



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE  
CIENCIAS  
QUÍMICAS

BIBLIOTECA CENTRAL

Establecimiento de los Valores Normales  
en la Determinación de Hierro en Sangre  
Total y en Plasma en la Ciudad de Querétaro.

T E S I S

QUE PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE  
Químico Biólogo

P R E S E N T A N  
Ma. Eugenia Jiménez Benoit.  
José Alejandro Carbajo Merino.

J50112

ENERO 1978



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

---

FACULTAD DE  
C I E N C I A S  
Q U I M I C A S

**Establecimiento de los Valores Normales  
en la Determinación de Hierro en Sangre  
Total y en Plasma en la Ciudad de Querétaro.**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE  
Químico Biólogo

**P R E S E N T A N**  
Ma. Eugenia Jiménez Benoit.  
José Alejandro Carbajo Merino.

ENERO 1978

SEÑOR:

QUE CON TU GENEROSA AYUDA  
SIN MEREERLO, NOS FUE PO  
SIBLE LLEGAR A ESTA META  
DESEADA,

A TI:

G R A C I A S

MA. EUGENIA Y JOSE ALEJANDRO

A MI MADRE:

QUIEN CON SU INQUEBRANTABLE  
ESFUERZO, ABNEGACION Y AMOR,  
ALENTO MIS ANHELOS E HIZO -  
POSIBLE LA REALIZACION DE  
MIS ESTUDIOS.

MA. EUGENIA

A MIS HERMANOS:

POR SU APOYO Y ESTIMULO  
DURANTE TODA MI CARRERA

MA. EUGENIA

A MI ESPOSO:

A MANERA DE DEDICATORIA,  
TE ENTREGO LA PROMESA -  
ETERNA DE MI CARÍÑO.

MA. EUGENIA

CON TODO CARIÑO Y AMOR QUE  
LES PROFESO, DEDICO ESTE -  
TRABAJO A DOS SERES, QUE -  
NI CON LA VIDA MISMA, PAGA  
RIA SU COMPRESION Y APOYO,  
EJEMPLO Y SACRIFICIO BRIN-  
DADO PARA SER LO QUE AHORA  
SOY:

A MIS PADRES

JOSE ALEJANDRO

A MIS QUERIDOS HERMANOS:  
POR LA CONFIANZA Y EL ES  
TIMULO QUE ME BRINDARON.

JOSE ALEJANDRO

V

A MI ESPOSA:

MA. EUGENIA JIMENEZ DE CARBAJO,  
POR SU APOYO Y CONSEJOS BRINDA-  
DOS EN LOS MOMENTOS MAS DIFICI-  
LES, QUE ME SIRVIERON DE ALIEN-  
TO PARA SEGUIR ADELANTE.

TE QUIERE,

JOSE ALEJANDRO

A LA Q.F.B.:

MA. CONCEPCION GARCIA DE PEREZ  
POR SU VALIOSA COOPERACION Y -  
ACERTADA ORIENTACION EN LA ELA  
BORACION DE ESTE TRABAJO.

MA. EUGENIA Y JOSE ALEJANDRO

AL PERSONAL DEL LABORATORIO  
DEL ISSSTE Y DEL HOSPITAL  
CIVIL, POR SU DES-  
INTERESADA COLABORACION.

A NUESTROS MAESTROS:  
POR TRANSMITIRNOS -  
SUS CONOCIMIENTOS Y  
EXPERIENCIAS.

A TODOS NUESTROS COMPAÑEROS,  
QUE EN DIVERSAS  
FORMAS NOS HAN AYUDADO

C O N T E N I D O

---

---

## I N D I C E

	PAG
I.- INTRODUCCION	
A) Forma en que se realizó la presente Tesis . . . . .	1- 2
II.- GENERALIDADES	
A) Lugares del hierro en el organismo . . . . .	3- 4
B) Alimentos en los que se encuentra el hierro . . . . .	5
III.- METABOLISMO DEL HIERRO	
A) Absorción . . . . .	6-13
B) Transferrina y transporte de hierro . . . . .	14-24
C) Almacenamiento . . . . .	25-29
D) Excreción . . . . .	30-33
IV.- PRINCIPALES CAUSAS PATOLOGICAS DEL HIERRO EN EL ORGANISMO	
A) Principales causas patológicas . . . . .	34-44
B) Manifestaciones Clínicas . . . . .	44-54
C) Tratamiento . . . . .	54-56
V.- METODOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACION DE HIERRO	
A) Hierro total en sangre total . . . . .	57-63
B) Hierro en plasma o suero . . . . .	63-70
VI.- RESULTADOS Y CONCLUSIONES . . . . .	71-76
VII.- BIBLIOGRAFIA . . . . .	77-78

## INDICE DE FIGURAS

	PAG
FIG. 1.- Modelo propuestado de la absorción del hierro . . . . .	13
FIG. 2.- Relaciones entre la trans ferrina y el hierro plasmático en estado de enfermedad. . . . .	21
FIG. 3.- Metabolismo del hierro . . . . .	33
FIG. 4.- Curva de calibración para la determinación de hierro total en sangre total . . . . .	69
FIG. 5.- Curva de calibración para la determinación de hierro en plasma . . . . .	70
FIG. 6.- Valores promedio obtenidos de hierro en sangre total para las diferentes edades en varones . . . . .	75
FIG. 7.- Valores promedio obtenidos de hierro en sangre total para diferentes edades en mujeres . . . . .	76

## CAPITULO I

## I N T R O D U C C I O N

## A) FORMA EN QUE SE REALIZO LA PRESENTE TESIS Y SU OBJETIVO

El hierro es un elemento esencial en importantes procesos fisiológicos del cuerpo, se combina con un grupo tetrapirrólico llamado protoporfirina para formar grupos HEM, que son los grupos prostéticos de la hemoglobina, y de diversas proteínas tales como las enzimas: Catalasa, citocromo y peroxidasa.

Como el hierro desempeña un papel esencial en el funcionamiento de la hemoglobina, son necesarios algunos conocimientos del metabolismo ferruginoso para comprender y tratar adecuadamente muchos de los problemas que la anemia plantea en la práctica clínica. (5)

Unos de los principales objetos de realizar el presente estudio, es dar un valor más real de los valores de hierro en el organismo en la ciudad de Querétaro a una altura de 1850 m sobre el nivel del mar, ya que los valores que se dan de hierro en el organismo en los libros de consulta en general para cualquier población, sin tomar en cuenta la altura en que se encuentra.

El presente estudio se realizó en una fracción representativa de personas de diferentes edades en la ciudad, comprendidas entre uno y 70 años de edad, con un mínimo para personas mayores de 2 años de residir en la ciudad y con un mínimo de un año sin haber donado sangre. (12)

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

#### A) LUGARES DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

El organismo del adulto normal, contiene en forma aproximada, un total de 4 g de hierro con cifras límites - de 2.6 g, según el peso corporal y la cantidad de hemoglobina.

Apenas una minúscula proporción de este hierro, se encuentra en forma de iones ferrosos libres. Estos iones, junto con el hierro circulante en el plasma, que existe unido a una seroglobulina B (Transferrina), -- constituye menos del 0.1% del hierro total del organismo. El resto está ligado a un anillo de porfirina como parte de la hemoglobina sanguínea o muscular o como una de las enzimas del Hem, o bien se separa como hierro de depósito. Las formas de depósito del hierro-ferritina y hemosiderina, constituyen en condiciones normales cerca del 30% del hierro corporal y se hayan como unidades de hidróxido férrico. En el hombre, el hierro de depósito total disponible para la formación de sangre es de 1.2 a 1.5 g.

COMPOSICION APROXIMADA DE LOS COMPUESTOS QUE CONTIENEN  
HIERRO EN EL SER HUMANO (HOMBRE DE 70 KG)

COMPUESTO	CANTIDAD TOTAL g.	CANTIDAD DE Fe	% DE Fe TOTAL
<u>COMPUESTOS DE FERRO</u>			
PORFIRINA (HEM):			
Hemoglobina sanguínea	800.0	2.67	66.7
Hemoglobina Muscular (mioglobina)	40.0	0.14	3.3
ENZIMAS DE HEM			
Citocromo C	0.8	0.0034	0.08
Catalaza	5.0	0.0045	0.11
Citocromos a <sub>1</sub> a <sub>3</sub> b	-----	-----	-----
Peroxidasa	-----	-----	-----
COMPUESTOS QUE NO SON DEL HEM:			
Transferrina (sidero- filina)	7.5	0.003	0.07
Ferritina	3.0	0.7-1.5	-----
Hemosiderina	-----	-----	-----
Depósitos totales de hierro disponible	-----	1.2-1.5	30.00
Hierro total	-----	4.00	100.00

B) ALIMENTOS EN LOS QUE SE ENCUENTRA EL HIERRO:

El hierro forma parte de la alimentación ordinaria, ya que está presente en la yema del huevo, en las carnes rojas, en el hígado, en los riñones, en verduras como la espinaca; en las leguminosas como el frijol, o en gramíneas como la avena y el trigo y en algunas frutas. Su total en la dieta diaria, es aproximadamente de 10 a 20 mg y la mayor parte se encuentra en forma de compuestos orgánicos férricos y de hidróxido, también férrico. (1,16)

El hierro también se encuentra en la leche, como también en los suplementos que se agregan a los preparados comerciales de cereales para lactantes. El hierro añadido al pan como parte del programa de fortificación de los alimentos, es una importante fuente de hierro en la nutrición humana. Otras fuentes de hierro aparte del que contienen los alimentos, son los líquidos como la cerveza y el vino.

El hierro puede agregarse o perderse durante la preparación de los alimentos, los utensilios de hierro utilizados en la cocina, proporcionan considerables cantidades de hierro. (16)

## CAPITULO III

## METABOLISMO DEL HIERRO

## A) ABSORCION:

El total de los individuos normales, absorben del 10 al 14% del hierro contenido en la dieta. Los sujetos que presentan deficiencia de hierro, absorben el hie rro de los alimentos con mayor eficiencia que los su jetos normales. Se calcula que el aporte diario medio de hierro, es de 10 a 30 mg por día para la gama de - variaciones en distintas partes del mundo y en diver- sas circunstancias, es mucho mayor que la consignada (10).

El hierro en los alimentos de origen animal y vegetal se haya conjugado, de modo principal, en estado férri co, en gran parte como hidróxido férrico y como hie - rro láxamente unido a moléculas orgánicas como citra - tos, lactatos y aminoácidos, no obstante los iones fe rrosos se absorben con mayor facilidad que la forma - trivalente.

El hierro forma con facilidad compuestos insolubles - con diversos constituyentes de la dieta, sobre todo en un medio que no es fuertemente ácido. Los fosfatos

que existen en diversos cereales, figuran en este tipo de compuestos, los fosfatos de hierro son casi insolubles, y en consecuencia, una dieta con alto contenido de fósforo podría obstaculizar la absorción del hierro si no existen otros factores que contrarresten esta tendencia.

Los huevos son una fuente de hierro relativamente pobre, porque el hierro férrico que contienen se halla en forma de un fuerte complejo con el fosfato de las fosproteínas de la yema. Las dietas ricas en calcio, reducen la formación de fosfato de hierro insoluble, pero el exceso de calcio inhibe la asimilación del hierro.

El hierro de la hemoglobina se asimila bastante bien. Este hierro se absorbe como complejo porfirínico, sin que se convierta en la forma ionizada libre.

Se comprobó que del 11 a 14% de hierro de la espinaca, y de la dieta mixta se absorbe, y lo mismo sucede con el 21% del hierro de la carne de vaca. Se halló que la asimilación de hierro, es mejor en los niños que en los adultos. (17)

El agregado de ácido ascórbico aumenta la asimilación

de hierro de los alimentos. Esta influencia del ácido ascórbico, es posiblemente porque reduce el hierro férrico de los alimentos a la forma ferrosa. (16,4)

Durante la digestión, el ácido clorhídrico al contrarrestar el efecto alcalinizante del jugo pancreático y la bilis, mantiene en el duodeno un PH vecino de 6.0, para este valor el hierro suele permanecer en estado ferroso ( $Fe^{++}$ ), y no forma complejos, por lo tanto, se absorbe más fácilmente. Todavía no se ha establecido si el pancreas ejerce otros efectos sobre la absorción de hierro. (6.18)

La mayor parte de absorción de hierro, tiene lugar en el duodeno y el yeyuno y muy poco en las partes distales. (9,11)

#### ABSORCION DE HIERRO

La cantidad de hierro absorbido después de la ingestión, depende de factores como cantidad y tipo de hierro presente en el intestino, presencia o ausencia de alimento en el tubo digestivo, índole del alimento, estado del hierro almacenado en el cuerpo, actividad de la médula ósea, secreción del páncreas y función de la mucosa intestinal.

Los principales factores que controlan o modifican la absorción del hierro desde el intestino son: Deficiencia del hierro, aumento de eritropoyesis, anoxia de las grandes alturas, e ingestión de grandes cantidades excesivas de hierro, todas originan un aumento en la absorción del metal, las reservas ferruginosas altas, la disminución de la eritropoyesis y el exceso de oxígeno, producen una disminución de la absorción. Desempeña un papel principal en la absorción, la célula mucosa del intestino delgado. Se han estudiado la concentración de hemoglobina, la de hierro sérico, la de transferrina insaturada en el plasma, y la tensión de oxígeno en la sangre, como posibles factores humorales que actuarán señalando la situación a la célula de la mucosa. (5)

#### REGULACION POR LA MUCOSA DE LA ABSORCION DE HIERRO

Las células epiteliales del extremo de las vellocidades de la mucosa del intestino, se esfacelan continuamente; son reemplazadas por otras células, que a su vez ceden su sitio a células más jóvenes formadas por mitosis en los estratos vecinos de la base de las vellocidades, o sea, en el fondo de la criptas. Los -

estudios experimentales hacen pensar que en el intestino delgado, las células de la mucosa se renuevan cada día y medio aproximadamente.

Con una alimentación normal, las células de la mucosa del intestino delgado, regulan la cantidad de hierro - que se absorbe. Las pruebas indican que la absorción de hierro por las células de la mucosa guarda relación inversa con su propio contenido de hierro ferroso almacenado en una forma bastante fija, quizá como ferritina. Este hierro fijo de la célula de la mucosa, varía muy poco en toda la vida de la célula. Cuando el organismo posee mucho hierro, este estado se traduce en la cifra de hierro plasmático; las células recién formadas de la mucosa, fijan pues una gran reserva de hierro férrico. Esto inhibe la absorción activa de hierro por estas células durante toda su vida.

Por otra parte, en caso de una importante pérdida de sangre, la mayor actividad eritropoyética de la médula roja, reduce de 4 a 5 días las reservas corporales de hierro, y baja el hierro plasmático. En consecuencia las células de la mucosa intestinal que se forman -- en este momento, reciben una cantidad de hierro fijo menor que la habitual, aumentando correspondientemen-

te su absorción de hierro de los alimentos. Esta mayor absorción continúa hasta que las reservas corporales se reconstituyen, y las células de la mucosa vuelven a tener una cantidad normal de hierro fijado.

De la misma manera, un aumento considerable de la ingestión de hierro con los alimentos, disminuye la absorción de este elemento en un plazo de uno o dos días

En este caso, las células de la mucosa absorben más hierro, por el mayor contenido de hierro de los alimentos; pero gran parte de este hierro absorbido, no llega al plasma, sino que se emplea en elevar las reservas de la célula en hierro fijo. frenando así la absorción de hierro por estas células durante el resto de su ciclo vital. Vemos pues, que la absorción de hierro está sometida a una autoinhibición. (2,9)

Para explicar la regulación de la absorción de hierro se ha propuesto la teoría de "Bloqueo de la mucosa", que atribuye un papel importante al mecanismo de la ferritina. Muchos experimentos indican que en la célula de la mucosa, hay un mecanismo para transportar el hierro a través de ella hacia el plasma, y un mecanismo para captar hierro en dicha célula. Aunque no se -

ha definido la importancia de la ferritina en estas -  
funciones, el modelo propuesto por Wheby, (fig. 1), -  
brinda un concepto útil acerca del funcionamiento de  
la célula de la mucosa. En caso de deficiencia ferru-  
ginosa, la célula permite el paso rápido del hierro -  
dietético a través de dicha célula hacia la circula -  
ción. Cuando hay trastornos del almacenamiento del -  
hierro, la célula resiste la absorción del hierro y  
no es completamente eficaz. Cuando hay sobrecarga de  
hierro, otras células como las epiteliales glandula -  
res y los micrófagos, también acumulan el metal, y su  
escamación ulterior aumenta la eliminación de hierro  
por el cuerpo. (2,5)

## CELULA DE LA MUCOSA

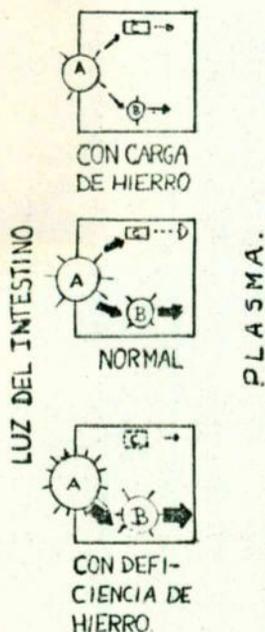


FIG. 1.- Modelo propuesto de la absorción de hierro. Cada cuadro representa una pequeña célula de la mucosa del intestino delgado. El estado del hierro corporal está indicado: A, representa el mecanismo de transporte activo para captación del metal por la mucosa desde la luz intestinal. B, representa el mecanismo de transporte activo para transferencia del hierro de la mucosa al plasma. C, representa el mecanismo para almacenamiento temporal del hierro. Las dimensiones de A y B ilustran las relativas intensidades de transporte. Tanto A como B guardan relación con las necesidades corporales de hierro, pero A siempre es mayor que B. El hierro se desplaza preferentemente de A a B y al plasma, pero según la cantidad de hierro disponible de A y la relación entre A y B, una parte variable de hierro transportado por A se desplaza a C para almacenamiento temporal. Según lo indicado en la flecha de puntos, en estado normal y en estado de sobrecarga de hierro la transferencia subsiguiente del hierro desde C

al plasma es muy lenta, y puede no producirse antes que la célula se esfuce. C está rodeada de puntos en la célula de la mucosa pobre en hierro para indicar que la eficiencia de B es tal que no puede producirse almacenamiento a menos que se utilicen grandes dosis de hierro. Dentro de ciertos límites, estos mecanismos de transporte y almacenamiento regulan la cantidad de hierro absorbido. (5).

## B) TRANSFERRINA Y TRANSPORTE DE HIERRO

El hierro no sólo ingresa en el plasma desde el intestino, sino que también proviene del desdoblamiento de la hemoglobina en el sistema reticuloendotelial, de los depósitos texturales de hierro y de las enzimas de los tejidos. Por medio del plasma el hierro llega a la médula ósea, donde se realiza la síntesis de la hemoglobina. En el adulto normal, ingresan y egresan del plasma unos 27 mg de hierro por día. De esta cantidad, cerca de 21 mg provienen en forma más o menos directa del catabolismo de los glóbulos rojos, pero el resto deriva sobre todo del hierro en depósito, y sólo llega un pequeño porcentaje del hierro ingerido con los alimentos.

El hierro es transportado por una proteína específica del plasma, la proteína fijadora de hierro o transferrina (siderofilina), que tiene la movilidad electroforética de la globulina B<sub>1</sub>. Mediante electroforesis en gel de almidón, se identificaron por lo menos 14 formas moleculares distintas de transferrina humana. El tipo C. que es el más común, tendría un peso molecular de 92,000; otros estudios arrojan un peso mole-

cular de 73,200 a 76,000. Cada molécula fija a dos átomos de hierro. El hierro está fijado en forma férrica y la reacción entre el hierro y la transferrina depende mucho del PH. (9,16,17)

La transferrina no sólo transporta hierro en el plasma también interviene en la transferencia de hierro desde el plasma a los eritrocitos que se están desarrollando Jandl y Katz han demostrado que la transferrina desempeña importante papel en la utilización de hierro por los normoblastos y reticulocitos en desarrollo, proceso que incluye la fijación de la molécula de transferrina a la membrana celular. El hierro, que está fijamente unido a la molécula de transferrina, es transportado al interior de la célula desde la transferrina unida a la membrana celular en el plazo de aproximadamente un minuto. El mecanismo necesita energía. El ritmo de penetración en la células eritroides del hierro unido a la transferrina, se modifica por varios factores. Uno probable es la edad de las células; las células más jóvenes tienen un número mayor de lugares de fijación para moléculas de transferrina que las células más viejas. Otro es la concentración de hierro uni

do a la transferrina en el medio ambiente, la captación aumenta cuando la concentración absoluta del complejo transferrina-hierro aumenta, y es más importante que su saturación relativa. Además, se ha supuesto que la cantidad de hem, en los reticulocitos, y probablemente en las células anteriores más jóvenes, también regula la penetración de hierro en las células por mecanismo de retroalimentación. Esta interpretación se confirma al observar que la captación de hierro radiactivo, disminuye en reticulocitos incubados con hem, y al comprobarse que las anemias sideroblásticas, donde está inhibida la síntesis de hem, se descubren cantidades exce-civas de hierro no hemoglobínico en los normoblastos y en los glóbulos rojos. La mayor parte del hierro, es -captado por los pronormoblastos y normoblastos basófi-los, menos por células nucleares más viejas, y una parte es fijada por los reticulocitos. (5)

La transferrina hace las veces de proteína de transporte porque intercambia átomos de hierro con los tejidos sin asimilarse a sí misma en cantidades apreciables. Está distribuída de modo casi uniforme en los compartimientos vascular y extravascular. Se halló que su tiem

po medio de desaparición en el plasma es de 8.8; días. La capacidad total del plasma para fijar hierro (C.T.F.H.) en el adulto normal es de 300 a 360 mg por 100 ml; es raro encontrar valores menores de 250 o mayores de 400 mg. No existen diferencias entre ambos sexos ni fluctuaciones diurnas. En el momento de nacer, las concentraciones son menores en el recién nacido que en la madre, pero después se observa un aumento gradual y progresivo. En el embarazo, la C.T.F.H. suele aumentar desde unos 400 mg por 100 ml en el quinto mes, hasta 500 mg en el octavo mes.

En condiciones normales, sólo alrededor de la tercera parte de la transferrina se satura con hierro. Hay una variación diurna en el hierro plasmático, pues de noche hay hipoferremia. Se halló que el contenido normal de hierro en el plasma, está comprendido entre 60 y 200 mg, con cifras medias de 125 mg por 100 ml en hombres adultos y 110 mg en mujeres adultas. Esta diferencia no se atribuye a una ligera deficiencia de hierro; la concentración de hierro plasmático se mantiene constante en las mujeres adolescentes, pero en los varones asciende hasta alcanzar los niveles del adulto. El con

tenido del hierro plasmático de la sangre del cordón -  
ubilical es elevado en el momento del parto (173 a 193  
mg por 100 ml) pero a las 12 horas, existe hipoferre -  
mia. La baja concentración persiste hasta los 3 ó 4 me  
ses de edad, y a partir de entonces, si el aporte de -  
hierro dietético es adecuado, se origina un lento in -  
cremento hasta llegar a los valores del adolescente y  
del adulto. (2)

El contenido de hierro plasmático está disminuído en -  
la deficiencia de hierro y en los estados en que dismi  
nuye la liberación del hierro que ingresa en el plasma  
sobre todo en las infecciones, en la artritis reumato -  
idea y en algunas afecciones malignas, como también en  
los períodos de eritropoyesis activa. Las concentra --  
ciones de hierro plasmático están aumentadas cuando -  
hay mayor destrucción de glóbulos rojos, menor forma -  
ción de sangre o mayor liberación de hierro a partir -  
de los depósitos del organismo. Así se observan nive -  
les aumentados en las anemias hemolíticas, en la ane -  
mia perniciosa no tratada y en las anemias hipoplásti -  
cas. En las anemias hemolíticas, el incremento se modi  
fica según la rapidez con que la médula ósea utiliza

el hierro para la elaboración de la sangre. Por lo tanto, es más probable que se encuentren concentraciones elevadas en las anemias hemolíticas donde la eritropoyesis es ineficaz, que en aquellas en que se forman eritrocitos viables. También se hallan niveles aumentados cuando la anemia hemolítica se acompaña de un bloqueo en la incorporación de hierro en el hem.

En las enfermedades hepáticas agudas, es común hallar elevada concentración de hierro plasmático, junto con una C.T.F.H. normal o aumentada. Se cree que esto es consecuencia de la liberación de hierro en las células hepáticas necróticas, y contrasta con los hallazgos comunes en la ictericia por obstrucción biliar extrahepática. En la siderosis trasfucional y en la hemocromatosis, el hierro plasmático está aumentado a menos que exista una infección o enfermedad neoplásica. La capacidad para fijar hierro, suele saturarse.

La C.T.F.H. aumenta cuando ocurre pérdida aguda o crónica de sangre, sobre todo si existe deficiencia de hierro. Como resultado, la saturación porcentual de transferrina con hierro, desciende a niveles del 15% ó menores cuando existe deficiencia de hierro, lo cual -

contrasta con los hallados en otras circunstancias.

(15,16)

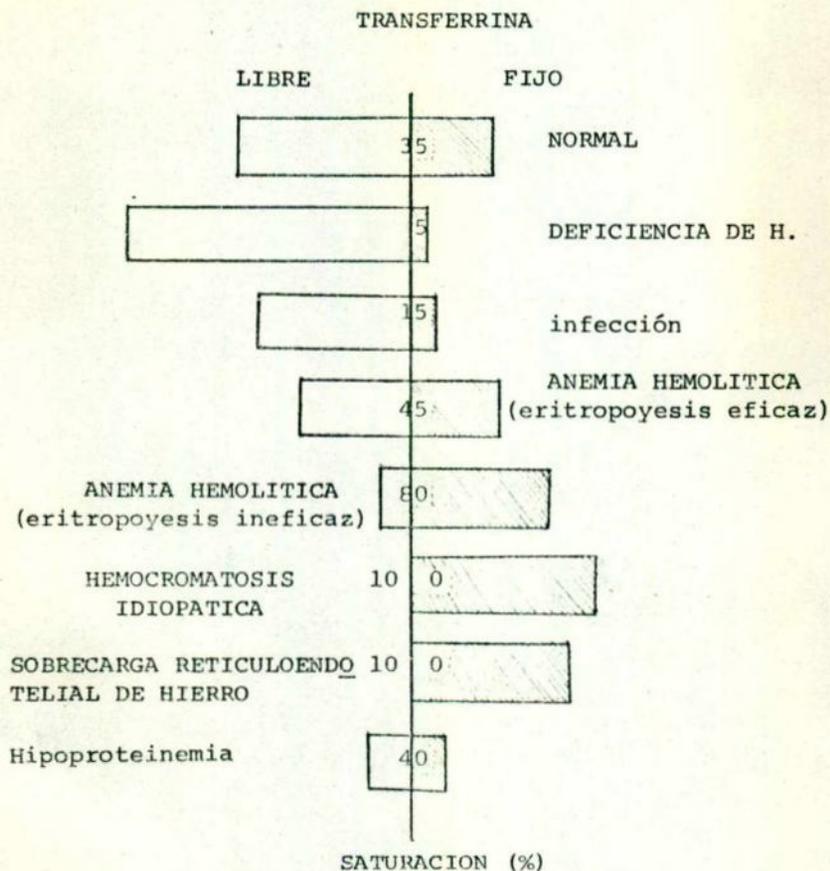


FIG. 2.-Relaciones entre la tranferrina y el hierro plasmático en estados de enf. (16)

El aumento de la C.T.F.H. que acompaña a la lesión hepática, puede deberse a que se vuelca ferritina a la circulación. La C.T.F.H. está disminuída en diversos estadios de enfermedad, en particular las infecciones agúdas y crónicas. También se hallaron valores bajos en la artritis reumatoidea, la cirrosis hepática, la uremia y las neoplasias malignas. En la nefritis, los niveles bajos se deben en parte a la pérdida de transferrina con la orina y suele haber niveles bajos de transferrina siempre que ocurra un agotamiento de las proteínas plasmáticas, sea por trastornos de su síntesis o por pérdida directa. La inyección de endotoxina, genera una caída en la concentración de proteína fijadora de hierro. En los estados que acompañan de un mayor intercambio de hierro a través de las células reticuloendoteliales, como en algunos casos de anemia hemolítica y en la anemia perniciosa, los niveles pueden ser bajos. La sobrecarga de hierro en las células del reticuloendotelio también parece deprimir a la transferrina.

Ejemplifica la importancia biológica de la transferrina, lo observado en un paciente cuyo plasma no conte -

nía transferrina. Los glóbulos rojos eran hipocrómicos y microcíticos, como en la anemia ferropénica, pero los tejidos estaban cargados de hierro. Así, si bien se seguía absorbiendo hierro, éste no podía pasar a los eritroblastos en desarrollo. Parece por consiguiente, que la función de la transferrina consiste en retirar hierro de las células reticuloendoteliales y entregar este hierro al eritrón y a la placenta. (16)

La transferrina existe en dos fases, una que circula en el plasma y la otra que está secuestrada a nivel de la célula. Gran parte de la transferrina extravascular se fija a la superficie de las células cuando intercambia hierro en los tejidos. En la superficie de los eritrocitos inmaduros, existe transferrina que descarga hierro para la síntesis de la hemoglobina. Los reticulocitos tienen mayor avidez por la transferrina cargada de hierro que por la transferrina que no lo contiene; las moléculas de transferrina cargada con hierro, desplazan con preferencia a la hemoglobina. Además, en los precursores eritroides, se aprecian cantidades de ferritina mediante microscopia electrónica. Se creyó que esto representa un hierro almacenado en forma tem-

poraria en la ferritina, antes de su utilización para la síntesis de la hemoglobina. También es posible que este hierro de ferritina represente un excedente de hierro que se excreta cuando la célula ha madurado.

Es probable que la proporción de transferrina total - que en determinado momento se mantiene fija a los reticulocitos sea pequeña. No obstante ésto, la célula del reticuloendotelio tendría capacidad para retener una - gran proporción de transferrina. Se sugirió que cuando los depósitos de hierro están sobrecargados, el hierro no se descarga con facilidad, la transferrina secuestrada, tiende a permanecer allí y en consecuencia, la capacidad fijadora de hierro del plasma es baja.

Si por vía intravenosa se introduce hierro en cantidad superior a la capacidad del plasma para fijar hierro, la concentración de hierro plasmático, resulta ser menor de lo que se separaría sobre la base de la cantidad inyectada. Si bien se denominó a ésto "efecto de freno", en realidad se debe a que el exceso de hierro se elimina con rapidez de la circulación. Estas dosis que exceden la cantidad que puede fijarse, son las que producen síntomas de toxicidad. (5,15)

### C) ALMACENAMIENTO

El hierro almacenado, generalmente de 600 a 1600 mg, constituye del 16 al 23% del hierro total de la economía. El hierro es almacenado como ferritina o hemosiderina principalmente en las células fagocíticas del sistema reticuloendotelial del bazo, hígado y médula ósea pero está ampliamente distribuido en todo el organismo. El hierro tanto de la ferritina como de la hemosiderina, puede ser utilizado para la formación de la hemoglobina.

La ferritina es una proteína con peso molecular de aproximadamente 560,000; contiene aproximadamente 23% de hierro en forma de hidroxifosfato férrico, de fácil intercambio, que pasa a la forma ferrosa antes de unirse a la transferrina que la transporta; la parte proteínica del complejo, es la apoferritina. Los estudios de ferritina con microscopio electrónico, han demostrado que la molécula tiene forma poligonal, generalmente de hexágono regular, con diámetro de 100 a 110 Å, y los lados miden de 70 a 80 Å. El hierro forma un núcleo central de la cubierta proteínica. La molécula de apoferritina, es idéntica a la molécula de ferritina, pe-

ro no contiene hierro. La ferritina no se reconoce con las tinciones para hierro porque es hidrosoluble.

La hemosiderina, contiene de 1.5 a 37% de hierro, es granular e insoluble en agua. Los grumos de hierro que constituyen la hemosiderina son visibles con el microscopio de luz. La hemosiderina sería de modo principal un producto del desdoblamiento de la ferritina. En efecto, por microscopía electrónica, se observaron moléculas de ferritina y de otras sustancias, aún no definidas, entre los grumos de hemosiderina. Se afirma que la formación de compuestos de depósito en la célula parenquimatosa, comienza con la ferritina dispersa en el interior de la célula, la cual, a medida que la concentración de hierro va en aumento, se concentra en vacuolas y puede formar grumos o cristales. En este momento ocurre la desnaturalización en la matriz de apoferritina, se pierde la hidrosolubilidad y el compuesto se convierte bioquímicamente en hemosiderina insoluble. Se observó que el factor más importante, que afecta a la distribución del hierro entre la ferritina y la hemosiderina, es la concentración total del hierro de depósito.

El hierro recientemente depositado en los tejidos, es utilizado para la eritropoyesis, de preferencia al de las reservas más viejas. Cuando se inyectan en la circulación eritrocitos marcados con hierro radiactivo y lesionados por almacenamiento, son eliminados por el sistema reticuloendotelial con rapidez 20 a 40 veces mayor que la normal; el hierro marcado se utiliza rápidamente para eritropoyesis; el 85% se ha empleado en 12 días.

La incorporación de hierro plasmático a la ferritina en las zonas de almacenamiento, es una reacción que necesita energía y en la cual intervienen ATP y ácido ascórbico por el ATP, el hierro férrico unido a la transferrina, se reduce formando hierro ferroso que así se libera de su unión con la proteína para incorporarse a la ferritina.

Las reservas de hierro, que se valoran en clínica mediante colorantes de hierro para teñir el tejido medular y con determinaciones de niveles de hierro sérico y de transferrina, pueden ser normales, subnormales o estar aumentadas. Las reservas subnormales, se observan sobretodo en lactantes de 12 a 14 meses de edad, y

en situaciones en las cuales hay una pérdida de hierro se produce de dos maneras: por absorción intestinal - excesiva o por hiperhemólisis. La absorción intestinal excesiva de hierro, que puede producirse como resultado de un defecto intestinal (hemocromatosis idiopática) o de una dieta rica de hierro (batús africanos), origina depósitos de hierro en las células parenquimatosas. La destrucción excesiva de glóbulos rojos, origina acumulación de hierro en exceso en las células reticuloendoteliales, el proceso clínico denominado hemosiderosis. La sobrecarga de hierro y la anemia refractaria acompañada de hiperplasia eritroide ineficaz. En estos pacientes la acumulación de hierro que aumenta por ser mayor la absorción intestinal, puede afectar tanto las células epiteliales como las reticuloendoteliales.

La transferencia de hierro al feto, tiene lugar a través de la placenta, donde la sangre de la circulación fetal está separada de la sangre de la madre solamente por las vellosidades de pared delgada que están en contacto con un fondo común de sangre materna. La cantidad total de hierro en el lactante al nacer, es de a -

proximadamente 300 mg. El feto actúa como un parásito y puede asimilar la cantidad necesaria de hierro incluso cuando la madre sufre carencia del mismo. Lo logra de alguna forma que no es difusión simple, porque el hierro del plasma materno, es transferido al plasma fetal a pesar que el nivel plasmático de hierro es mayor aquí que en el plasma materno; El hierro que penetra en la circulación fetal, no sale de nuevo hacia la circulación materna. En el feto, la concentración de transferrina es menor, y el grado de saturación mayor, que en la madre. (5,12,14,16,18)

## D) EXCRECION

Una vez absorbido, el hierro se conserva tenazmente.

Desde el punto de vista clínico, esto significa que -  
satisfechas las necesidades de hierro para el creci --  
miento, la deficiencia deba hallar explicación ante to  
do en una pérdida de hierro.

Aparte de las pérdidas de sangre (menstruación) y de -  
las que ocurren durante el embarazo, en condiciones -  
normales se pierde hierro por descamación de células -  
que salen al exterior con las heces y la orina, y por  
descamación del tegumento. En el tracto intestinal, e -  
xiste una exfoliación diaria de unos 50 g de células -  
epiteliales, y las células reticuloendoteliales pueden  
emigrar de las vellocidades intestinales a la luz del  
intestino. No obstante ésto, la pérdida por el tracto  
intestinal no llega a 0.5 mg de hierro por día, com -  
prendiendo las minúsculas cantidades de hierro que con  
tiene la bilis. Las pérdidas por vía urinaria ascien -  
den a 0.05 mg por día. El hierro que se pierde con el  
pelo y las uñas, no es mayor de 1 a 5 microgramos por  
día. Las pérdidas con el sudor llegan a varios miligra  
mos de hierro por día, sobre todo en el sedimento ce-

lular del sudor, pero algunos consideraron que la cifra más acertada es de 1 mg por día. Se calcula que en las zonas templadas, las pérdidas diarias de hierro en el hombre, son de 06 (0.5 a 1) mg por día.

La pérdida por la menstruación, representa 0.8 mg de hierro por día como término medio, pero ésto se halla sujeto a grandes variaciones. En mujeres con menorragia, esta cifra puede triplicarse. El embarazo exige una contribución de unos 280 mg para el feto, de 150mg para la placenta y una cantidad variable para la pérdida de la sangre en el momento del parto, con un total de 500 a 550 mg. A medida que avanza el embarazo, existe una necesidad progresiva que va desde 0.6 hasta 4 mg y el requerimiento medio es de 1.8 mg por día. La lactación entraña una pérdida de 0.5 a 1 mg por día. Estas pérdidas se contrarrestan en parte por una amenorrea de unos 15 meses de duración. En resumen, la menstruación en término medio, duplica el requerimiento de hierro en comparación con el hombre, y hace que la cifra media para la mujer adulta sana, sea de 1.2 mg por día; el embarazo puede triplicar esta cifra y la menorragia ocasiona una pérdida más grande todavía.

(1, 2, 5, 8, 9, 14, 16)

METABOLISMO DEL HIERRO

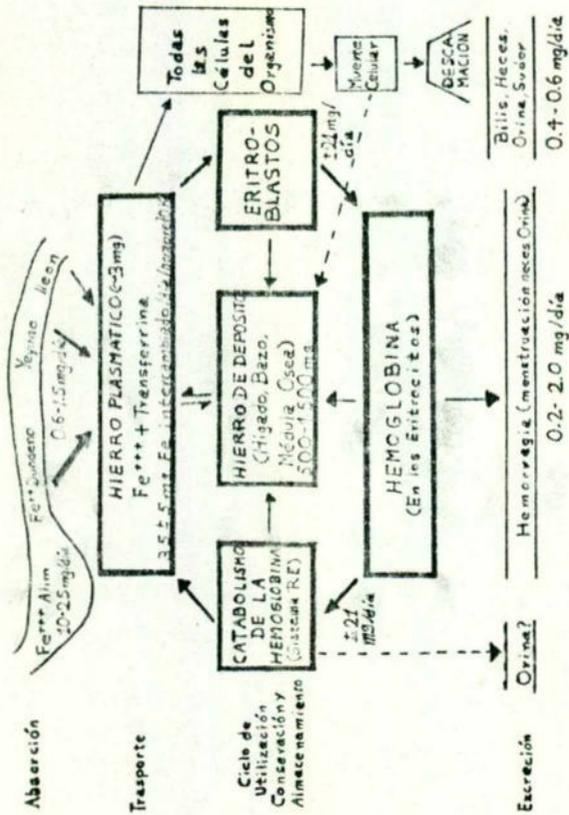


FIG. 3 (16)

## CAPITULO IV

## A) PRINCIPALES CAUSAS PATOLOGICAS DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

Cuando la absorción del hierro se encuentra disminuída a lo largo de mucho tiempo, el resultado es una anemia hipocrómica. La situación contraria, el exceso de absorción de hierro también suele presentarse, es un trastorno de regulación de la absorción, se trata entonces de la hemocromatosis ordinaria.

En un principio la hemocromatosis pasa inadvertida, pero una vez que el hierro depositado en los tejidos, alcanza cierta magnitud, siempre hay alteraciones viscerales. Las más importantes son las del hígado, páncreas y miocardio, que clínicamente se traducen por cirrosis, diabetes e insuficiencia cardiaca. Estos datos aunados a la pigmentación característica de la piel, son los que orientan al diagnóstico.

Cuando se realizan transfusiones de manera desmedida, también hay el peligro de producir alteraciones del almacenamiento excesivo de hierro; a esto se le llama hemocromatosis.

VARIEDADES DE HEMOCROMATOSIS  
Y SU MECANISMO

CONGENITA  
HEMOCROMATOSIS-  
IDIOPATICA

Anormalidad del mecanismo de regulación de la absorción intestinal del hierro.

ADQUIRIDAS  
HEMOCROMATOSIS-  
DIETARIA

Forzamiento de la absorción intestinal - por el hierro excesivo de la dieta. También cabe la posibilidad de que el hierro medicamentoso, - obre en igual forma.

HEMOCROMATOSIS -  
TRANSFUNCIONAL -  
(HEMOSIDEROSIS)

Exceso de administración de hierro parentera.

Se considera que las anemias de las infecciones y las de otros estados patológicos, se deban a falta de utilización del hierro para la eritropoyesis. Con la consecuencia de que por haberlo en cantidades normales, se acumula en los depósitos. (1)

#### HEMOSIDEROSIS

Consiste en el depósito de una cantidad excesiva de hemosiderina. Hay pocas alteraciones funcionales, hasta que el depósito sea en verdad muy intenso. Suele aparecer siderosis generalizada, cuando se han transferido - 100 unidades, o más, sin pérdida de hemoglobina del organismo, por ejemplo, en las anemias hipo y aplásticas, y en la talasemia. Cada unidad de sangre (500 ml), contiene aproximadamente 250 mg de hierro, y en un adulto promedio, se necesita un exceso de hierro de 20 a 25 g como mínimo para que se presente síntomas y signos de enfermedad por acumulación de hierro. En la siderosis por transfusión, durante el período latente, el hierro se deposita exclusivamente en el sistema reticuloendotelial, pero una vez saturado éste, empieza a aumentar el almacenamiento de células parenquimatosas y del estroma

de muchos órganos, principalmente hígado, miocardio, -  
páncreas y glándulas endócrinas. En general, se presen-  
ta insuficiencia cardiaca antes de que la cirrosis he -  
pática llegue a producir trastornos.

## HEMOCROMATOSIS

En general, este término designa un depósito de hemosiderina más peligroso que el de la hemosiderosis, sin embargo, se trata principalmente de una diferencia de grado, habiendo además unas peculiaridades en función de la vía de entrada y de la naturaleza del hierro que penetra al organismo. La hemocromatosis puede ser primaria o secundaria.

HEMACROMATOSIS PRIMARIA.- Esta enfermedad, se debe a acumulación de hierro por equilibrio positivo, del orden de 1.5 a 3 mg/día. Por lo tanto, los signos patológicos sólo aparecen después de los 30 años en 95% de los pacientes. Como la mujer normal pierde de 10 a 30 gramos por la menstruación y parto, la enfermedad resulta 10 veces más frecuente en los hombres que en las mujeres, en quienes es raro que aparezca antes de la menopausia.

HEMOCROMATOSIS SECUNDARIA.- Es común en los bantús de Africa que en vista de los utensilios de cocina que emplean, y de su alto consumo de cerveza de sorogo, pueden ingerir más de 100 mg de hierro al día. También -  
tienden a presentar hemocormatosis secundaria y cirro-

sis hepática, sujetos que ingieren mucho vino, pues éste contiene de 5 a 22 mg de hierro/litro.

La gran saturación de la transferrina, parece favorecer la entrada de hierro, que se almacena en células parenquimatosas. Durante muchos años (de 20 a 30), sólo está afectado el hígado, pero con el tiempo se depositan también hierro en páncreas, miocardio, glándulas endocríneas y salivales, y otros órganos. La acumulación de hierro en las células del parénquima hepático y en el estroma de los espacios porta termina en cirrosis.

En la hemocromatosis, la principal cause de muerte es la insuficiencia miocárdica por depósito de gran cantidad de hierro en el miocardio. En casi 15% de los casos, aparece carcinoma primario del hepatocito. Además la hipertensión porta, várices esofágica y ascitis, son mucho menos pronunciadas que en la cirrosis de Laennec. En la autopsia, los órganos afectados tienen un color pardo chocolate o herrumbroso que se oscurece al cabo de pocas horas de colocar el tejido en formol. El contenido total de hierro del organismo puede llegar a 60 g, aunque suele encontrarse entre 25 y 40%.

GENETICA.- Ha sido difícil establecer el tipo de transmisión de la hemocromatosis, por lo prolongado del período de evolución antes de que se manifieste la enfermedad. Los estudios de hierro plasmático en los hijos de los enfermos, sugiere que esta enfermedad podría ser heredada por un gen autosómico dominante único. Sin embargo, todavía puede pensarse en herencia autosómica recesiva, en cuyo caso sólo aparecería enfermedad clínica en los sujetos homocigotos, encontrándose en los heterocigotos un aumento del hierro plasmático solamente. (9)

#### ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO

La anemia por deficiencia de hierro, ha sido descrita con los nombres diversos. Los utilizados han sido los siguientes: Anemia secundaria, Anemia hipocrómica idiopática, clorosis, anemia clorótica, anemia hipocrómica del embarazo, anemia hipocrómica de la premadurez y de la adolescencia, anemia por deficiencia de hierro.

#### MECANISMO DE PRODUCCION

Ocurre deficiencia de hierro, probablemente la forma más común de anemia, en cierto número de procesos clínicos, y pueden intervenir en ella varios mecanismos.

Una dieta inadecuada raramente es la sola causa de deficiencia de hierro, excepto en la primera infancia. Sin embargo, un ingreso inadecuado puede ser factor de contribución importante en algunas circunstancias, sobre todo durante el crecimiento de los niños y en el embarazo.

La anemia durante la primera y segunda infancia, resulta principalmente por la falta de hierro en la comida; la cantidad de hierro ingerido no es adecuado para permitir el aumento del volumen sanguíneo que corresponde al crecimiento de la criatura. El estado de las reservas maternas de hierro, tiene poco o ningún efecto sobre el desarrollo de anemia del niño, porque el feto puede obtener el hierro necesario, aproximadamente 80 mg/kg, incluso cuando la madre está carente de hierro. Anemia moderado o ligera por deficiencia de hierro, no es rara en la adolescencia, pero sí lo es la anemia grave ("clorosis" de los viejos tiempos).

La anemia, que se observa casi exclusivamente en niñas suele explicarse por un ingreso de hierro insuficiente para cubrir las necesidades del crecimiento rápido y el comienzo de la menstruación.

El embarazo es causa común de anemia por carencia de hierro; su frecuencia varía en diversas partes del mundo, pero probablemente sea alrededor del 25% incluso - en zonas en donde los problemas nutritivos son raros o de poca monta. El desarrollo de la ferruginosa, depende de varios factores, uno es el estado de las reservas de hierro de la madre al comenzar el embarazo; ésto guarda relación con su estado económico, el número de embarazos previos, y la presencia o ausencia de diversas enfermedades, en particular las asociadas con pérdivas de sangre. Otro factor es el ingreso de hierro de la madre que tiene gran importancia durante la segunda mitad del embarazo.;

La causa más frecuente de anemia por deficiencia de hierro en ambos sexos, es la pérdida sanguínea crónica. En varones adultos, la anemia por deficiencia de hierro, casi siempre resulta de pérdida crónica de sangre a nivel del tubo digestivo. Toda lesión ulcerosa, puede ser la causa de úlcera esofágica, hernia del hiato, úlcera gástrica o duodenal, lesiones malignas o benignas de estómago, intestino delgado o cólon, o hemorroides. La pérdida de sangre por infestación de gusa-

nos ganchudos, es causa importante de deficiencia de hierro en muchas partes del mundo. En la mujer, además de la hemorragia gastrointestinal, son causas frecuentes de deficiencia de hierro, las hemorragias vaginales copiosas y el embarazo.

El estado de las reservas ferruginosas, es importante en el desarrollo de anemia por hemorragia vaginal o embarazo; la pérdida de pequeñas cantidades de hierro con la menstruación normal, puede producir anemia intensa en mujeres cuyas reservas ferruginosas sean pocas, y una hemorragia más intensa quizá sólo produzca anemia pasajera si las resevas ferruginosas son normales.

Una causa menos frecuente de carencia de hierro, es el trastorno de la absorción del mismo. Esto se observa sobre todo en E.U. en pacientes que han sufrido gastrectomía parcial. Estos enfermos pueden absorber sales de hierro, pero la absorción del hierro dietético, está netamente disminuída; en consecuencia, las reservas de hierro pueden desaparecer en unos años. Suele desarrollarse anemia por deficiencia de hierro en pacientes que han sufrido gastrectomía total, si viven tiem-

po suficiente. También se produce absorción insuficiente de hierro, en casos de diarrea intensa prolongada, y en síndromes de mala absorción. (5)

#### B) MANIFESTACIONES CLINICAS

Dado que el hierro no sólo es indispensable para la formación de hemoglobina, sino que también es sustancia constituyente de otros tejidos, las manifestaciones clínicas de las anemias hipocrómicas van a comprender además de las genéricas de anemia, otras indicativas de la carencia de hierro en sitios diversos. Las más comunes son las del aparato digestivo y las de la piel y sus anexos.

En el primero se encuentran cambios linguales, consisten en atrofia de las papilas, lo que da un aspecto liso a la superficie de la lengua y en la presencia de fisuras en sus bordes. Existen casos igualmente, en que la falta de hierro en las células epiteliales del esófago va a dar lugar a disfagia, más o menos importante.

El análisis del jugo gástrico, revela aclorhidria en una buena proporción de casos, circunstancia que aún sin ser predominante, de seguro participa en la génesis de la anemia, pues, como ya se ha indicado, la ionización

del hierro ingerido, requiere medio ácido.

La palidez a menudo, toma un tinte lèvemente verdoso, especialmente en mujeres adolescentes. Cuando además - de estas circunstancias, no se descubrieran hemorragias en esas enfermas y había rasgos psiconeuróticos, se le confería cierta personalidad de padecimiento, designán-do como clorosis. En la actualidad, se acepta que se trata simplemente de anemias hipocrómicas con ciertas particularidades.

Además de la palidez, la piel se seca y suele haber que-u ilosis. El pelo es quebradizo y no es rara la canicie - precoz. Sin embargo, el dato más importante de anemia hipocrómica que puede recogerse en la exploración física, es el aplanamiento de las uñas (Platoquina), que a parece más o menos en la tercera parte de los casos, en algunos puede progresar a la concavidad (uñas en forma - de cuchara o coiloniquia). El bazo suele ser palpable = en niños y adultos con deficiencia de hierro, pero só - lo pasa unos pocos centímetros del borde costal izqui- erdo en los casos no complicados. A veces hay cefaleas pulsátiles cuando la hemoglobina está considerablemente disminuída, desaparecen cuando la anemia se corrige, si

La anemia es moderadamente intensa, suele haber un soplo precordial o epical. Otras anomalías como dilatación cardíaca, o insuficiencia cardíaca congestiva, se observan sobre todo en muchos jóvenes y en personas de edades que sufren al mismo tiempo alguna cardiopatía. Debe mencionarse, que no es raro observar discreta esplenomegalia, sobre todo en las edades tempranas. Algunos pacientes con deficiencia de hierro y anemia tienen deseo vehemente de tomar hielo y consumen un número elevado de cubitos de hielo al día; a veces este síntoma desaparece al administrar el hierro, antes de corregirse la anemia. El consumo de barro cocido (pica) se considera a veces señal de deficiencia ferruginosa, sobre todo en niños. Además la ingestión de almidón para planchar, puede ser por lo menos un factor contribuyente de la producción de deficiencia ferruginosa. (1,5, - 14,16)

#### EXAMENES DE LABORATORIO

La anemia de la deficiencia ferruginosa intensa, de manera característica es hipocrómica y microcítica (VCM menor de 80 micras cúbicas, HCM menor de 30 micromicrogramos y CQMH menor de 30%). Es frecuente observar va-

lores mucho más bajos de hierro. En la mayor parte de pacientes con deficiencia de hierro, el estudio de un frotis de sangre periférica teñido, revela que la mayor parte de eritrocitos son menores que los normales que tienen aumento de la palidez central, que puede ser muy intensa (microcitos hipocrómicos); otros eritrocitos tienen color normal, algunos presentan policromatofilia si la eritropoyesis es activa. La poiquilocitosis, suele ser intensa y es frecuente observar "formas de cigarros" alargados. En ocasiones hay glóbulos rojos nucleados. El número de leucocitos, el de plaquetas y el de reticulocitos, suelen conservar valores normales; a veces hay trombocitopenia en caso de deficiencia ferruginosa grave. La eritropoyesis es de tipo normoblástica, pero la celularidad de la médula puede ser normal estar disminuída o aumentada.

En pacientes con deficiencia menos intensa de hierro, la anemia no siempre es hipocrómica y microcítica, puede ser hipocrómica y normocítica, o normocrómica y normocítica. En tales casos, pueden ser muy útiles otros exámenes de laboratorio para establecer el diagnóstico de deficiencia de hierro. La presencia de la deficien-

cia, suele acompañarse de disminución de la concentración de hierro sérico, generalmente menor de 40 microgramos por 100 ml (normal 50 a 150) y de aumento de la capacidad de fijación de hierro por el suero, doble o triple de lo normal (normal 200 a 300 microgramos por 100 ml).

En caso de deficiencia de hierro, la saturación de la transferrina casi siempre es menor del 10%, también se observan saturaciones bajas, del 10 a 16%, en estados infecciosos. El estudio de la médula ósea, obtenido por punción y teñida en busca de hierro, también puede brindar un índice fiel del estado de las reservas del metal, en particular si tales reservas son bajas.

Los cortes de tejido muscular resultan mejores que los frotis de médula para estimular las reservas de hierro los preparados pueden estudiarse sin teñir o después de teñir con azul de prusia. La cantidad de hierro en las células de almacenamiento probablemente sea el índice más seguro de las reservas corporales del metal; sin embargo, todo el hierro en las células quizá no se utilice para producir hemoglobina. La parte más importante del hierro con dextrán inyectado sólo queda disponi-

ble para síntesis de hemoglobina después que ha sido elaborado por el sistema reticuloendotelial. Varias semanas después de la inyección, puede observarse el hierro en las células reticuloendoteliales modulares, aunque no haya quedado disponible progresivamente para síntesis de hemoglobina. El número y el aspecto de los gránulos de hierro en los glóbulos rojos nucleados, indica hasta cierto punto, la utilización del metal.

Normalmente la tercera parte de los normoblastos de la médula contienen gránulos sideróticos; éstos disminuyen sus dimensiones y prácticamente desaparecen cuando hay deficiencia de hierro y aumentan en algunas situaciones en las cuales la utilización del metal es defectuosa. Se cree que estos gránulos no hemoglobínicos, son agregados de moléculas de ferritina. Cuando la anemia depende de deficiencia de hierro, la bilirrubina sérica no está elevada y la eliminación fecal de urobilnógeno en las 24 horas suele ser más bajo que normalmente, porque está disminuída la masa de hemoglobina circulante. La protoporfirina libre del eritrocito está aumentada en caso de deficiencia de hierro. Es frecuenta la anaclorhidria en pacientes con este trastorno

El desarrollo de la deficiencia ferruginosa produce la siguiente serie de cambios:

- 1.- Vaciamiento de las reservas de hierro, que suele manifestarse en la médula ósea.
- 2.- Aumento de la capacidad de fijación de hierro en el suero
- 3.- Disminución de la cantidad de hierro en el suero.
- 4.- Desarrollo de anemia normocrómica o ligeramente hipocrómica.
- 5.- Desarrollo de anemia microcítica hipocrómica.

Tienen lugar los mismos acontecimientos en orden inverso cuando la deficiencia se combate dando hierro por vía bucal.

#### DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

El primer paso para establecer el diagnóstico de este tipo de anemia, estriba en comprobar la existencia de una deficiencia de hierro; el siguiente en descubrir la causa. Si la anemia es hipocrómica y microcítica, la deficiencia ferruginosa corriente, debe distinguirse de la talasemia y de la deficiencia de piridoxina, también muy rara, y otros trastornos de la "carga de hierro". La talasemia se caracteriza por antecedentes fa-

miliares de anemia, aparición de muchas células en diana, en frotis teñidos, y aumento del número de reticulocitos, el bazo suele estar aumentado de volumen, y - puede extenderse más abajo del nivel del ombligo. La determinación de la concentración de hierro sérico y el exámen de preparaciones bien teñidas de médula ósea no permiten revelar ninguna deficiencia de hierro. Suele haber aumento de hemoglobina fetal y de hemoglobina A<sub>2</sub>. La deficiencia de piridoxina y la "anemia con sobrecarga de hierro" rara en el hombre, se caracterizan por - anemia microcítica hipocrómica, pero a pesar de que - los eritrocitos pueden observarse hipocrómicos, la cantidad de hierro en el suero está elevado y la administración de esta metal no mejora la anemia. La demostración de ausencia o exceso de hierro en las preparaciones de médula ósea probablemente sea el medio más seguro y sencillo para distinguir entre anemia por defi -- ciencia de hierro y otros procesos que evolucionan con células hipocrómicas. En los grados más leves de deficiencia de hierro la anemia puede ser hipocrómica, normocrómica, normocítica o ligeramente microcítica, = más que microcítica hipocrómica. Esto tiene particular

tendencia a ocurrir cuando no se ha desarrollado deficiencia grave o cuando ésta sólo ha sido corregida parcialmente.

En tales circunstancias, la demostración de su bajo nivel de hierro sérico, el aumento de la capacidad de fijación de hierro, o bien la demostración histológica de reserva disminuída de hierro en los tejidos suelen afirmar la existencia de una ferropenia.

Si se ha comprobado una deficiencia de hierro, se hará todo lo posible por descubrir su causa. Una dieta inadecuada puede dar la explicación en lactantes y niños muy pequeños, pero en el adulto hay que proceder a la búsqueda de la causa de la pérdida hemática. La ausencia de sangre oculta en una sola muestra de heces no excluye la hemorragia gastrointestinal crónica o recurrente.

A menos que se determina con seguridad la causa de la deficiencia de hierro, la mayor parte de pacientes, sobre todo los de edad mediana o avanzada, necesitan estudio radiográfico de todo el aparato digestivo. Cualquier lesión ulcerosa de esófago, intestino delgado o cólon puede ser causa de hemorragia crónica y deficien

cia de hierro. Aunque la hernia del hiato con úlcera - muchas veces origina hemorragia gastrointestinal y anemia, no hay que llegar a la conclusión de que la demostración de una hernia de hiato, en un paciente con anemia ha descubierto la fuente de la sangre. Muchos pa - cientes de mediana edad y muy viejos, sufren hernia - del hiato asintomática. Debe examinarse el intestino - delgado y el cólon; y sólo se aceptará la hernia como causa de la hemorragia si no puede demostrarse ningún otro origen probable. Si se sospecha una lesión del tubo digestivo, pero no logra demostrarse en el primer - examen, se repetirán los estudios adecuados, por la importancia que tiene demostrar cualquier lesión. En particular en neoplasia, que pueda necesitar corrección - quirúrgica, en la mujer sobre todo en edad productora, deberá decidirse si los antecedentes de hemorragia va - ginal y de embarazo pueden explicar la anemia. Suele - estar indicada la investigación radiográfica del tubo digestivo, pero no debe olvidarse el peligro de irra - diación de los ovarios o de un embarazo inicial no sospechado. La ingestión de aspirina es una causa bastan - te frecuente de hemorragia por irritación local o por

efectos sobre la agregación de plaquetas. (1,5,8,9)

#### PRONOSTICO

El pronóstico de la anemia hipocrómica por deficiencia de hierro, es sumamente benigno, ya que es curable en todos aspectos. Sin embargo muchas veces el pronóstico de una anemia hipocrómica queda subordinada al de la causa que le da origen, y en esas circunstancias, el pronóstico va a ser muy distinto, según se trate a maneras de ejemplos, de un carcinoma o de hemorroides san grantes.

#### C) TRATAMIENTO

Se hace utilizando sales ferrosas (fumarato, sulfato, gluconato), en dosis diarias variables entre 0.20 y 0.90 g, de acuerdo con la intensidad de la anemia. En vista de que el hierro produce gastritis, es conveniente ingerir el medicamento después de los alimentos.

Existen también preparados en los cuales el hierro se encuentra suspendido en sustancias coloides que al parecer, evitan también la acción irritante sobre el estóma go. Para los niños hay soluciones que contienen hasta 0.125 g de sulfato ferroso por ml.

No obstante las precauciones anteriores, se presentan =

casos en que ocurre precozmente intolerancia al hierro. En esas circunstancias, es legítimo recurrir al uso de hierro por vía parenteral.

Para tal propósito se utilizan con buenos resultados, preparaciones en las cuales el hierro asociado a sorbitol o a dextrán, se aplica por vía intramuscular, que es la preferible.

Debe insistirse que las indicaciones para el uso parenteral del hierro, tienen que considerarse como absolutamente excepcionales, que el hierro así administrado, puede dar lugar especialmente cuando ha sido por vía - intravenosa, a reacciones generales y locales serias, y que en la práctica es raro encontrar casos resistentes a los preparados orales.

Al igual que sucede para las anemias macrocíticas megaloblásticas, la respuesta de las hipocrómicas al tratamiento específico se va a manifestar por una crisis reticulocitaria, que es un poco menos pronta y de proporciones más modestas que la que se observa en las ane - mias macrocíticas por deficiencia de principio antianémico al administrar éste. Cuando la hemoglobina ha as-cendido suficientemente, la dosis diaria de hierro pue

de disminuirse. Una vez normalizados los valores hematológicos, es conveniente de todas maneras, proseguir el uso del hierro en cantidades moderadas, a fin de restaurar las reservas. (1,10,14,16)

## CAPITULO V

## A) METODOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACION DE HIERRO

## 1.- HIERRO TOTAL EN SANGRE TOTAL (WONG MODIFICADO)

PRINCIPIO: Se separa el hierro de la hemoglobina y de otras moléculas proteicas por la acción de ácido sulfúrico concentrado en presencia de persulfato de potasio y sin calentamiento. Las proteínas se precipitan entonces con ácido túngstico y el hierro se determina fotométricamente en el filtrado mediante la reacción con sulfocianuro. Dado que el proceso no requiere ebullición, la concentración de ácido en la solución desconocida puede ser controlada e igualada a la misma de la solución patrón para la producción de color. La desaparición del color es retardada por el persulfato de potasio.

Puesto que la mayor parte del hierro existente en la sangre está en forma de hemoglobina, el contenido de hierro puede ser utilizado para conocer la concentración aproximada de hemoglobina y la capacidad de oxígeno.

## REACTIVOS:

El agua que se emplea en la preparación de los reactivos y en los análisis, debe ser de doble destilación (exenta de hierro), la segunda destilación realizada en vidrio.

- 1.- Acido sulfúrico concentrado, libre de hierro.
- 2.- Solución saturada de persulfato de potasio.

Se colocan aproximadamente 7 g. de persulfato (R) en un frasco de unos 120 ml con tapón esmerilado. Se agregan 100 ml de agua y se agita. El exceso de droga que no se disuelve, se deposita en el fondo del recipiente y se disuelve luego en forma parcial para reemplazar así el sulfato perdido por descomposición.

Esta solución debe prepararse semanalmente.

- 3.- Solución de tungstato de Sodio al 10%

Se disuelven 100 g de  $\text{WO}_4\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (R) en agua y se diluyen hasta alcanzar el volumen de un litro. Esta solución debe ser neutra a la fenolftaleína. En general, las soluciones que se obtienen con "Tungstato de sodio (R)" o con Tungstato de sodio "Preparado según Folin" no existe ningún ajuste.

Si la solución de Tungstato de Sodio al 10% es de masiado ácida o demasiado alcalina, las proteínas no serán precipitadas completamente; por lo tanto debe titularse la solución. Si la solución es alcalina, no se necesitará más de 0.4 ml de ácido clorhídrico 0.1 N para que 10 ml de la solución de tungstato al 10% resulten neutros a la fenolftaleína. Si es más alcalina aún, se agrega ácido en cantidad suficiente para neutralizar la solución frente a la fenolftaleína. Si es ácida, se titula 10 ml de la solución al 10% con hidróxido de sodio 0.1 N, con Fenolftaleína como indicador hasta la obtención de una coloración rosada persistente. Se agrega entonces proporciones adecuadas hidróxido de sodio al resto de la solución al 10%.

#### 4.- Solución Patrón de Hierro:

Se pesa una cantidad de alambre de hierro (R) o de hierro en lingotes, hasta 100 mg y se colocan en un vaso de precipitación de 500 ml. Se agregan 20 ml de ácido clorhídrico concentrado y unos 100 ml de agua. Se calienta en baño de vapor hasta di

solución completa y se descarta el pequeño residuo de partículas de carbón que puede quedar. Se enfría a temperatura ambiente y se pasa a un matraz aforado de un litro, completando a volumen con agua destilada. Se mezcla bien por inversión repetida y agitación. Cada ml de esta solución contiene 0.1 mg de hierro.

5.- Solución de Sulfocianuro de Potasio aproximadamente 3 N.

Se colocan 146 g de sulfocianuro de potasio (R) en vaso de precipitación y se disuelven a unos 300 ml de agua. Se agregan 20 ml de acetona pura como conservador, se pasa a un matraz aforado o probeta y se diluye 500 ml. Se filtra, si fuera necesario.

MATERIAL ESPECIAL.- Probetas graduadas a 25 ml o tubos graduados a 20 ml. (Pueden utilizarse los tubos para digestión, graduados a 21 y 30 ml)

CURVA DE CALIBRACION.- Se prepara una curva patrón diluyendo con agua 5 ml de la solución patrón de hierro a 100 ml en un matraz aforado y se mezcla bien. Se rotulan 8 matraces aforados de 25 ml de la manera sig:

0, 1, 2, 3, 5, 8, 10, y 15 y se agrega la cantidad in  
dicada en cada tubo de ml de la solución patrón diluí  
da, que corresponde a 0, 5, 10, 15, 25, 40, 50, y 75  
mg de hierro en 100 ml.

Al matraz "0" se le agregan 4 ml de solución de sulfo  
cianuro de potasio 3 N, diluyendo después la mezcla -  
hasta 25 ml con agua destilada, se mezcla bien y se -  
lleva al espectrofotómetro a una longitud de onda de  
540 milimicras y se ajusta a absorción 0.

Se repite ésto, en los demás matraces y se anotan las  
lecturas correspondientes.

Se prepara una curva de calibración en papel milimé -  
trico, disponiendo en unas de las coordenadas las con  
centraciones de cada patrón y en la otra, las lectura  
en densidad óptica correspondiente a cada uno (fig.4)

#### PROCEDIMIENTO

Se colocan 0.5 ml de sangre en un matraz aforado seco  
de 50 ml, se agregan 2 ml de ácido sulfúrico concen -  
trado exento de hierro y se mescla haciendo rotar, -  
durante 1 ó 2 minutos. Se agregan 2 ml de solución sa  
turada de persulfato de potásio, se mezclan y se dilu  
yen a unos 25 ml con agua destilada. Se agregan 3 ml

de solución de tungstato de sodio al 10%, y se mezcla bien y se deja en reposo 5 minutos. Se filtra a través de un filtro seco el contenido del frasco y se recoge el filtrado en un erlenmeyer.

Se transfieren 10 ml de filtrado a un matraz aforado de 25 ml que se rotula "P" (problema)

Por otra parte, se rotula un matraz aforado vacío con la marca "B" (blanco), y se le agregan 0.4 ml de ácido sulfúrico concentrado, que se diluyen a unos 15 ml con agua destilada agregándose después 1 ml de la solución de persulfato de potasio.

Se ajusta el espectrofotómetro a 540 milimicras.

Al frasco marcado "B", se le agregan 4 ml de solución de sulfocianuro de potasio 3 N, y se diluye hasta la marca de 25 ml y se ajusta con éste el espectrofotómetro a una densidad óptica de 0.

El matraz problema, se trata de igual forma y se anota la lectura.

#### CALCULO

Se leen los valores directamente en la curva de calibración.

## INTERPRETACION

La concentración de hierro en la sangre total, varía - de acuerdo con el contenido de hemoglobina y con los factores que influyen sobre el hierro total. En el hombre, las cifras normales varían entre 44 y 56 mg por - 100 ml de sangre, mientras que en la mujer, los valo - res normales están comprendidos entre 42 y 48 mg por - 100 ml de sangre. (7)

## 2.- DETERMINACION DE HIERRO EN PLASMA O SUERO

FUNDAMENTO: Según este método, desarrollado por Walker se digiere el suero con ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno y la solución transparente se trata con per - sulfato de potasio y sulfocianuro de potasio. El color desarrollado, se compara con una solución tipo de hie - rro tratada con los mismos reactivos.

## REACTIVOS

- 1.- Acido Sulfúrico concentrado, libre de hierro
- 2.- Peróxido de Hidrógeno al 30%
- 3.- Sulfocianuro de Potasio

Solución aproximadamente trinormal como la que se usa en el método de Wong para la determinación de hierro total en sangre.

#### 4.- Persulfato de potasio

Solución saturada como la que se usa en el método de Wong

#### 5.- Solución Tipo de Hierro

La misma que el patrón del método de Wong. Un ml de la solución tipo, contiene 0,1 mg de hierro.

#### LONGITUD DE ONDA

540 milimicras

#### CURVA DE CALIBRACION

La curva de calibración se traza de la siguiente manera:

En una serie de tubos de digestión, se ponen las siguientes cantidades de solución tipo de Hierro: 0,0,0.1, 0.2,0.3,0.5,1.0,1.5,2.0,3.0 ml, que corresponden a: 0,0.05, 0.1, 0.15, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 mg de hierro por 100 ml de sangre. En cada uno de los tubos se pone además 1.5 ml de ácido sulfúrico concentrado y su contenido se afora a 20 ml con agua destilada.

Se ajusta el espectrofotómetro para la longitud de onda de 540 milimicras.

Se agregan 1 ml de solución saturada de persulfato de potasio y 4 ml de solución de sulfocianuro de potasio

a cada uno de los tubos, se tapan los tubos, se mezcla su contenido respectivo.

El contenido del tubo marcado con "0", se pone en una cubeta de tamaño apropiado, se coloca ésta en el espectrofotómetro y se ajusta a absorción 0

El contenido del tubo rotulado 0.1 se pasa a una cubeta ejuagándola 2 veces con la misma solución, se coloca en el espectrofotómetro, se lee y se anota la lectura.

Se repite esta operación con los tubos restantes, enjuagando la cubeta dos veces en cada operación, se anotan las lecturas.

Con los tubos se traza la curva con las lecturas del espectrofotómetro como abscisas y la concentración en mg como ordenadas. Por medio de esta curva, puede investigarse fácilmente la concentración de hierro de cualquier solución problema. (fig. 5)

#### PROCEDIMIENTO

- 1.- Se digieren 2 ml de suero sin hemólisis en un tubo pyrex graduado a 20 ml, con 1.5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se pondrá una perla de vidrio para regular la ebullición. La digestión puede lle -

vase a cabo lentamente en baño de arena o rápidamente a la llama directa de un microbúnsen. Una vez bien carbonizada la mezcla, se deja enfriar.

- 2.- Se agrega peróxido de hidrógeno, en porciones de 0.5 ml cada vez, repitiendo la adición de peróxido y calentando con la frecuencia necesaria para que la solución quede transparente e incolora; por lo regular, se necesitan tres adiciones.
- 3.- Se dispone de un tubo testigo con 1.5 ml de ácido sulfúrico concentrado, que recibirá tratamiento si multáneo con la misma cantidad de peróxido de hidrógeno.
- 4.- Una vez que el contenido de los tubos esté transparente y a la temperatura ambiente, se afora a 20 ml con agua destilada.
- 5.- A cada uno de los tubos se agrega 1 ml de la solución saturada de persulfato potásico y se mezcla cuidadosamente; se agrega a cada tubo 4 ml de la solución de tiocianato potásico y se mezcla.
- 6.- Se ajusta el espectrofotómetro a 540 milimicras. El contenido del tubo testigo, se mezcla bien y se pasa a una cubeta de tamaño apropiado. Se coloca -

en el espectrofotómetro y se ajusta éste en absorción 0.

7.- Se pasa el contenido del tubo problema a otra cuba de tamaño apropiado, se enjuaga dos veces y se procede a la lectura en el espectrofotómetro. Se anota la lectura.

8.- Se leen los valores directamente en la curva de calibración.

#### INTERPRETACION

Según este procedimiento, la concentración de hierro - en el suero normal, varía entre 0.04 y 0.23 mg por 100 ml de sangre en promedio, 0.13 mg. La cantidad de hierro en el suero está moderadamente aumentada en la anmía perniciosa y vuelve a valores normales después del tratamiento adecuado. También puede encontrarse elevada en las anemias aplásticas y hemolíticas. Es baja la concentración de hierro, en la anemia hipocrómica, pero no necesariamente por debajo del límite normal inferior. (3)

#### NOTAS:

1.- Toda la cristalería empleada en estos estudios, tubos de ensayo, pipetas, matraces, etc., deben estar comple

tamente libres de hierro. Se deja en ácido clorhídrico 6 N ó ácido nítrico al 25% durante toda la noche, se enjuaga cuidadosamente varias veces con agua destilada y finalmente con agua bidestilada o privada de iones. Es menos probable la contaminación con hierro en caso de secado al aire en la estufa.

- 2.- Pueden existir pequeñas cantidades de hierro en los reactivos; pero mientras el tono del tubo blanco en la reacción final no pasa de un azul apenas perceptible, el error no es importante. La hemólisis puede producir errores y las muestras de suero deben obtenerse con la mejor técnica, reduciendo al mínimo la éstasis por torniquete.
- 3.- Las muestras de suero pueden conservarse en el refrigerador durante aproximadamente una semana o incluso meses si se congela.
- 4.- Si el paciente ha recibido un tratamiento con inferón (Complejo de hierro con dextrán) o con óxido de hierro sacarolado, la cifra de hierro que se obtenga incluirá parte del metal administrado. En ciertos casos, el tratamiento con inferón puede dar al suero un tinte pardo especial. (9)

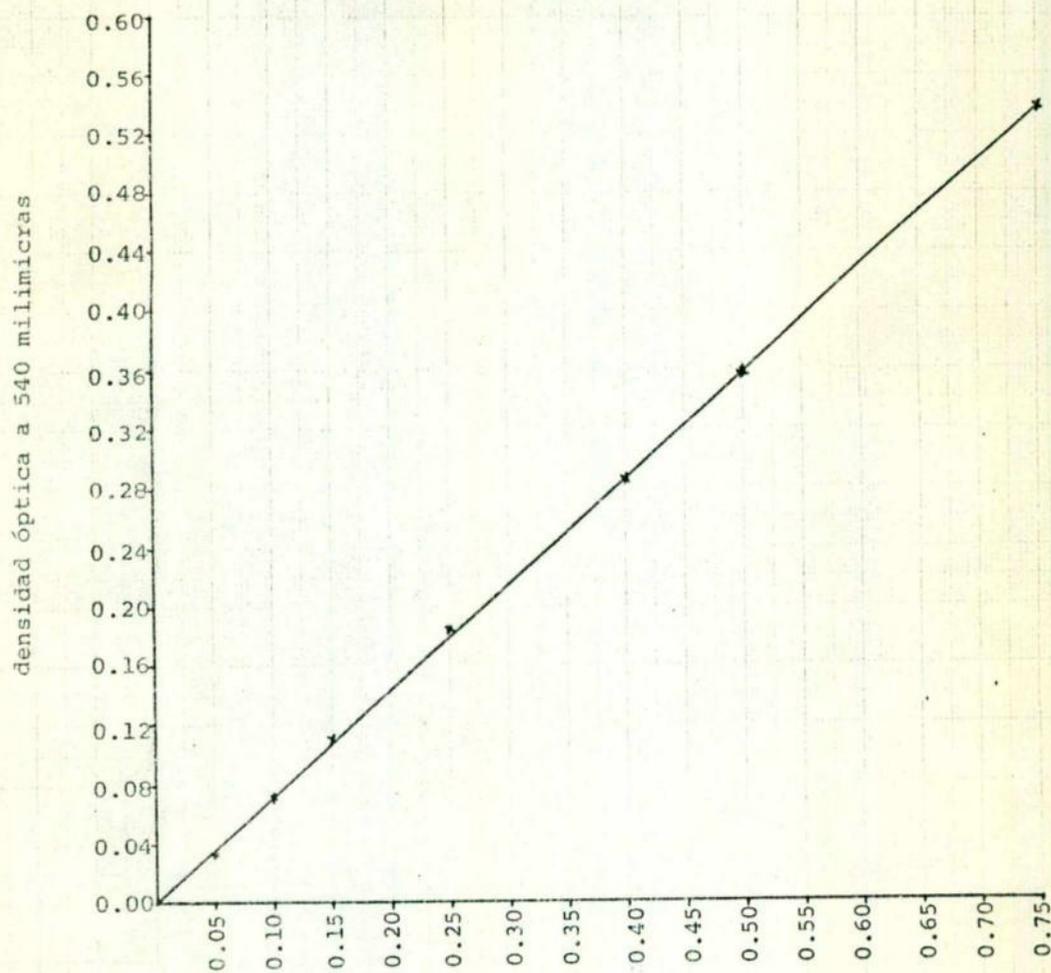


FIG. 4.- Curva de calibración para la determinación de hierro total en sangre total según método de Wong.

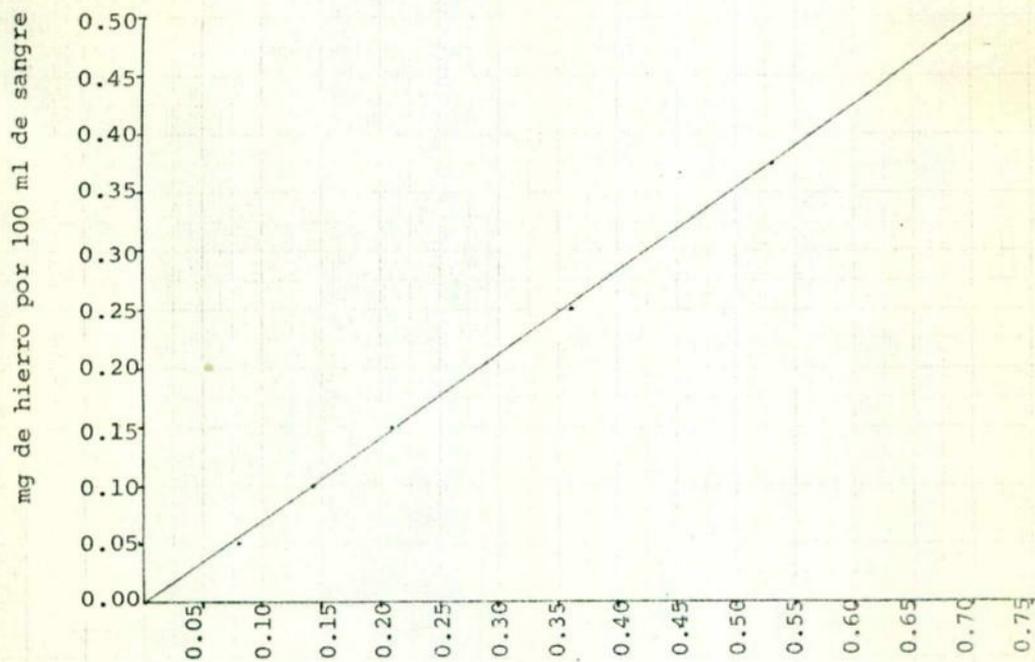


FIG. 5.- Curva de calibración para la determinación de hierro en plasma según el método de Walker.

CAPITULO VI  
RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio, se obtuvieron bajo - los conceptos mencionados anteriormente y se pueden resumir de la siguiente manera:

- 1.- El 55% de las personas analizadas, fueron mujeres y - el 45% fueron varones.
- 2.- Se desecharon las muestras de personas con enfermedades patológicas que de alguna manera influían en el - hierro del organismo.
- 3.- Para obtener un promedio de las cifras normales de - hierro en sangre total y de hierro en plasma, se tomaron en cuenta únicamente las muestras que se encontraron dentro de los límites normales de hemoglobina.
- 4.- Las cifras normales promedio se obtuvieron de la si - guiente manera:

Para obtener la cifras normales promedio del hierro - en sangre total y de hierro en plasma, se dividieron a las personas analizadas en diferentes grupos tomando en cuenta edad y sexo.

El número de resultados obtenidos en cada grupo, se - sumaron y se dividieron entre sí y las cifras obteni-

das, son las que se encuentran en las figuras 6 y 7 para el hierro en sangre total.

Los resultados obtenidos de la concentración de hierro en plasma, son los siguientes:

En hombres, el rango de concentración es de: 0.06 a 0.09 mg por 100 ml de sangre.

En mujeres, es de 0.06 a 0.10 mg de hierro por 100 - ml de sangre.

## CONCLUSIONES

El rango que se obtuvo de la concentración de hierro en sangre total es:

Para varones, 45 a 63 mg de hierro en 100 ml de sangre y para mujeres, de 44 a 54 mg de hierro en 100 ml de sangre

Los valores normales de hierro en sangre dados en los libros de consulta, se apegan bastante a los obtenidos en este estudio, pero como puede observarse, los valores obtenidos en los varones, son ligeramente superiores, lo cual, puede ser debido a que se realizaron en personas que se encuentran en la ciudad de Querétaro, a una altura de 1850 M.S.N.M., pudiendo influir también el medio ambiente la alimentación, el clima, etc.

Según los resultados obtenidos en plasma, se observó que los resultados son poco más bajos que el rango de normas que da la técnica empleada, también se observó que en los hombres, la concentración de hierro en el plasma, es independiente de la edad, en cambio en las mujeres, se observó que conforme aumenta la edad, la concentración de hierro aumenta, pero de los 40 años en adelante disminuye nuevamente desde 0.1 a 0.06. Esto puede deberse a que las necesidades de hierro de la mujer son mayores que las del

hombre dependiendo de la edad por la mensutrucción, embarazo y la lactancia.

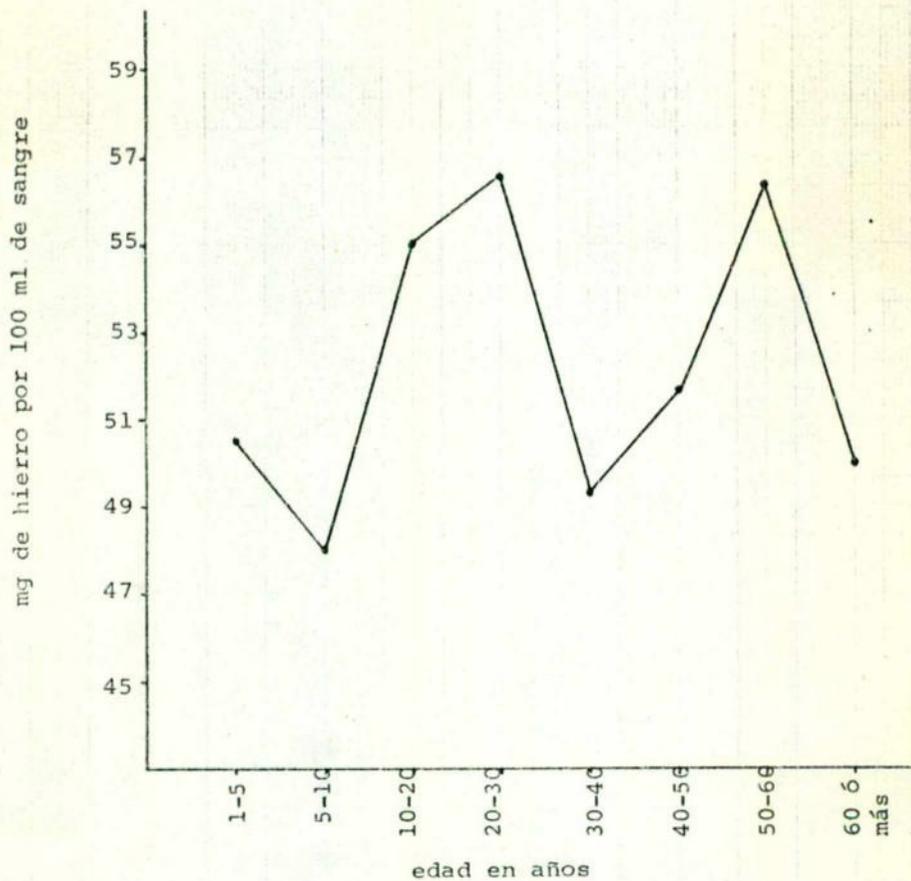


FIG. 6.- Valores promedio obtenidos de hierro en sangre total para las diferentes edades en varones.

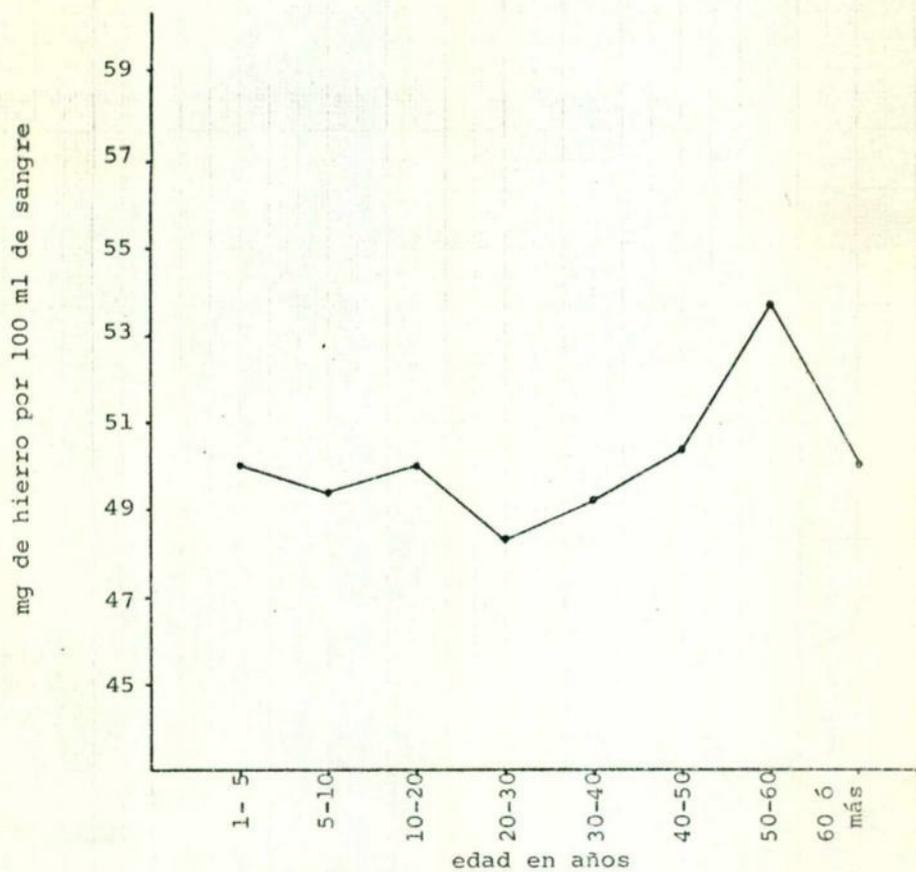


FIG. 7.- Valores promedio obtenidos de hierro en sangre total para las diferentes edades en mujeres

## CAPITULO VII

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Baez Villaseñor José. 1973  
Hematología Clínica  
Librería de Medicina. Cuarta Edición, México, D.F.
- 2.- Hawk - Loser - Summerson. 1949  
Química Fisiológica Práctica  
Editorial Interoamericana S.A. Primera Edición.
- 3.- Kolmer - Spaulding - Robinson. 1964  
Métodos Clínicos de Laboratorio  
Editorial Interamericana S.A. Quinta Edición.
- 4.- Laguna José. 1974  
Bioquímica  
La Prensa Médica Mexicana, México. Segunda Edición
- 5.- Leavell - Thorup. 1973  
Hematología Clínica  
Editorial Interamericana. Tercera Edición
- 6.- Lehninger Albert L. 1974  
Bioquímica  
Ediciones Omega, S.A. Cuarta Reimpresión
- 7.- Levinson - McFate. 1972  
Diagnóstico Clínico de Laboratorio  
Editorial El Ateneo. Tercera Edición
- 8.- Luthardt Franz y S. Edlbacher. 1962  
Tratado de Química Fisiológica  
Colección Ciencia y Técnica, Madrid. Segunda Edición

- 9.- Lynch-Raphael-Mellor-Spare-Inwood. 1972  
Métodos de Laboratorio  
Editorial Interamericana. Segunda Edición
- 10.- Manual Merck. 1965  
Tercera Edición
- 11.- Mc. Gilvery R.W. 1972  
Bioquímica  
Editorial Interamericana. Primera Edición
- 12.- Rivero Calderón M. de los Angeles 1976  
Valores Normales de Hemoglobina y Hemotocrito  
Tesis Presentada para obtener el Título de  
Q.F.B. U.A.Q.
- 13.- Tietz Norbet W. DR. 1972  
Química Clínica Moderna  
Editorial Interamericana. Primera Edición
- 14.- Tood-Sanford-I. Davidsohn-J.B. Henry. 1974  
Diagnóstico Clínico por el Laboratorio  
Salvat Editores S.A. Quinta Edición.
- 15.- Staunton West-Todd-Mason-Van Bruggen. 1969  
Bioquímica Médica  
Editorial Interamericana, Cuarta Edición.
- 16.- Wintrobe Maxwell M. 1969  
Hematología Clínica  
Editorial Buenos Aires, Argentina
- 17.- White A.P. Handler, E.L. Smith. 1973  
Principles of Biochemistry  
International Student Edition. Fifth Edition
- 18.- Zilva Joan F. - P.R. Pannall. 1975  
Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment  
Year Book Medical Publishers Inc. Second Edition.