⁵ | < 0.001 |
| | Control | 8605000 ± 348 | 7805000 ± 666 | 7855000 ± 371 | 7345000 ± 268 | NS |
| Reticulocitos | Tratado | 2.47 ± 0.13 | 2.94 ± 0.12 ⁵ | 15.45 ± 0.21 ⁵ | 18.15 ± 0.41 ⁵ | < 0.001 |
| | Control | 2.33 ± 0.08 | 2.34 ± 0.07 | 2.35 ± 0.11 | 2.50 ± 0.15 | NS |
| Eritroblastos | Tratado | 0 | 12 | 100 | 111 | < 0.001 |
| | Control | 0 | 0 | 0 | 0 | NS |

1 Número de células por mm³ (promedio ± DE).

2 Expresado en % (promedio ± DE).

3 mg/kg de peso corporal/día.

4 Análisis de varianza entre los diferentes promedios; NS = No significativo.

5 P < 0.05 al comparar ambos grupos.

TABLA 2

EFEECTO DE LA VITAMINA K₃ Y DEL BISULFITO SOBRE LA CONCENTRACION SANGUINEA DE LA HEMOGLOBINA¹, EL HEMATOCRITO² Y LA CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA³ (CHCM)

| Variable | Grupos | Dosis ⁴ | | | | P ⁵ |
|-------------|----------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| | | 8 | 16 | 26 | 30 | |
| Hemoglobina | Tratado ⁶ | 14.20 ± 0.76 | 8.55 ± 1.30 | 6.35 ± 0.94 | 4.80 ± 0.98 | < 0.001 |
| | Control | 15.35 ± 0.89 | 15.20 ± 0.64 | 15.05 ± 0.89 | 15.90 ± 0.80 | NS |
| Hematocrito | Tratado ⁶ | 43.85 ± 1.30 | 29.25 ± 3.44 | 22.95 ± 1.88 | 17.35 ± 1.93 | < 0.001 |
| | Control | 48.30 ± 1.12 | 48.30 ± 1.34 | 46.55 ± 1.35 | 48.95 ± 1.81 | NS |
| CHCM | Tratado ⁶ | 31.45 ± 1.81 | 29.25 ± 1.32 | 26.20 ± 1.93 | 20.60 ± 2.05 | < 0.001 |
| | Control | 33.45 ± 1.48 | 33.80 ± 1.33 | 32.95 ± 1.34 | 33.10 ± 0.98 | NS |

1 g 100 ml⁻¹ (promedio ± DE).

2 % (promedio ± DE).

3 µg (promedio ± DE).

4 mg/kg de peso corporal/día.

5 Análisis de varianza entre los diferentes promedios; NS = No significativo.

6 P < 0.05, estadísticamente significativo al comparar el grupo tratado contra el grupo testigo.

TABLA 3

**EFFECTO DE LA VITAMINA K₃ Y DEL BISULFITO SOBRE LA BILIRRUBINA TOTAL (BT)¹,
LA BILIRRUBINA INDIRECTA (BI)¹ Y LA BILIRRUBINA DIRECTA (BD)¹**

| Variable | Grupos | Dosis ² | | | | P ³ |
|----------|----------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| | | 8 | 16 | 26 | 30 | |
| BT | Tratado ⁴ | 1.14 ± 0.09 | 1.56 ± 0.09 | 1.96 ± 0.01 | 2.41 ± 0.09 | < 0.001 |
| | Control | 0.46 ± 0.04 | 0.54 ± 0.08 | 0.56 ± 0.01 | 0.57 ± 0.01 | NS |
| BI | Tratado ⁴ | 0.87 ± 0.04 | 1.26 ± 0.05 | 1.56 ± 0.08 | 1.96 ± 0.06 | < 0.001 |
| | Control | 0.81 ± 0.03 | 0.39 ± 0.01 | 0.38 ± 0.03 | 0.38 ± 0.04 | NS |
| BD | Tratado ⁴ | 0.27 ± 0.09 | 0.03 ± 0.08 | 0.40 ± 0.05 | 0.45 ± 0.02 | < 0.001 |
| | Control | 0.10 ± 0.01 | 0.15 ± 0.02 | 0.18 ± 0.02 | 0.19 ± 0.01 | NS |

1 mg/dl (promedio ± DE).

2 mg/kg de peso corporal/día.

3 Análisis de varianza entre los diferentes promedios; NS = No significativo.

4 P < 0.05, estadísticamente significativo al comparar tratados vs. controles.

TABLA 4

EFECTO DE LA VITAMINA K , Y DEL BISULFITO SOBRE EL CONTAJE BLANCO ¹ Y EL RECUENTO DIFERENCIAL ¹

| Variable | Grupos | Dosis ² | | | | p ³ |
|----------------|----------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| | | 8 | 16 | 26 | 30 | |
| Contaje blanco | Tratado ⁴ | 15233 ± 1431 | 22350 ± 4463 | 30318 ± 3036 | 34465 ± 2952 | < 0.001 |
| | Control | 13401 ± 1806 | 13475 ± 2593 | 14100 ± 2490 | 14050 ± 1811 | NS |
| Linfocitos | Tratado ⁴ | 12341 ± 1717 | 18178 ± 3680 | 24449 ± 2929 | 25685 ± 2321 | < 0.001 |
| | Control | 10591 ± 1328 | 10819 ± 2100 | 11326 ± 1882 | 11244 ± 1377 | NS |
| Neutrófilos | Tratado ⁴ | 2603 ± 321 | 3858 ± 907 | 5484 ± 854 | 8326 ± 1194 | < 0.001 |
| | Control | 2244 ± 335 | 2299 ± 568 | 2414 ± 546 | 2455 ± 367 | NS |
| Eosinófilos | Tratado ⁴ | 195 ± 33 | 232 ± 44 | 283 ± 40 | 344 ± 66 | < 0.001 |
| | Control | 250 ± 28 | 174 ± 53 | 162 ± 13 | 124 ± 33 | < 0.001 |
| Monocitos | Tratado ⁴ | 66 ± 14 | 101 ± 35 | 153 ± 51 | 271 ± 38 | < 0.001 |
| | Control | 56 ± 17 | 52 ± 9 | 57 ± 23 | 63 ± 16 | < 0.001 |
| Basófilos | Tratado ⁴ | 72 ± 6 | 101 ± 26 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | < 0.001 |
| | Control | 134 ± 52 | 68 ± 8 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | < 0.001 |

1 Número de células por mm³ (promedio ± DE).

2 mg/kg de peso corporal/día.

3 Análisis de varianza entre los promedios de los diferentes grupos; NS = No significativo.

4 P < 0.05, estadísticamente significativo al comparar tratados vs. controles.

($F = 146.29$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), de neutrófilos ($F = 158.64$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), de eosinófilos ($F = 208.00$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), de linfocitos ($F = 480.18$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) y de monocitos ($F = 66.00$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) y disminuye la cantidad de basófilos ($F = 73.00$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$), especialmente con 26 y 30 mg de menadiona/kg/día. En cuanto al bisulfito, el análisis de esta Tabla 4 permite señalar que dicho compuesto no tiene efectos significativos sobre estas variables, con excepción de los basófilos ($F = 88.00$; $GL: 3/76$; $P < 0.001$) los que disminuyen con la dosis de 26 y 30 mg/kg/día, tal como sucede con la vitamina K_3 . En todos los casos, el análisis estadístico reveló que el efecto de la vitamina K_3 sobre estas variables hematológicas siempre es proporcional a las dosis administradas.

DISCUSION

Los valores hematológicos y de química sanguínea obtenidos en las series control, con algunas diferencias no significativas, fueron similares a los ya publicados (17); tales diferencias, sin duda, fueron debidas al bisulfito administrado. La vitamina K_3 , a las dosis inyectadas, disminuyó significativamente el conteo globular rojo, la concentración de la hemoglobina y el valor del hematocrito con la aparición de una marcada anemia, confirmando los hallazgos previos de diversos investigadores (5, 8, 18). La anemia que ha sido considerada como un signo típico de sobredosificación por menadiona en el perro, en la rata y en el conejo (5), y determinada en parte por las extravasaciones sanguíneas (hemorragias focales) detectadas en diversos órganos (3, 7) y en especial por la hemólisis brusca de los glóbulos rojos inducida por la menadiona y sus derivados sintéticos hidrosolubles (6, 8, 10, 13, 18). El notorio incremento en el número de eritroblastos y en el recuento de reticulocitos circulantes indica una respuesta eritropoyética muy buena como mecanismo compensador para la anemia existente, aun cuando diversos investigadores (19, 20) demostraron en recién nacidos humanos que la respuesta de los reticulocitos no es influenciada ni por la administración intramuscular de la menadiona ni por sus derivados hidrosolubles.

Las alteraciones en el frotis sanguíneo de los animales tratados con la vitamina K_3 fueron muy interesantes, pues la policromasia (12), al igual que las variaciones en la forma y tamaño de los eritrocitos (14), son típicas de las anemias hemolíticas, siendo éstas más abundantes en los casos más graves. Los resultados obtenidos del estudio del frotis sanguíneo, más los señalados previamente, permiten concluir que la anemia inducida por la vitamina K_3 es microcítica hipocrómica, parecida a las que se describe en los casos de carencia de hierro (14). En relación a este punto, estudios previos realizados en nuestro Departamento, demuestran que la hipervitaminosis K_3 se acompaña de cambios en la distribución tisular del hierro (3).

La ictericia producida por la administración de la vitamina K_3 , expresión clínica del incremento sérico de la bilirrubina total a expensas fundamentalmente del pigmento indirecto o no conjugado, también ha sido descrita en la literatura (7, 10, 13, 18, 20).

Serie Blanca. Contaje Blanco y Recuento Diferencial

La vitamina K_3 , de acuerdo a nuestros resultados, también determinó un notorio incremento en el recuento de glóbulos blancos y modificó de manera sustancial el recuento diferencial, en contraposición con los hallazgos de Richards y Shapiro (6) quienes, en perros, ratones y conejos, sometidos a experimentos de toxicidad crónica con menadiona, no pudieron observar cambios significativos en el número de leucocitos durante y después de la inyección de menadiona. En el humano, dosis elevadas de vitamina K_3 administradas diariamente durante una semana tampoco modifican significativamente la fórmula blanca (1, 2, 6).

Las modificaciones en el recuento globular blanco y en el recuento diferencial encontradas, pueden estar determinadas por la misma vitamina K_3 , por un mecanismo que deberá ser estudiado posteriormente, o bien indirectamente, por los trastornos inducidos por ella como son las hemorragias focales en los diversos órganos, la necrosis hepática (3, 7, 8) y la súbita hemólisis de los glóbulos rojos (10, 18), (más la hipoxia secundaria a la misma) ya que éstos por sí solos son capaces de producir leucocitos, neutrofilia, monocitosis, linfocitosis y basofilia (12, 14, 15, 21, 22). En el frotis sanguíneo ocasionalmente se pudo notar la presencia de linfocitos con gránulos azurófilos e incremento en su citoplasma, lo que parece corresponder con la opinión de Dougherty y Frank (23): "Como una respuesta al stress, en este caso oxidativo (24), pueden aparecer linfocitos que se caracterizan por deformaciones nucleares y una mayor cantidad de citoplasma del que se manifiesta en estas células en condiciones normales". Los monocitos también incrementan su valor absoluto con la vitamina K_3 , lo que indica cierto grado de reacción del sistema retículoentotelial (21), o bien alteraciones en el metabolismo de los lípidos (12). Recientemente, en nuestro grupo de investigación se ha demostrado que la hipovitaminosis K_3 determina marcadas alteraciones en las diversas fracciones lipídicas del suero de ratas (9). Por su parte, el incremento inicial en el número de basófilos podría estar asociado con la hipoxia presente, secundaria a la hiperhemólisis, y a la destrucción tisular (12, 14, 21, 22). Para la disminución posterior con las dosis mayores de la menadiona no tenemos explicación satisfactoria; quizás pudiese ser un efecto directo de la vitamina y/o del bisulfito. El incremento en los nutrofilos inducido por el bisulfito puede representar el efecto de una sustancia tóxica o potencialmente tóxica (25) administrado al organismo (21, 22).

También se ha publicado que la vitamina K tiene drásticos efectos sobre la función de los neutrófilos (26). En los neutrófilos humanos, por ejemplo, las vitaminas K_3 y K_5 inhiben algunas de sus propiedades fundamentales como son: la migración, la locomoción, su capacidad fagocitaria, la degradación de los constituyentes lisosomales, la actividad bactericida, la generación de radicales superóxido y la producción de peróxido de hidrógeno (27).

En conclusión, la vitamina K_3 a las dosis administradas produce marcadas alteraciones hematológicas, entre ellas la aparición de una anemia hemolítica de tipo microcítico hipocrómico, y modificaciones del contaje leucocitario. Estos cambios serán objeto de estudios posteriores a fin de esclarecer las causas y/o los mecanismos que producen esa alteración de las células.

SUMMARY

HEMATOLOGICAL ALTERATIONS IN RATS TREATED WITH HIGH DOSES OF VITAMIN K₃ (MENADIONE)

The present study describes the effect of high doses of vitamin K₃ (8-30 mg/kg) administered daily by intramuscular injection during seven days; on blood smear, red blood cells (RBC) and concentration of hemoglobin (Hb) counts, value of hematocrit (Ht), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), reticulocyte and erythroblast counts, total and differential counting of leukocytes (WBC) and total and fractionated serum bilirubin concentration of albino male rats. Results were then compared with findings in normal rats treated with the same doses of sodium bisulfite. In animals treated with vitamin K₃, a statistically significant decrease in the number of erythrocytes and in the concentration of Hb, Ht and MCHC was found together with a concomitant increase of erythroblast and reticulocyte counting. In regard to the blood smear, it was observed that erythrocytes vary in their hemoglobin content, size, shape and in their staining properties (polychromatophilia) where as the leukocytes were found to be morphologically normal, but in an increased number. Lymphocytes occasionally showed azurophil granules. Platelets assumed irregular shape and in normal amounts. The leukocytes count showed leukocytosis with marked neutrophilia, eosinophilia, lymphocytosis and monocytosis. Also, the presence of clinical jaundice with an increase of the serum "indirectly-reacting" bilirubin was also observed.

These findings indicate that hypervitaminosis K₃ induces a marked hemolytic microcytic hypochromic anemia and changes in the white blood cells count. Further studies will be pursued in order to obtain a better understanding of the causes and/or the mechanisms that induce these alterations in the blood cells.

BIBLIOGRAFIA

1. Unger, P.N. & S. Shapiro. Prothrombin response to the parenteral administration of large doses of vitamin K in subjects with normal liver function and in cases of liver disease: Standardized test for the estimation of hepatic function. *J. Clin. Invest.*, **27**: 39-47, 1948.
2. Smith, A.M., Jr. & R.P. Custer. Toxicity of vitamin K. Induced hypoprothrombinemia and altered liver function. *JAMA*, **173**: 502-504, 1960.
3. Alarcón, O.M., E. Rodríguez de Castro, J.L. Burguera & M. Burguera. Efecto de la vitamina K₃ (menadiona) sobre el contenido hepático de electrolitos. *Acta Cient. Venezolana*, **36**: 232-236, 1985.
4. Rivera, G.E. *Hipervitaminosis K Aguda en Ratas*. Tesis de ascenso a Profesor Titular, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 1980.
5. Molitor, H. & H.J. Robinson. Oral and parenteral toxicity of vitamin K₁, phticol and 2-methyl-1, 4-naphthoquinone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **43**: 125-128, 1940.
6. Richards, R.K. & S. Shapiro. Experimental and clinical studies on the action of high doses of Hykione and other menadione derivatives. *J. Pharmacol. Expt. Ther.*, **84**: 93-108, 1945.
7. Shimkin, M.B. Toxicity of naphthoquinones with vitamin K activity in mice. *J. Pharmacol. Expt. Ther.*, **71**: 210-214, 1941.
8. Smith, J.J., A.C. Ivy & R.H.K. Foster. Pharmacology of two water-soluble vitamin K-like substances. *J. Lab. Clin. Med.*, **28**: 1,667-1,680, 1943.

9. Carrillo de Quintero, C. **Alteraciones de la Química Sanguínea en Ratas Intoxicadas con Vitamina K₃ (menadiona)**. Tesis de ascenso a Profesor Asistente, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 1988.
10. Allison, A.C. Danger of vitamin K to newborn. *Lancet*, 1: 669-670, 1955.
11. Griminger, P. Nutritional requirements for vitamin K. Animal studies. In: **The Biochemistry, Assay and Nutritional Value of Vitamin K**. Chicago, Chemists, 1971, p. 39-59.
12. Wintrobe, M.M. **Hematología Clínica**. 3a. ed. Buenos Aires, Editorial Interamericana, 1966, p. 173-226.
13. Vásquez, R.F. & P.A. Acosta. **Alteraciones Hematológicas en la Hipervitaminosis K Aguda Experimental en Ratas**. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela, 1981.
14. Davidson, I. & J.B. Henry. **Todd-Sanford: Diagnóstico Clínico por el Laboratorio**. 5a. ed. Barcelona, Salvat, 1977, p. 117-316.
15. Henry, J.B. **Todd-Sanford: Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. 16a. ed., Vol. 1. Philadelphia, Saunders, 1979, p. 858-1,057.
16. Weast, R.C., W.R. Faulkner & J.W. King. **CRC-Manual of Clinical Laboratory Procedures**. Cleveland, Ohio, The Chemical Rubber Co., 1970, p. 153-169.
17. Altman, P.L. & D.S. Dittmer. **Blood and other Body Fluids. Biological Handbook**. Washington, D.C., Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961.
18. Beamish, R.E. & V.M. Storrie. Severe haemolytic reaction following intravenous administration of emulsified vitamin K1 (mephyton). *Can. Med. Ass. J.*, 74: 149-152, 1956.
19. Zinkham, W.H. Peripheral blood and bilirubin values in normal full-term primaquine-sensitive Negro infants: Effects of vitamin K. *Pediatrics*, 31: 983-995, 1963.
20. Asteriadou-Samartzis, E. & S. Leikin. The relation of vitamin K to hyper-bilirubinemia. *Pediatrics*, 21: 397-402, 1958.
21. Balcels, G.A. **La Clínica y El Laboratorio**. 11ava. ed. Barcelona, Editorial Marín, 1978, p. 138-187.
22. Finch, S.C. Granulocitosis. En: **Hematología**. J.B. Williams, E. Beutler, A.J. Erslev y R.W. Rundless (Eds.). 2a. ed., Tomo I. Barcelona, Salvat S.A., 1983, p. 794-801.
23. Dougherty, T.F. & J.A. Frank. The quantitative and qualitative responses of blood lymphocytes to stress stimuli. *J. Lab. Clin. Med.*; 42: 530-538, 1953.
24. Thor, H., T.S. Smith, P. Hartrell, B. Bellomo & S.A. Jewett. The metabolism of menadione (2-methyl-1, 4-naphthoquinone) by isolated hepatocytes. *J. Biol. Chem.*, 257: 12,419-12,425, 1982.
25. Perrin-Ansart, M.C. & Th. Hanh. Sur les sulfites employés comme conservateurs. *Cab. Nutr. Diét.*, 23: 291-297, 1989.
26. Wooding, A.M. & A.A. Wieneke. The modification of the cytotoxic effect of leukocidin by N-ethymyleimide, flavine mononucleotide and menadione. *Biochem. J.*, 99: 469-475, 1966.
27. Gallin, J.I., B.E. Seligman, E.B. Cramer, E. Schiffman & M.P. Fletcher. Effects of vitamin K on human neutrophil function. *J. Immunol.*, 128: 1,399-1,408, 1982.