

302927
4
29

Universidad femenina
de México

Universidad Femenina de México

CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA U. N. A. M.

VALOR DE LOS INDICES ERITROCITARIOS Y
PLASMATICOS PARA DETECTAR DEFICIENCIAS
HEMATINICAS EN DONADORES DE SANGRE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO

B I O L O G O

P R E S E N T A

MARIA DEL CARMEN MORALES MACEDO



MEXICO, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	pags.
* INTRODUCCION -----	1
* OBJETIVO -----	3
* ANTECEDENTES -----	4
* PLANTEAMIENTO -----	22
* MATERIAL Y METODOS -----	23
- BIOMETRIA HEMATICA -----	24
- HEMOGLOBINA -----	24
- HEMATOCRITO -----	25
- CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA-	28
- FROTIS DE SANGRE -----	28
- DETERMINACION CUANTITATIVA DE FERRITINA POR ANALISIS INMUNOENZIMATICO -----	30
- DETERMINACION DE PROTOPORFIRINA-ZINC ---	34
- CONTROL DE CALIDAD -----	35
* RESULTADOS -----	37
* DISCUSION -----	66
* CONCLUSIONES -----	79
* BIBLIOGRAFIA -----	82

INTRODUCCION

La observación en el Banco Central de Sangre de personas, que habiendo donado sangre varias veces y que tenían eventualmente elevación de bilirrubina indirecta sin tener una justificación clínica que no fuera el sangrado frecuente, hizo pensar que esto pudiera ser debido a hemólisis por eritropoyesis ineficaz.

Posteriormente, se publicaron varios trabajos entre los cuales destaca el que valora la situación de donadores de sangre que habiendo donado 1,250-1,800 ml de sangre al año (13, 24), frecuentemente tenían cifras de ferritina bajas y de protoporfirina-zinc elevadas.

Por otro lado se ha reportado que en donadores de países desarrollados se observáron reservas de hierro disminuidas aun con un volúmen menor de sangre donado (10, 26).

En nuestro país es bien conocida la deficiencia alimentaria de gran parte de nuestra población, esto puede significar reservas insuficientes de hierro y la preocupación de que donadores con cifras en los límites inferiores normales pudieran estar en esta condición, nos obliga a tratar de identificar la situación real de nuestros donadores

de sangre para plantear una conducta de selección adecuada mediante determinaciones más apropiadas que las actualmente recomendadas (44).

OBJETIVO

Aplicar simultaneamente con los exámenes de laboratorio rutinarios aceptados por la ley general de salud la determinación de ferritina sérica y de protoporfirina-zinc, que adicionados de los índices eritrocitarios y el frotis de sangre, nos permitan identificar personas con reservas de hierro disminuídas que no son detectadas con las pruebas habituales de selección.

ANTECEDENTES

El déficit de hierro es probablemente la causa más frecuente de anemias en el mundo, tanto en los países en vías de desarrollo como en los países industrializados, constituyendo su prevención uno de los mayores problemas de salud pública. La carencia de hierro afecta sobre todo a las mujeres en época reproductiva, como consecuencia de las pérdidas menstruales que suelen ser superiores al aporte, lo que ocasiona un balance negativo de hierro. Tras la menopausia, el nivel de los depósitos de hierro, así como la incidencia de anemias ferropénicas es similar a la de los varones adultos o viejos. (7, 28).

En el organismo normal de los adultos se encuentran de 3 a 4 g. de hierro distribuidos de la siguiente manera: Un 65 % corresponde al hierro de la hemoglobina de los glóbulos rojos cuya función es el transporte de oxígeno. Un 19% del hierro total se encuentra en forma de depósitos como Ferritina ó Hemosiderina. Otro porcentaje corresponde al hierro a nivel tisular, que forma parte de algunas enzimas, así, el 10% del hierro total se halla en forma de mioglobina, el 0.19% en los citocromos, catalasas y peroxidasas y el

5.64% como hierro de enzimas no hémicas. Estas metaloenzimas regulan una serie de procesos oxidativos, hidrolíticos y de transferencia. El hierro está implicado en la respiración tisular, fosforilación oxidativa, metabolismo de las porfirinas, síntesis del colágeno, en la función de los leucocitos, en el crecimiento de los tejidos y en la síntesis y catabolismo de los neurotransmisores. Por último el 0.17% del hierro total corresponde al hierro circulante unido principalmente a la transferrina cuya función es el transporte de hierro. (7, 25).

Ambos iones el ferroso (Fe^{+2}) y el férrico (Fe^{+3}), son insolubles a pH neutro y por lo tanto se requieren sistemas especiales para su transporte y para insertar estos iones en los sitios donde actúan.

Las carnes rojas, el hígado, los riñones, algunas frutas, algunas leguminosas como el frijol o gramíneas como la avena y el trigo, legumbres, melazas y mariscos, son fuentes ricas de hierro. El Hierro de la alimentación se encuentra de manera predominante como ión férrico, fuertemente unido a las moléculas orgánicas. En el estómago, donde el pH es de 4, el hierro puede disociarse y reaccionar con sustancias de peso molecular bajo como fructuosa, ácido

ascórbico, ácido cítrico y aminoácidos para formar complejos que permitirán al Fe^{+3} permanecer soluble en el pH neutro del líquido intestinal. El hierro no se desprende del hem en el estómago sino que es llevado como tal al intestino (25).

En situación normal, existe una pérdida diaria de aproximadamente 1 mg de hierro y una ingestión similar a través de la alimentación. Sin embargo, cuando el aporte es inferior a las pérdidas de hierro o al aumento del consumo (embarazo, crecimiento, etc.), se produce un balance negativo. Como primera consecuencia, el hierro a nivel de los depósitos disminuirá hasta su total desaparición (fase prelatente de la carencia marcial). En esta fase, la absorción del hierro aumenta y desaparece el hierro almacenado en la médula ósea. Si la disminución de hierro continúa, el hierro de transporte disminuye (fase latente). En este momento se puede ver descenso de ferritina circulante, así como de la sideremia y un aumento de capacidad total de fijación de hierro. En la médula ósea se observa una disminución del número de sideroblastos. Si la cantidad de hierro del organismo sigue disminuyendo, se

produce anemia ferropénica, con un descenso de la hemoglobina, microcitosis, etc. y además el hierro a nivel tisular disminuye provocando alteraciones a este nivel. Esto último es quizás lo que causa la adinamia, síntoma muy característico de la ferropenia (7).

Como se mencionó anteriormente, normalmente la pérdida de hierro procedente del organismo se limita a 1 mg/día como resultado de la descamación del intestino y de otras células que contienen hierro. Las mujeres pierden hierro durante la menstruación. El mecanismo por el cual las reservas corporales totales de hierro pueden ser reguladas es la absorción intestinal de este ión, un mecanismo único y precario. En la alimentación ordinaria se ingieren 10 a 20 mg. de hierro cada día, pero de esta cantidad se absorbe menos de 10%. Así, en condiciones normales, muy poco del hierro dietario es absorbido, las cantidades excretadas en la orina son mínimas y una proporción elevada del hierro total del organismo es distribuido de manera continua en diversos circuitos metabólicos. La necesidad mayor de hierro ocurre en la infancia y en la adolescencia; los niños en estas etapas de desarrollo absorben un porcentaje más alto de hierro de los alimentos que los adultos. La deficiencia de

hierro en los niños, adolescentes y mujeres que menstruan puede atribuirse a una alimentación inadecuada. La deficiencia en el hombre adulto puede ser atribuida por lo general a un sangrado substancial. La gestación (en particular las gestaciones repetidas) y las menorragias dan lugar a una sensible disminución de las reservas de hierro, que es todavía más importante cuando el organismo se encuentra en crecimiento y no se ha alcanzado el volumen máximo de sangre. Los datos disponibles indican que la eliminación de hierro por las heces, la orina y el sudor es del órden de 0.5 a 1.0 mg/día (7, 25, 28).

El hierro del hem es absorbido por la célula mucosa intestinal intacta y a continuación el hem es desintegrado y el hierro se libera dentro de la célula. El hierro que no procede del hem es absorbido en el estado ferroso. El Fe^{+2} se absorbe en la célula mucosa del duodeno y del yeyuno proximal y es rápidamente oxidado a Fe^{+3} . El ión férrico es fijado por una molécula intracelular transportadora. Dentro de la célula, la molécula transportadora libera el Fe^{+3} a las mitocondrias y entonces, dependiendo del estado del

metabolismo del hierro en el individuo, se distribuye el Fe⁺³ en proporciones específicas a la apoferritina o a la apotransferrina.

La apoferritina es una molécula con peso molecular aproximado de 500,000, compuesta de 24 subunidades idénticas de PM igual a 18,000. La apoferritina asimila hasta 4,300 átomos de hierro en una sola molécula para formar ferritina, que es la proteína de almacenaje de hierro primaria y de mayor disponibilidad. La ferritina también se produce en las células del parénquima hepático y células reticuloendoteliales de la médula ósea, hígado y bazo. Si la cantidad de apoferritina no es suficiente para mantener ligado el hierro residual, éste se deposita en los tejidos en forma de pequeños gránulos de óxido de hierro designados con el término de hemosiderina. Estas formas de almacenamiento representan un reservorio del hierro fácilmente disponible que puede movilizarse para satisfacer cualquier necesidad homeostática.

La proteína plasmática de transporte de hierro, transferrina (anteriormente conocida como siderofilina), tiene la movilidad electroforética de una globulina beta 1 y se

forma en el hígado; su peso molecular aproximado es de 90,000 y cada molécula puede captar 21 átomos de ión férrico. La vida media de esta proteína es de alrededor de 10 días. Por el contrario, el hierro del reservorio plasmático tiene una vida media de 50 a 120 min. (16)

El hierro es transportado a sitios de almacenaje en la médula ósea y en cierta extensión al hígado en el estado Fe^{+3} , unido a la transferrina plasmática. En estos sitios de almacenamiento, el Fe^{+3} es de nuevo transferido a la apoferritina como una forma de reserva estable pero intercambiable. La ferritina en el sistema reticuloendotelial es una forma de almacenamiento de hierro disponible. No obstante, la ferritina puede llegar a desnaturalizarse, perdiendo subunidades de apoferritina con la subsecuente agregación en micelas de hemosiderina. Por lo general la hemosiderina se observa en condiciones de sobrecarga de hierro, cuando la síntesis de apoferritina y su captación de hierro son máximas. El hierro de la hemosiderina está disponible para la formación de hemoglobina, pero la movilización de este ión es mucho más lenta en la hemosiderina que en la ferritina. El depósito de hierro en la

transferrina plasmática está en equilibrio con las forma de almacenaje del metal, en el aparato digestivo y en el sistema reticuloendotelial.

Aunque la ferritina no se encuentra en plasma, la apoferritina sí y al parecer refleja el monto de los depósitos de hierro almacenado en el sistema reticuloendotelial. En la formación de ferritina a partir de apoferritina interviene primero la fijación de Fe^{+2} a la superficie interna de la cubierta de la apoferritina (48).

Después, esta apoferritina actúa como una ferroxidasa y oxida el Fe^{+2} a Fe^{+3} , el cual entonces se une estrechamente a la ferritina. Para que el hierro sea liberado de este compuesto necesita nuevamente ser reducido de Fe^{+3} a Fe^{+2} .

En los estados de deficiencia de hierro, la capacidad del transportador intracelular de hierro se expande y se absorberá más hierro si está disponible en la alimentación. Aunque las mitocondrias reciban el suministro necesario de hierro, en la célula no se forma ferritina y la mayor parte del hierro es transportado al compartimiento expandido de la apoferritina en el plasma.

En el caso de sobrecarga de hierro, disminuye la

capacidad del transportador intracelular de hierro, por saturación, se forma una cantidad significativa de ferritina en el interior de la célula mucosa, que puede perderse por exfoliación de éstas células. La hormona eritropoyetina, por un mecanismo que aun no se conoce, promueve la rápida transferencia del hierro de la mucosa al compartimiento transferrínico en el plasma. (4, 25).

La transferrina suele determinarse directamente por la cantidad de hierro que pueda captar; dicha cantidad se designa como capacidad total de fijación de hierro (CTFH). La apotransferrina en la circulación generalmente se haya saturada en una tercera parte con hierro; éste se mide mediante su determinación en el suero. La capacidad insaturada de fijación de hierro (CIFH) es la cantidad de hierro adicional que puede captar la transferrina por encima de la que ya forma complejo. Esta relación puede expresarse como $CTFH = CIFH + Fe$ del suero. Otra expresión útil de esta relación es el porcentaje de saturación, que relaciona la cantidad de hierro presente en el suero con la transferrina (CTFH). La fórmula correspondiente a esta relación es:

$$\% \text{ Saturación} = \frac{Fe \text{ sérico} \times 100}{CTFH}$$

El porcentaje de saturación representa un índice mejor de las reservas del hierro que el nivel sérico del hierro por sí sólo, y constituye un concepto clínico útil que, sin embargo, debe describirse siempre conjuntamente con el hierro y la CTFH para una interpretación clínica óptima. En los estados patológicos pueden detectarse aumentos del nivel sérico de hierro en: 1) mayor destrucción que la normal de eritrocitos (anemia hemolítica), 2) alteración de la formación de sangre (envenenamiento por plomo o deficiencia de piridoxina) 3) aumento de la liberación de hierro de las reservas corporales 4) utilización defectuosa del hierro (anemia perniciosa) 5) aumento de absorción. La disminución del nivel sérico del hierro se produce conjuntamente con 1) deficiencia generalizada del hierro (carencia de un nivel suficiente en la dieta), absorción inadecuada o pérdida crónica como resultado de hemorragia o nefrosis y 2) alteración de la liberación de hierro en el sistema retículo endotelial (infección).

Como sabemos, la hemoglobina es una proteína conjugada fácilmente disponible en el cuerpo humano y que realiza una función bien conocida, el "transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos periféricos y el del dióxido de

carbono de los tejidos periféricos de regreso a los pulmones". Totalmente saturada contiene alrededor 1.34 ml de oxígeno por gramo. La masa de eritrocitos en un adulto contiene unos 600g de hemoglobina, capaz de transportar 800 ml de oxígeno. La molécula de hemoglobina se produce en las células precursoras de los eritrocitos (normoblastos).

Una molécula de hemoglobina consta de cuatro grupos de hem y de cuatro cadenas polipeptídicas (2 cadenas α y 2 cadenas β).

Los átomos de hierro ferroso tienen 6 enlaces de coordinación, 4 para los nitrógenos pirrólicos del hem, 1 para el nitrógeno imidazólico de histidina de la cadena globínica y 1 que se une reversiblemente con el oxígeno.

Síntesis de Hemoglobina

Síntesis del Hem: La síntesis del hem se produce en la mayoría de la células corporales, excepto en los eritrocitos maduros, pero sobre todo en los precursores eritroides. La succinil coenzima A se condensa con la glicina para formar un compuesto intermedio inestable, el ácido α -amino- β -cetoalópico, que es descarboxilado rápidamente para dar el ácido α -aminolevulínico (ALA). Esta condensación requiere fosfato de piridoxal (vitamina B₆) y debe tener lugar en las

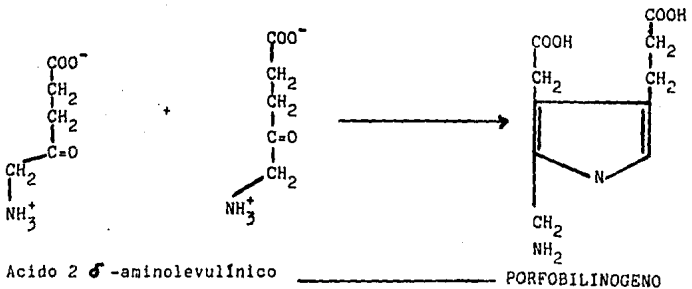
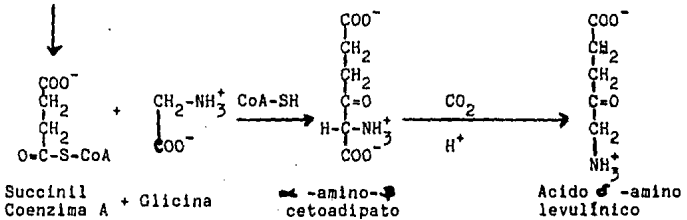
mitocondrias intactas.

El ALA se excreta normalmente por la orina en pequeñas cantidades y su excreción aumenta en ciertas anormalidades de la síntesis del hem. Dos moléculas de ALA se condensan para formar el monopirrol, porfobilinógeno, catalizado por la enzima ALA-deshidrasa. El porfobilinógeno también se excreta normalmente por la orina en pequeñas cantidades. Para formar uroporfirinógeno III o I, reaccionan cuatro moléculas de porfobilinógeno. El tipo isómero III se convierte por la vía del coproporfirinógeno III y protoporfirinógeno, en protoporfirina. La protoporfirina se suele encontrar en los eritrocitos maduros. En las anormalidades de la síntesis del hem pueden aumentar los niveles de protoporfirina eritrocitaria libre.

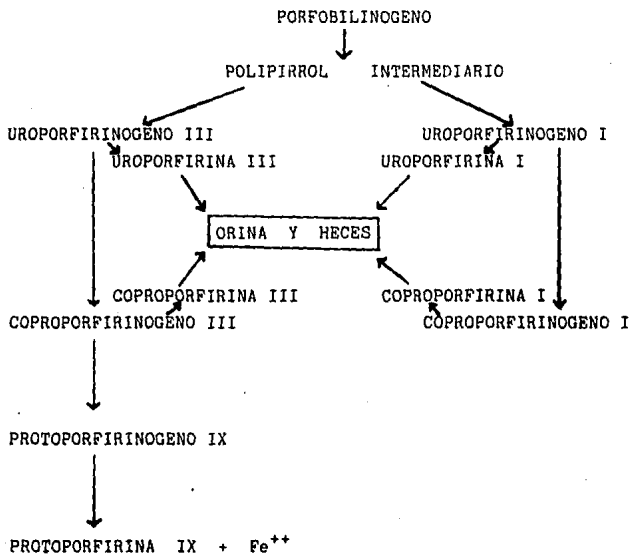
El hierro se inserta en la molécula de protoporfirina mediante la enzima mitocondrial ferroquelatasa para formar la molécula de hem completa.

= FORMACION DE PORFOBILINOGENO A PARTIR DE
SUCCINILCOENZIMA A Y GLICINA =

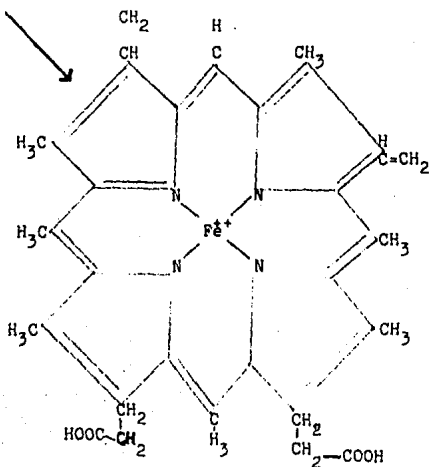
Del ciclo del
ácido tricarboxílico



= FORMACION DEL HEM A PARTIR DEL PORFOBILINOGENO =



" H E M "



Síntesis de la Globina: La síntesis de la globina se produce en el citoplasma de los eritroblastos y de los reticulocitos. Según la doctrina prevalente de la síntesis protéica, las cadenas de polipéptidos (que constituyen la parte protéica de la hemoglobina) se originan en los ribosomas, situados sobre todo en el citoplasma de la células jóvenes de la serie eritroide. Las pequeñas moléculas específicas de sRNA (RNA soluble) se unen a cada aminoácido y determinan el lugar de este aminoácido de acuerdo con el código en el mRNA (RNA mensajero). El crecimiento progresivo de la cadena de polipéptidos empieza en el grupo amino final. Ya que el reticulocito puede sintetizar la hemoglobina durante algunos días después de perder su núcleo, parece que para la hemoglobina el RNA mensajero es estable. Es probable que las cadenas de polipéptidos de globina formadas en el polisoma se doblen espontáneamente en sus configuraciones tridimensionales.

No se ha dilucidado enteramente el control de la síntesis de la hemoglobina, pero se ha mostrado que la hemina inhibe la síntesis del hem (probablemente en la fase de ALA-sintetasa) y tanto la hemina como el hierro aumentan la síntesis de la globina.

Como mencionamos anteriormente de manera general, la principal función de la hemoglobina es el transporte de oxígeno de los pulmones hacia los tejidos, presentandose la tensión del oxígeno elevada en los pulmones y baja en los tejidos. A una tensión de oxígeno de 100 mm de Hg en los capilares pulmonares, el 95 a 98% de la hemoglobina se combina con el oxígeno. En los tejidos, donde la tensión del oxígeno puede descender hasta 20 mm de Hg, el oxígeno se disocia fácilmente de la hemoglobina; en este caso menos de un 30% del oxígeno puede permanecer combinado con la hemoglobina.

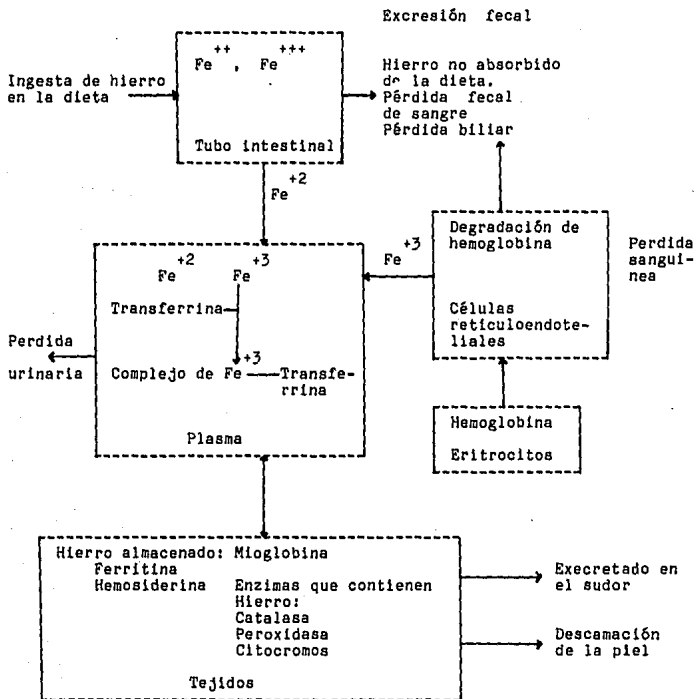
La hemoglobina (Hb) reducida es hemoglobina con hierro no asociado al oxígeno. Cuando cada grupo hem se asocia con una molécula de oxígeno, la hemoglobina corresponde a oxihemoglobina (HbO_2). Tanto la Hb reducida como en la HbO_2 el hierro permanece en estado ferroso. Con el hierro oxidado al estado férrico se forma metahemoglobina (hemoglobina; Hi) y la molécula pierde su capacidad para transportar oxígeno o dióxido de carbono.

Puesto que el hem se forma por incorporación de hierro a la protoporfirina IX y si el hierro se encuentra ausente, la protoporfirina eritrocitaria aumenta. Quedándose el anillo

del tetrapirrol sólo por la falta de hierro, posteriormente el lugar del hierro es ocupado por el zinc formando de esta manera el complejo protoporfirina-zinc el cual puede ser determinado por un método directo (Hematofluorómetro).

(4, 25, 50)

Esto ocurre cuando no hay suficiente hierro para la síntesis de hemoglobina; ferropenia o cuando no se incorpora por intoxicación por plomo o por alteración de la eritropoyesis por carencia de ácido fólico o vitamina B 12. (16)



Interrelación en la homeostasis del hierro

PLANTEAMIENTO

Realizar estudios rutinarios de selección del donador: hemoglobina, hematocrito y otros para identificar la situación de sus reservas de hierro: ferritina y protoporfirina-zinc, en un grupo de donadores familiares de los enfermos y en donadores habituales.

La comparación de los resultados de estas determinaciones en ambos grupos nos permitirá distinguir si nuestra hipótesis de trabajo es válida.

HIPOTESIS

Con la determinación de los índices eritrocitarios y la observación del frotis sanguíneo, acompañados de mediciones bioquímicas como ferritina y protoporfirina-zinc, es posible detectar oportunamente en nuestros donadores de sangre, alteraciones tempranas en los eritrocitos, sugestivas de una deficiencia de hierro o de otros hematínicos, aún de carácter leve.

MATERIAL Y METODOS

Este estudio se realizó en el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, con donadores de sangre " habituales " (más de una y hasta cuatro donaciones por año: 900-1,800 ml de sangre respectivamente) y donadores familiares quienes donan una sola vez (450 ml).

La población estuvo formada por un total de 115 donadores: 97 varones de los cuales 59 eran familiares y 38 habituales. La cifra de donadoras estudiadas fue de 18 : 14 familiares y 4 habituales; las edades de ésta población fluctuaron entre los 20 y 60 años de edad.

La relación de la toma de muestras de sangre efectuada a cada donador y de los estudios que se practicaron en ellos, los cuales fueron : 1 tubo con anticoagulante para el estudio de la biometría hemática completa tanto manual como automatizada y para la determinación de protoporfirina-zinc. Y otro tubo sin anticoagulante para la determinación de ferritina sérica.

BIOMETRIA HEMATICA

- HEMOGLOBINA

FUNDAMENTO

La hemoglobina reacciona con el ferricianuro y forma metahemoglobina, la cual con el cianuro de potasio forma cianometahemoglobina, las soluciones de este compuesto son relativamente estables; conservadas en el refrigerador duran, hasta 3 años.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- 2 Tubos de ensaye de 13 por 100 mm.
- 2.- 1 Pipeta de Sahli
- 3.- Solución de Drabkin
- 4.- Celdilla para espectrofotómetro de 12 por 75 mm.
- 5.- Espectrofotometro Coleman Junior II

MATERIAL BIOLÓGICO

4.5 ml de sangre total con anticoagulante

PROCEDIMIENTO

- 1.- Con la pipeta de Sahli se toman 0.020 ml. de sangre previamente homogenizada.

- 2.- Se coloca esta cantidad en 5 ml de reactivo de Drabkin se mezcla por inversion y se deja reposar por 10 min.
- 3.- Se lee en celdilla de 12 por 75 mm. a una longitud de onda de 540 nm. Ajustar a 100 por ciento de transmitancia con solución de Drabkin.
- 4.- Se convierte el porciento de transmitancia en gramos de hemoglobina en 100 ml. de sangre con la tabla de calibración.
- 5.- La tabla de calibración se realiza cuantificando los valores de la solución estándar de Acuglobin de concentración conocida (60.2 mg Hb/100 ml) a diferentes diluciones y posteriormente los resultados obtenidos se anotan sobre papel semilogarítmico para poder así trazar la curva.

VALORES ESTABLECIDOS UNICAMENTE PARA DONADORES DE SANGRE EN LA CIUDAD DE MEXICO (2,240 metros sobre el nivel del mar)
De 14 a 18 g. de hemoglobina/dl

- HEMATOCRITO

FUNDAMENTO

El hematocrito consiste en la separación de los glóbulos rojos y el plasma cuando se centrifuga la sangre a

determinada fuerza centrífuga, el paquete de eritrocitos formado, en por ciento, es el resultado que se informa.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- Tubos capilares para hematocrito sin heparina
- 2.- Lámpara de alcohol
- 3.- Microcentrifuga
- 4.- Aparato de Lucita para lectura

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre total con anticoagulante

PROCEDIMIENTO

- 1.- Se llena con sangre venosa el capilar hasta las dos terceras partes del tubo.
- 2.- Se cierra el extremo más distante a la sangre en la flama mediante un movimiento de rotación.
- 3.- Se centrifuga el tubo en la microcentrifuga 5 min. a 12,000 r.p.m.
- 4.- Lectura de microhematocritos:
Se pone el tubo capilar en el surco del aparato de

lectura haciendo que el extremo inferior de la columna de glóbulos rojos coincida con la línea negra de dicho aparato.

Se gira el disco inferior de manera que la línea de 100% quede abajo de la línea roja del aparato y se sostiene en esa posición.

Por medio del orificio se gira el disco superior para que la línea espiral intercepte el tubo capilar en la interfase plasma-aire. Se giran ambos discos juntos hasta que la línea espiral intercepte el tubo capilar en la interfase glóbulos rojos-glóbulos blancos.

El microhematocrito en milímetros por ciento se lee en el punto de escala que queda abajo de la línea del indicador de plástico.

VALORES ESTABLECIDOS UNICAMENTE PARA DONADORES DE SANGRE EN
LA CIUDAD DE MEXICO (38)

Se consideran valores diferentes de acuerdo al sexo en el hombre el mínimo es de 44 y en la mujer el mínimo es de 42 mm por ciento.

- CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA

Este resultado se obtiene realizando las siguientes operaciones: El valor de la hemoglobina se multiplica por 100 y la cifra obtenida se divide entre el resultado del hematocrito y se obtiene el resultado de la Concentración Media de Hemoglobina.

VALORES NORMALES PARA LOS DONADORES DE SANGRE

De 31 a 37%

- FROTIS SANGUINEO

FUNDAMENTO

Una extensión delgada de sangre en un portaobjetos se tiñe, después se observa con el microscopio la citología hemática completa (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) y se anotan las características y/o anomalías encontradas.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- Cubreobjetos
- 2.- Colorante de Wright
- 3.- Solución amortiguadora para colorante de Wright
- 4.- Microscopio

MATERIAL BIOLÓGICO

Muestra de sangre con anticoagulante

PROCEDIMIENTO

- 1.- En un portaobjetos se hace una extensión de sangre recientemente extraída bien homogeneizada.
- 2.- Se seca perfectamente bien con aire.
- 3.- Se cubre con el colorante de Wright de 3 a 4 min.
- 4.- Se añade el doble de la solución amortiguadora pH 6.4 y se deja actuar la mezcla durante 6 min.
- 5.- Se enjuaga con agua de la llave y se deja secar la extensión.
- 6.- Se observa con objetivo de inmersión (100 X) para anotar las anomalías de cada tipo de células observadas.

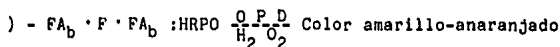
DETERMINACION CUANTITATIVA DE FERRITINA POR ANALISIS
INMUNOENZIMATICO

FUNDAMENTO

Esta prueba es un inmunoanálisis enzimático de fase sólida basado en el principio "sandwich". Las esferas recubiertas con anti-ferritina (FA_b) se incuban con las muestras (estándares y muestras desconocidas) y la anti-ferritina conjugada con peroxidasa de rábano picante ($FA_b : HRPO$). La ferritina presente en la muestra se une a la FA_b en la esfera. La $FA_b : HRPO$ entonces reacciona con el complejo anticuerpo-antígeno ($FA_b \cdot F$) unido a las esferas.

Los materiales no unidos se eliminan lavando las esferas. Las esferas se incuban luego con la solución de sustrato o-fenilendiamina (OPD) que contiene peróxido de hidrógeno. De esta reacción se desarrolla un color y su intensidad (proporcional a la cantidad de ferritina en la muestra) se mide usando un espectrofotómetro colocado a 492 nm.

REACCION



Se obtiene una curva patrón representando gráficamente la absorción (eje Y), frente a la concentración correspondiente (eje X) de los estándares. La concentración de ferritina de las muestras desconocidas, (las cuales son analizadas conjuntamente con los estándares), puede determinarse a partir de la curva patrón.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- Esferas recubiertas de anti-ferritina (obtenida de oveja)
- 2.- Anti-ferritina (obtenida de conejo) : conjugado de peroxidasas (rábano picante) en tampón que contiene un estabilizador de proteína. Concentración mínima de anticuerpo: 0.01 g/ml. Medio de conservación: thiomersal.
- 3.- Estándares de ferritina humana (obtenidos a partir de bazo), 10, 50, 100, 200, 400 y 800 ng/ml en solución salina fisiológica tamponada con fosfatos, con estabilizador de proteína. Medio de conservación: thiomersal.
- 4.- Solución tampón de dilución de muestras, solución salina fisiológica tamponada con fosfatos, con estabilizador de proteína. Medio de conservación: thiomersal.
- 5.- Tabletas de OPD (o-fenilendiamina .2HCl). 12.8mg OPD/tableta.

- 6.- Diluyente para OPD. Tampón de citratos-fosfatos que contiene peróxido de hidrógeno.
- 7.- Acido sulfurico 1N, reactivo para suspender la reacción.
- 8.- Placas con cavidades para ensayo
- 9.- Pipeteadores
- 10.- Rotador clínico
- 11.- Lavador automático (Pentawash)
- 12.- Espectrofotometro

MATERIAL BIOLOGICO

Suero humano

PROCEDIMIENTO

Primera incubación

- 1.- Se pipetea 25 μ l de tampón de dilución de muestras (estándar 0) y de los seis estándares restantes y de las muestras de los pacientes dentro de las cavidades designadas.
- 2.- Se pipetea 300 μ l de anti-ferritina (obtenida de conejo): conjugado de peroxidasa (obtenida de rábano picante) dentro de cada cavidad de ensayo.
- 3.- Se agrega una esfera a cada cavidad.
- 4.- Se incuba en un rotador clínico (agitador) a 180 más menos 10 r.p.m. durante 60 minutos más menos 5 minutos a

temperatura ambiente (15 grados a 30 grados centigrados)

5.- Se lavan las esferas 3 veces.

Desarrollo del color

6.- Se transfieren inmediatamente las esferas a los tubos de ensayo limpios debidamente identificados.

7.- Se pipetea 300 μ l de solución de sustrato OPD dentro de cada tubo y dentro de dos tubos vacíos (blancos de sustrato).

No mezclar

8.- Se cubren e incuban durante 30 minutos más menos 1 minuto a temperatura ambiente (15 a 30 grados centigrados). No girar, ni agitar.

9.- Se agrega 1.0 ml de ácido sulfúrico 1 N a cada tubo . Agitar (vortex).

Lectura

10.- Se ajusta el cero del espectrofotómetro usando un blanco de sustrato.

11.- Se determina la absorción a 492 nm.

VALORES NORMALES

Mujeres 20 - 203 ng/ml

Varones 30 - 278 ng/ml

DETERMINACION DE PROTOPORFIRINA-ZINC

FUNDAMENTO

La medición del complejo protoporfirina eritrocítica con el zinc denominado protoporfirina-zinc, usando un método directo. Se basa en la comparación de la fluorescencia sanguínea con un estándar de un colorante fluorescente estable.

La intensidad de la fluorescencia es proporcional a la cantidad de protoporfirina-zinc presente.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- Cubre-objetos de 22X22 mm
- 2.- Pipetas Pasteur
- 3.- Hematofluorómetro ("front surface illumination" de AVIV associates).
- 4.- Filtros de Rhodamina B.

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre total con anticoagulante

PROCEDIMIENTO

- 1.- Se coloca una gota de sangre en el centro del cubreobjetos (no se requiere volúmen medido).
- 2.- Se somete el cubreobjetos a movimientos circulares manuales, por unos 60 segundos para oxigenar la sangre.

3.- Se coloca el cubreobjetos en el hematofluorómetro para obtener directamente la cantidad de protoporfirina-zinc presente en la muestra.

VALORES NORMALES ESTABLECIDOS PARA LA POBLACION GENERAL

De 0 a 3 μ g/g de hemoglobina.

CONTROL DE CALIDAD

Se llevó acabo un control de calidad periódico en las determinaciones tanto en los índices eritrocitarios como plasmáticos, efectuados a cada uno de los donadores estudiados.

Para la dosificación de hemoglobina, se contó con un control de Acuglobin de concentración conocida (60.2 mg Hb/100 ml), se realizáron los cálculos necesarios y se determinó la precisión del espectrofotómetro utilizado y se trataron de mantener las condiciones de trabajo lo más uniformemente posible en todo el conjunto de determinaciones.

En lo que respecta a la determinación del hematocrito se efectuaron mediciones de muestras con diferentes porcentos de hematocrito a diferentes tiempos de centrifugación y se

realizó la comparación y cálculos necesarios y de esta manera se estableció que todas las mediciones realizadas en lo que respecta a la centrifugación estuvieron en lo correcto.

En la determinación de ferritina sérica se contó con estandares de concentración conocida (10, 50, 100, 200, 400 y 800 ng/ml) contenidos en cada equipo y se efectuó una correlación de los resultados obtenidos en los tres lotes en los que se realizaron las determinaciones, obteniéndose una diferencia mínima interlotes, cuidando siempre las condiciones de trabajo en cada determinación.

En lo relacionado a la medición del complejo protoporfirina-zinc se utilizaron 6 filtros de Rhodamina B como controles, los cuales tenían una concentración conocida y todos estos se utilizaron en cada lote de muestras estudiadas, todos estos datos se analizaron y se sacó la precisión del equipo, siendo éste muy favorable.

RESULTADOS

Los resultados de los estudios practicados se resumen en los siguientes cuadros:

En el cuadro número 1 se observan los valores de hemoglobina en sangre expresados en g/dl en donadores varones: 59 donadores familiares y 38 donadores habituales, apreciandose que 12 donadores tuvieron valores de hemoglobina por abajo del límite inferior de lo normal, asumiendo que por la variación del método (24, 38, 40), todos los que tienen cifras inferiores a 14g de hemoglobina pueden considerarse como anormales, de los 12 donadores así considerados, 10 corresponden a donadores habituales y sólo 2 a donadores familiares.

La cifra promedio de hemoglobina obtenida, fue de \bar{X} = 15.7 con una desviación estándar de S = 1.50; de acuerdo con los valores calculados para este grupo de donadores, solamente aquellos que tienen menos de 12.7 g de hemoglobina/dl (tomando en cuenta el valor promedio \bar{X} menos $2 S$), pudieran considerarse francamente anémicos.

Los valores de hematocrito de donadores familiares y habituales se pueden observar en el cuadro número 2, donde 16 donadores salen del límite inferior normal de 44 mm % lo que corresponde a donadores anémicos de acuerdo a la literatura (38), de éstos 16 donadores, 12 corresponden a donadores habituales y sólo 4 a familiares, el promedio obtenido fue de $\bar{X} = 48.3$ y su desviación estándar de $S = 4.1$. De acuerdo a los cálculos realizados para esta población, los donadores que tienen valores inferiores a 40 mm % (tomando en cuenta la \bar{X} menos 2 S) se consideran francamente anémicos.

En las figuras 1 y 2 se muestran los histogramas correspondientes a valores de hemoglobina y hematocrito en los donadores varones, observandose una mayor tendencia de estos parámetros hacia los límites inferiores a lo normal en los donadores habituales, (hemoglobina 18.4 % y hematocrito 13.1 %), en contraste con los donadores familiares en los cuales para ambos parámetros su porcentaje fue de 0 %, ya que ninguno se encontró en los límites inferiores a lo normal.

CUADRO No. 1

Valores de los niveles de hemoglobina en sangre de donadores varones familiares y habituales.

Cifras normales de 14 a 18 g/dl.

No. de Donadores	Donadores		Rango de de hemoglobina g/dl en sangre
	Familiares	Habituales	
2	0	2	10.1 - 11
2	0	2	11.1 - 12
3	0	3	12.1 - 13
5	2	3	13.1 - 14
18	8	10	14.1 - 15
16	9	7	15.1 - 16
44	35	9	16.1 - 17
6	5	1	17.1 - 18
1	0	1	18.1 - 19
Total			
97	59	38	

CUADRO No. 2

Valores del hematocrito en sangre de donadores familiares y habituales.

Cifras normales mínimo de 44 mm %.

No. de Donadores	Donadores		Hematocrito en mm %
	Familiares	Habituales	
1	0	1	33 - 35
3	0	3	36 - 38
1	0	1	39 - 41
11	4	7	42 - 44
16	6	10	45 - 47
32	24	8	48 - 50
29	22	7	51 - 53
3	3	0	54 - 56
0	0	0	57 - 59
1	0	1	60 - 62
Total			
97	59	38	

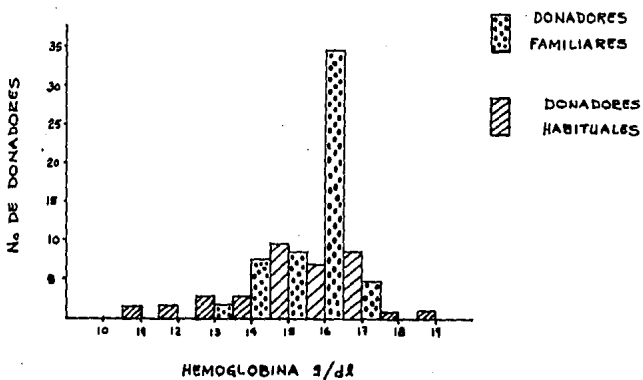


FIGURA No. 1

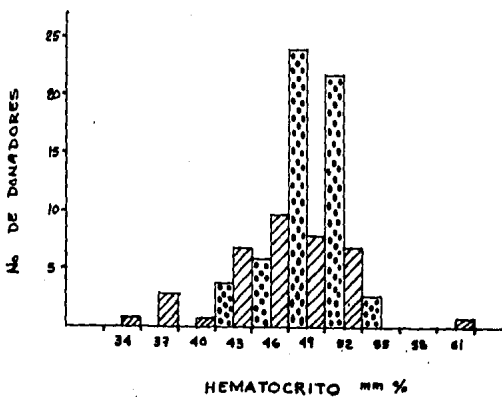


FIGURA No. 2

La concentración media de hemoglobina en donadores familiares y habituales separados respectivamente se muestra en el cuadro número 3. 13 donadores se encontraron abajo del límite inferior establecido 31 %, 7 donadores corresponden a los habituales y 6 a los familiares. El promedio obtenido fue de $\bar{X} = 32.4$ con una desviación estándar de $S = 1.2$, por lo que aquellos que estén por debajo de 30% serán francamente hipocrómicos.

La figura No. 3 muestra claramente los resultados obtenidos, observándose las tendencias tanto de los donadores familiares como habituales y cuales caen dentro de los considerados como hipocrómicos.

De acuerdo con otros autores (1) y la técnica empleada en este trabajo, las cifras de ferritina para varones fueron de 30 a 278 ng/ml, encontrándose 39 donadores abajo del límite inferior normal, lo que corresponde a un 40.2 % del total de donadores estudiados, de los cuales 28 son habituales y 11 familiares. El valor promedio de la determinación de ferritina en el número total de donadores fue de $\bar{X} = 73.6$ y una desviación estándar de $S = 68.7$. Estos datos se muestran en el cuadro No. 4.

El histograma que muestra la concentración de ferritina

en suero de nuestros donadores estudiados se ve en la figura No. 4, donde se observa que entre los individuos que tienen niveles menores a 30 ng/ml de ferritina sérica, la mayoría son donadores habituales, lo que corresponde a un 71% , (28 de 39).

CUADRO No. 3

. Estudio de la concentración media de hemoglobina (CMH) en donadores familiares y habituales.

Cifras normales de 31 a 37 %.

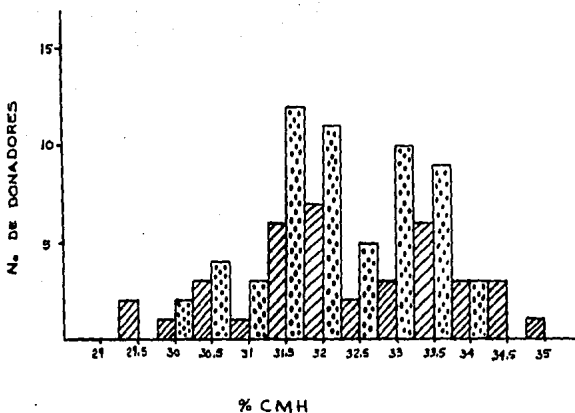
No. de Donadores	Donadores		Rango de CMH
	Familiares	Habituales	
2	0	2	29.1 - 29.5
1	0	1	29.6 - 30.0
5	2	3	30.1 - 30.5
5	4	1	30.6 - 31.0
9	3	6	31.1 - 31.5
19	12	7	31.6 - 32.0
13	11	2	32.1 - 32.5
8	5	3	32.6 - 33.0
16	10	6	33.1 - 33.5
12	9	3	33.6 - 34.0
6	3	3	34.1 - 34.5
1	0	1	34.6 - 35.0
Total			
97	59	38	

CUADRO No. 4

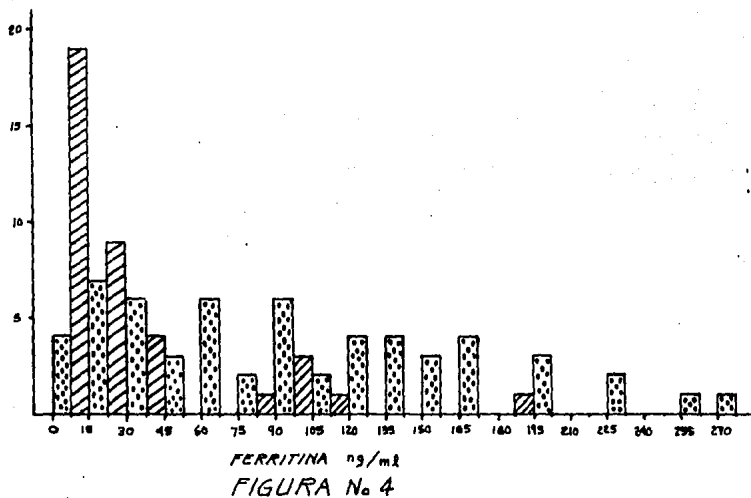
Cuantificación de ferritina en suero en donadores familiares y habituales.

Cifras normales de 30 a 278 ng/ml.

No. de Donadores	Donadores		Ferritina en ng / ml
	Familiares	Habituales	
23	4	19	0 - 15
16	7	9	16 - 30
10	6	4	31 - 45
3	3	0	46 - 60
6	6	0	61 - 75
3	2	1	76 - 90
9	6	3	91 - 105
3	2	1	106 - 120
4	4	0	121 - 135
4	4	0	136 - 150
3	3	0	151 - 165
4	4	0	166 - 180
1	0	1	181 - 195
3	3	0	196 - 210
0	0	0	211 - 225
2	2	0	226 - 240
0	0	0	241 - 255
1	1	0	256 - 270
1	1	0	271 - 285
Total	58	38	



% CMH
FIGURA No 3



FERRITINA ng/ml
FIGURA No 4

En estudio previo de los valores de protoporfirina-zinc, se observó el reemplazo del hierro por el zinc en el anillo protoporfirínico en la síntesis del hem, para este metabolito se establecen valores normales de (0-3 μ g/g de Hb) (31, 42, 43).

En el cuadro número 5 se muestran 12 donadores que resultaron con cifras por arriba del límite superior establecido para varones (3 μ g/g de Hb): 9 donadores en el grupo aquí estudiado fueron habituales y 3 donadores familiares.

El promedio obtenido fue de $\bar{X} = 1.8$ y una desviación estándar de $S = 1.2$. De acuerdo a los calculos el límite superior normal de nuestra población de donadores fue de 4.2 μ g/g de hemoglobina (valor \bar{X} menos 2 S) . En la figura No. 5 se analiza el histograma de éste estudio donde se muestra que entre los donadores varones habituales es mayor el número con protoporfirina-zinc alta (4) que en los donadores familiares (1).

CUADRO No. 5

Valores de la cuantificación de protoporfirina-zinc
(PPZ) en donadores familiares y habituales.
Cifras normales de 0 a 3 μ g/g de hemoglobina.

No. de Donadores	Donadores		P P Z g/ g de Hb
	Familiares	Habituales	
8	5	3	0.6 - 1.0
50	38	12	1.1 - 1.5
20	12	8	1.6 - 2.0
2	0	2	2.1 - 2.5
5	1	4	2.6 - 3.0
2	1	1	3.1 - 3.5
5	1	4	3.6 - 4.0
0	0	0	4.1 - 4.5
2	0	2	4.6 - 5.0
1	1	0	5.1 - 5.5
0	0	0	5.6 - 6.0
1	0	1	6.1 - 6.5
0	0	0	6.6 - 7.0
0	0	0	7.1 - 7.5
0	0	0	7.6 - 8.0
1	0	1	8.1 - 8.5
Total			
97	59	38	

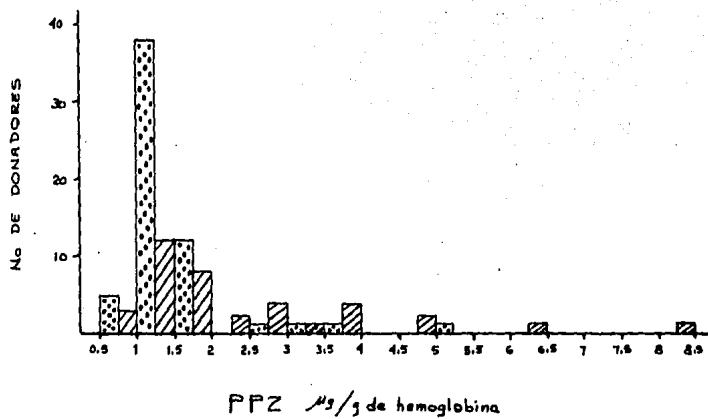


FIGURA No. 5

Respecto a los valores de hemoglobina en sangre de donadoras mujeres, en el cuadro número 6, observamos en 6 de ellas valores inferiores a 13.5 g/dl, 2 son donadoras habituales y 4 familiares, de acuerdo al análisis las donadoras con cifras menores a 12 g/dl de hemoglobina serán consideradas como anémicas tomando en cuenta lo establecido por otros autores (29). El promedio de hemoglobina en g/dl en el grupo de 18 donadoras fue de \bar{X} = 14.4, con una desviación estándar de S = 1.2 .

Respecto al hematocrito, 6 donadoras también se encontraron por abajo del límite inferior de 42 mm %, repitiéndose nuevamente el fenómeno de la hemoglobina; 4 donadoras familiares y 2 habituales resultaron abajo del límite normal inferior considerandose anémicas de acuerdo a la literatura. El 33% de las donadoras estudiadas tuvieron valores de hemoglobina y hematocrito por abajo del límite normal, todo lo anterior puede observarse en el cuadro número 7. El valor promedio obtenido del hematocrito fue de \bar{X} = 44.4 y una desviación estándar de S = 3.5. Se observó según los calculos de la media y la desviación estándar que para considerarlas francamente anémicas sus cifras de hematocrito deberán estar por abajo de 37.4 mm % (valor de \bar{X} menos 2 S).

En las figuras No. 6 y 7 se muestran los resultados de los histogramas correspondientes a la hemoglobina y hematocrito de las donadoras mujeres.

CUADRO No. 6

Valores de la determinación de niveles de hemoglobina en sangre de donadoras familiares y habituales.

Cifras normales de 14 a 18 g/dl.

No. de Donadoras	Donadoras		Rango de hemoglobina g/dl en sangre
	Familiares	Habituales	
1	1	0	12.1 - 12.5
1	1	0	12.6 - 13.0
4	2	2	13.1 - 13.5
0	0	0	13.6 - 14.0
3	3	0	14.1 - 14.5
3	2	1	14.6 - 15.0
3	3	0	15.1 - 15.5
1	1	0	15.6 - 16.0
1	0	1	16.1 - 16.5
1	1	0	16.6 - 17.0
Total			
18	14	4	

CUADRO No. 7

Valores del hematocrito en donadoras familiares y habituales.

Cifras normales mínimo de 42 mm %.

No. de Donadoras	Donadoras		Hematocrito en mm %
	Familiares	Habituales	
2	2	0	39
1	1	0	40
3	1	2	41
0	0	0	42
1	1	0	43
0	0	0	44
4	3	1	45
2	2	0	46
1	1	0	47
1	1	0	48
1	1	0	49
2	1	1	50
Total			
18	14	4	

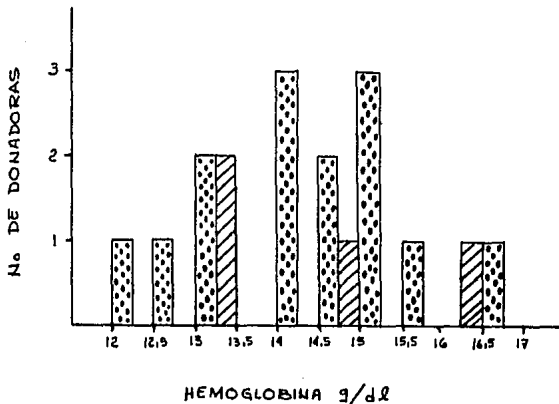


FIGURA No 6

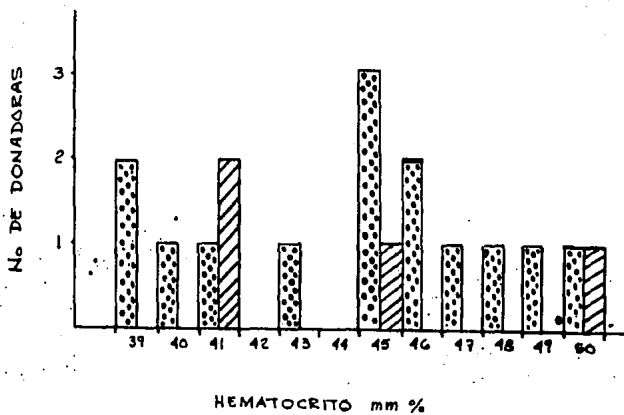


FIGURA No 7

En el cuadro número 8 se muestra la concentración media de hemoglobina de donadoras de sangre tanto familiares como habituales. El límite inferior establecido para la concentración media de hemoglobina en mujeres donadoras es de 31% según la literatura; únicamente 2 donadoras familiares resultaron abajo de éste límite. El promedio obtenido en nuestros resultados fue de $\bar{X} = 32.5$ con una desviación estándar de $S=0.94$, por lo tanto de acuerdo a los cálculos realizados con los resultados para esta población, el límite inferior será de 30.6 % (valor \bar{X} menos $2S$). La figura No. 8 correspondiente al histograma de la concentración media de hemoglobina, muestra los resultados de las 2 donadoras anteriores que se encontraron abajo del límite normal inferior establecido.

Los resultados desglosados de la dosificación de ferritina en ng/ml se observan en el número 9.

Las donadoras con valores anormales, representan el 39.2 % (9 familiares y 2 habituales), tomando como cifra límite inferior normal de ferritina para mujeres 20 ng/ml. Considerándose depleción de reservas de hierro a cifras menores de esta cantidad.

El promedio obtenido de esta población fue de $\bar{X} = 20.4$

con una desviación estándar de $S = 17.3$.

En la figura número 9 se observa la tendencia de 11 donadoras de sangre que se encuentran abajo de los límites inferiores normales establecidos para éstas.

CUADRO No. 8

Valores de la concentración media de hemoglobina (C M H) en donadoras familiares y habituales.

Cifras normales de 31 a 37 %.

No. de Donadoras	D o n a d o r a s		Rango de C M H
	Familiares	Habituales	
1	1	0	30.1 - 30.5
0	0	0	30.6 - 31.0
1	1	0	31.1 - 31.5
4	4	0	31.6 - 32.0
4	2	2	32.1 - 32.5
2	0	2	32.6 - 33.0
3	3	0	33.1 - 33.5
2	2	0	33.6 - 34.0
1	1	0	34.1 - 34.5
Total			
18	14	4	

CUADRO No. 9

Valores de la cuantificación de ferritina en suero de donadoras familiares y habituales.

Cifras normales de 20 a 203 ng/ml.

No. de Donadoras	Donadoras		Ferritina en ng / ml
	Familiares	Habituales	
6	4	2	0 - 10
5	5	0	11 - 20
3	1	2	21 - 30
2	2	0	31 - 40
1	1	0	41 - 50
0	0	0	51 - 60
0	0	0	61 - 70
1	1	0	71 - 80
Total			
18	14	4	

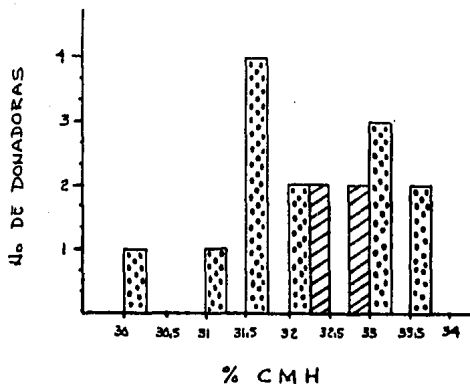


FIGURA No 8

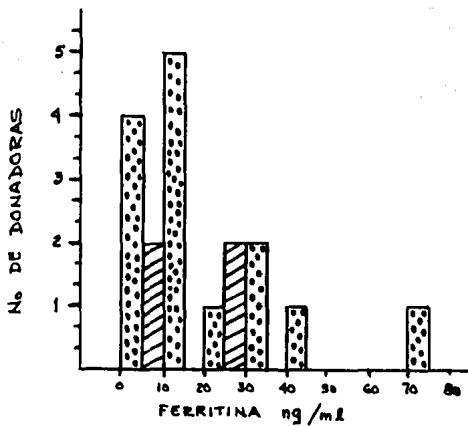


FIGURA No 9

La protoporfirina-zinc en mujeres donadoras de sangre (cuadro número 10) no presentó ninguna anormalidad, ya que todas estuvieron dentro de los límites normales de 0 - 3 μ g/g de hemoglobina, establecidos de acuerdo a la literatura (31), tanto en donadoras habituales como familiares. La media para esta población fue de $\bar{X} = 1.37$ con una desviación estándar de $S = 0.2$. En la figura No. 10 se muestra su histograma correspondiente.

CUADRO No. 10

Valores de la cuantificación de protoporfirina-zinc en donadoras familiares y habituales.

Cifras normales de 0 a 3 μ g/ g de hemoglobina.

No. de Donadores	Donadoras		P P Z μ / g de Hb
	Familiares	Habituales	
4	4	0	0.6 - 1.0
10	9	1	1.1 - 1.5
4	1	3	1.6 - 2.0
Total			
18	14	4	

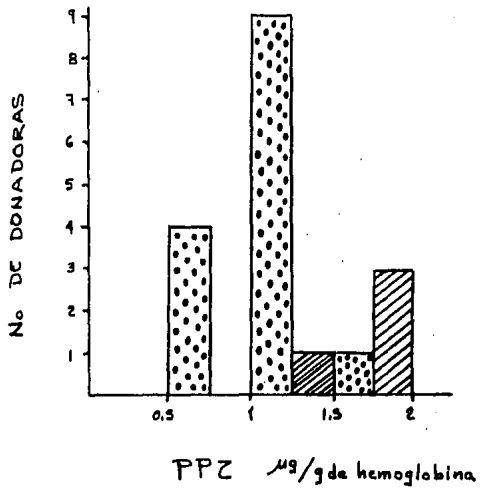


FIGURA No 10

La correlación de frecuencia de donadores varones de sangre con cifras de ferritina por abajo del límite inferior normal tanto en donadores familiares como habituales en relación con su edad, se muestra en el cuadro número 11.

En éste se observó un 25.6% de donadores con este parámetro anormal entre los 36-40 años de edad, dentro del total de donadores anormales, siendo este porcentaje el más elevado de anormalidad. Le sigue un 20.5% correspondiente a donadores entre 41-45 años de edad y un 15.3% entre los 31-35 años.

En el cuadro No. 12 se muestra la misma correlación que en lo anterior sólo que en donadoras mujeres, obteniéndose el mayor porcentaje de donadoras abajo del límite inferior normal en la edad de 31-35 años, lo cual corresponde a un 54.5% dentro de las donadoras anormales.

CUADRO No. 11

Frecuencia de donadores de sangre con cifras de concentración de ferritina por abajo del límite inferior normal tanto en donadores varones familiares como habitual en relación con su edad.

No. de Donadores	Donadores		Edad en años
	Familiares	Habituales	
5	4	1	20 - 25
5	2	3	26 - 30
6	2	4	31 - 35
10	1	9	36 - 40
8	1	7	41 - 45
3	0	3	46 - 50
0	0	0	51 - 55
2	1	1	56 - 60
Total			
39	11	28	

CUADRO No. 12

Frecuencia de donadoras de sangre con cifras de concentración de ferritina en suero por abajo del límite inferior normal, tanto en donadoras familiares como habituales en relación con su edad.

No. de Donadoras	Donadoras		Edad en años
	Familiares	Habituales	
1	1	0	20 - 25
0	0	0	26 - 30
6	5	1	31 - 35
1	1	0	36 - 40
3	2	1	41 - 45
Total			
11	9	2	

CUADRO No. 13

Análisis estadístico de los parámetros de medición realizados a los donadores de sangre estudiados.

PARAMETROS DE ESTUDIO	DONADORES		DONADORAS	
	VARONES (97) \bar{X}	S	MUJERES (18) \bar{X}	S
HEMOGLOBINA	15.7	1.5	14.4	1.2
HEMATOCRITO	48.4	4.2	44.4	3.5
C. M. H.	32.4	1.2	32.5	0.9
FERRITINA	73.6	68.7	20.4	17.3
P. P. Z.	1.86	1.2	1.37	0.26

\bar{X} = VALOR PROMEDIO

S = DESVIACION ESTANDAR

C.M.H. = CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA

P.P.Z. = PROTOPORFIRINA - ZINC

En el cuadro número 14 se muestra la correlación de los resultados de la observación microscópica del frotis de sangre con los valores de ferritina y protoporfirina-zinc.

En los varones no hay una correlación con valores bajos de ferritina o protoporfirina-zinc elevada y las alteraciones observadas, salvo un caso, en el que se encontró hipocrómia clara de los eritrocitos y en este coincide con hipoferremia y protoporfirina-zinc elevada.

En el cuadro número 15 se muestra que en las mujeres tampoco se observa una correlación clara de las alteraciones morfológicas con los valores de ferritina y protoporfirina-zinc, sin embargo, en las mujeres que donan habitualmente, y que tienen trombocitosis, se observa disminución del nivel de ferritina, también se puede apreciar que el valor promedio de ferritina en las mujeres normales donadoras familiares, se encuentra ligeramente por abajo del valor mínimo normal a pesar de que no se observaron alteraciones morfológicas en el frotis.

CUADRO No. 14

Correlación de los resultados de la observación microscópica del frotis de sangre con los valores de ferritina y protoporfirina-zinc en donadores varones de sangre.

	: DONADORES :		: FERRITINA :		: P P Z :	
	FAM	HAB	FAM \bar{X}	HAB	FAM \bar{X}	HAB :
Trombocitosis	9	2	81.4	22.9	1.4	1.2
Trombocitosis Plaquetas gig.	2	1	87.4	3.7	1.2	1.2
Plaquetas gigantes	-	1	-	40.2	-	1.0
Trombocitosis Plaquetas gig. macropolicitos	2	1	80.2	22.5	1.3	2.9
Macropolicitos	1	-	4.5	-	1.2	-
Hipocrómicos	-	1	12.5	-	-	3.9
Normales	45	32	106.5	33.2	1.5	2.4
Total	59	38				

CUADRO No. 15

Correlación de los resultados de la observación microscópica del frotis de sangre con los valores de ferritina y protoporfirina-zinc, en mujeres donadoras de sangre.

	: DONADORAS :		: FERRITINA :		: P P Z :	
	FAM	HAB	FAM \bar{X}	HAB \bar{X}	FAM \bar{X}	HAB :
Trombocitosis	4	2	22.9	12.7	1.3	1.7
Trombocitosis Plaquetas gig.	-	1	-	40.3	-	1.4
Plaquetas gigantes	1	-	3.5	-	1.5	-
Normales	9	1	17.6	23.0	1.3	1.7
Total	14	4				

CUADRO No. 15

Correlación de los resultados de la observación microscópica del frotis de sangre con los valores de ferritina y protoporfirina-zinc, en mujeres donadoras de sangre.

	: DONADORAS :		: FERRITINA :		: P P Z :	
	FAM	HAB	FAM \bar{X}	HAB	FAM \bar{X}	HAB :
Trombocitosis	4	2	22.9	12.7	1.3	1.7
Trombocitosis Plaquetas gig.	-	1	-	40.3	-	1.4
Plaquetas gigantes	1	-	3.5	-	1.5	-
Normales	9	1	17.6	23.0	1.3	1.7
Total	14	4				

DISCUSION

La observación de personas con cifras de hemoglobina en el límite inferior " normal " , hace pensar si efectivamente son normales o no, esto obliga a correlacionar el dato de la hemoglobina con el de ferritina y el de protoporfirina-zinc. Así vimos que hay personas que están en el límite de lo normal con reservas normales, y personas con cifras por arriba de los límites inferiores que tienen ferritina disminuida. En relación con el valor del hematocrito el fenómeno es similar. El nivel del valor de hemoglobina depende de varios factores y no solamente del estado de las reservas de hierro, entre estos factores se conocen: la altitud, algunos factores metabólicos como la acción de algunas hormonas (testosterona) y otros que seguramente influyen como la condición física, es decir la capacidad ventilatoria del sujeto.

Cuando se analizaron los resultados de hemoglobina y hematocrito en los grupos estudiados resultó que en los varones aun considerando la cifra de 12.7 g/dl, calculada a partir de los resultados, $[\bar{X} = 15.7 \text{ g/dl menos } 2 \text{ S } (3)]$ y para el hematocrito de 40 mm %, $[\bar{X} = 48.4 \text{ mm\% menos } 2 \text{ S}]$

(8.4)] , y en las mujeres para la hemoglobina de 12 g/dl [\bar{X} = 14.4 g/dl menos 2 S (2.4)] y hematocrito de 37.4 % [\bar{X} = 44.4 % menos 2 S (7)] , cuando se relacionaron con los valores de ferritina como se pudo observar en los cuadros correspondientes hay un número importante de personas en las cuales se encontraron valores de ferritina menores al límite " normal " inferior, es decir, que incluso teniendo cifras de hemoglobina y hematocrito dentro del rango normal considerando dos desviaciones estándar en lugar de una como es lo habitual, tienen evidencia de reservas disminuídas de hierro.

Se distingue claramente que los valores bajos de ferritina son frecuentes, tanto en las mujeres (39.2 %) como en los varones (40.2 %), con valores de hemoglobina en la tercera parte de los varones y más de la tercera parte en las mujeres dentro de lo normal; en el grupo de varones se distinguen aquellos con valores normales de hemoglobina y hematocrito con niveles bajos de ferritina (promedio de \bar{X} = 16.6 ng/ml) y aquellos con valores de hemoglobina y hematocrito bajos y concentración de ferritina baja (\bar{X} = 8.55 ng/ml), siendo esta diferencia significativa.

Es probable que la amplia variación de los niveles de

ferritina en suero, refleje la dinámica continua del hierro en los varios sitios en que se ubica o se requiere; esto explica en parte (pool lábil del hierro) valores menores de ferritina en suero en las mujeres en quienes por razón natural hay una movilización continua del metal.

Cuando se mide la ferritina contenida en el eritrocito se ha observado que los niveles en éstos son normales e incluso con niveles séricos por debajo del límite inferior normal, en este caso, la prioridad de la hemoglobina en la síntesis de proteínas, moviliza el hierro.

En personas en las que, en este trabajo, se encontró anemia y niveles bajos de ferritina sérica, es probable que los niveles de ferritina eritrocítica estén disminuídos.

En más del 60 % (8 de 12) de los donadores cuya cifra de hemoglobina, hematocrito y ferritina se encontraban por debajo de los límites inferiores normales, se obtuvieron valores de protoporfirina-zinc elevados, 6 son donadores habituales y 2 son familiares; de los que tienen cifra de hemoglobina y hematocrito normales (4), ferritina baja y protoporfirina-zinc alta, 3 son habituales y sólo uno donador familiar.

Tal parece que el valor elevado de protoporfirina-zinc

guarda correlación con la anemia en los varones, sin embargo, la observación de 4 varones con cifras normales de hemoglobina, hematocrito y cifra alta de protoporfirina-zinc invalidaría esta acepción, no obstante, el dato de que 6 de 8 donadores varones anémicos y 3 de 4 sin anemia correspondan al grupo de donadores habituales, nos obliga a pensar que la protoporfirina-zinc elevada en este grupo, proviene de la eritropoyesis acelerada por donación repetida de sangre. Podemos suponer que en estos casos la ferritina eritrocítica está también baja y ante la síntesis acelerada de hemoglobina, da lugar a un exceso de protoporfirina carente de hierro.

En trabajos previos (13, 26) se plantea que en donadores varones los niveles bajos de ferritina se observan cuando la persona ha donado más de 1,200 ml al año (3 donaciones o más al año), en estos trabajos no se hizo simultáneamente la determinación de protoporfirina-zinc (35).

Llama la atención que las dosificaciones de protoporfirina-zinc hayan estado elevadas en los varones y no en las mujeres. Uno de los motivos de este trabajo fue precisamente el darle el valor a la protoporfirina-zinc como detector de deficiencia de hierro, como lo establecen

algunos autores (43). Esta bien establecido que en las mujeres la deficiencia de hierro es muy frecuente y sin embargo, en este, trabajo no se observó en ellas aumento de protoporfirina-zinc, probablemente por el bajo número de donadoras o porque no es frecuente que la mujer done sangre repetidamente, en cambio esto sí ocurre en el varón. En estas circunstancias el aumento de protoporfirina-zinc en el varón es debido a la eritropoyesis ineficaz, a carencia de hierro y de ácido fólico o vitamina B 12, esto requerirá un estudio con evaluación simultánea de protoporfirina-zinc, ferritina, dosificación de ácido fólico y vitamina B 12, correlacionados con los resultados de las citología hemática que permitirían distinguir a los donadores con eritropoyesis ineficaz, y muy probablemente la causa de ésta, con valores aparentemente normales de la serie roja en la citología hemática.

La citología hemática practicada con contador electrónico no dió evidencias que hicieran sospechar la carencia de hierro, esto se fundamenta en los hallazgos comentados:

- 1) Cuando se trató de correlacionar las alteraciones morfológicas observadas en el frotis de sangre con los

valores de ferritina y protoporfirina-zinc no se observó correlación clara de alteraciones morfológicas con valores bajos de ferritina y altos de protoporfirina-zinc (cuadros 14 y 15), salvo en un donador varón habitual, en el cual si coincidió la observación de hipocromia franca con valores bajos de ferritina y altos de protoporfirina-zinc, por lo tanto dado lo costoso que resulta practicar el frotis y observar la morfología y/o dosificar la ferritina, resulta práctica la dosificación de protoporfirina-zinc para detectar a los donadores que tienen ya deficiencia marcial de hierro.

- 2) Personas que con cifras normales de hemoglobina, hematocrito, ferritina baja y valores de protoporfirina-zinc elevados, tampoco muestran las alteraciones morfológicas que pudieran esperarse, por lo tanto se puede inferir una generación de células anormales que son destruidas de inmediato por eritropoyesis ineficaz.

La dosificación única de protoporfirina-zinc como evidencia de individuos con reservas disminuidas de hierro no es factible porque los resultados de este trabajo muestran que no en todas las personas con niveles bajos de ferritina

se encontraron niveles de protoporfirina-zinc elevados.

En vista de que estos niveles se encontraron en donadores habituales es decir que donan más de 2 veces al año, es probable que ésta protoporfirina elevada refleje una eritropoyesis ineficaz por eritropoyesis acelerada.

Llamó la atención que la concentración de hemoglobina, la concentración media de la misma y el volúmen globular medio estuvieran dentro del límite normal en un 40.2%, 33.7% y 35.1% respectivamente para cada parámetro en los varones, figuras 11, 12 y 13 y para las mujeres un 61.1% en la hemoglobina 58.8%, en la concentración media de hemoglobina y un 61.1% para el volúmen globular medio figuras 15, 16 y 17, a pesar de tener cifras anormales bajas de ferritina, esto confirma el concepto de que la síntesis de hemoglobina es prioritaria y que las deformaciones morfológicas de los eritrocitos no aparecen cuando la deficiencia de hierro es "prelatente" (14, 16, 50).

En las figuras 14 y 18 en que se relacionan la protoporfirina-zinc con la hemoglobina en g/dl, sólo en los varones se observó aumento de la primera en presencia de cifras de hemoglobina normales o bajas.

Lo que aparentemente confirma nuestra opinion de que ello es debido a una eritropoyesis acelerada resultante probablemente de la asincronía entre el ritmo de síntesis del hem y la velocidad de recambio de hierro que se incorpora a la molécula de hemoglobina.

FIGURA N. 11

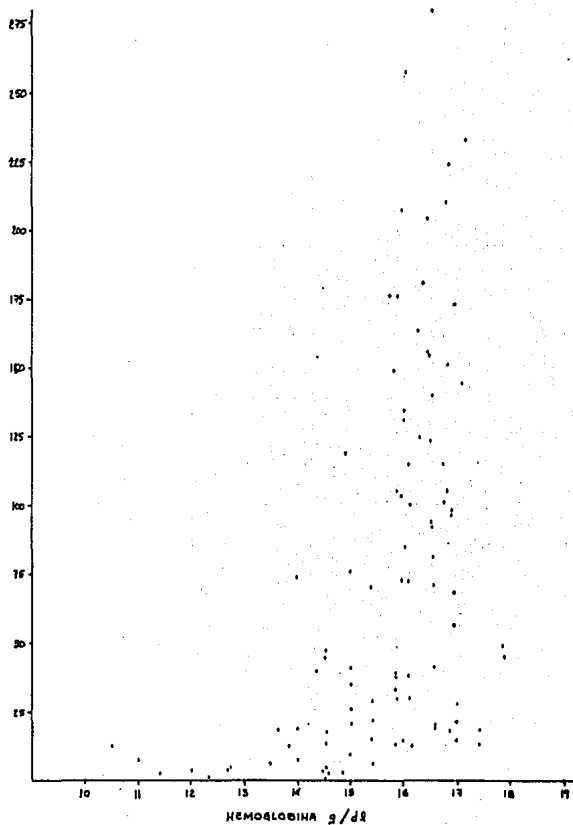


FIGURA N. 12

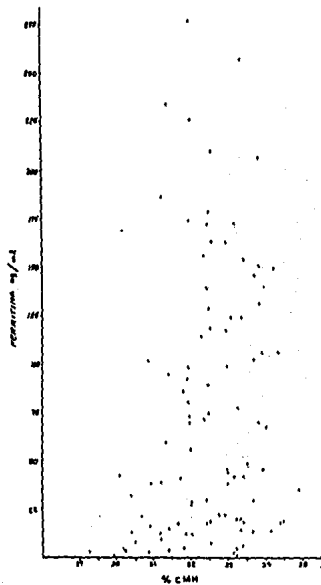
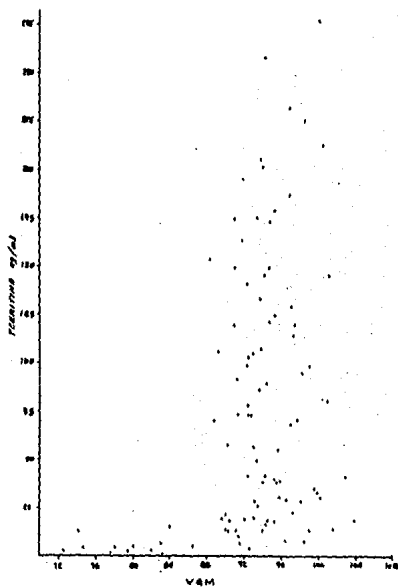
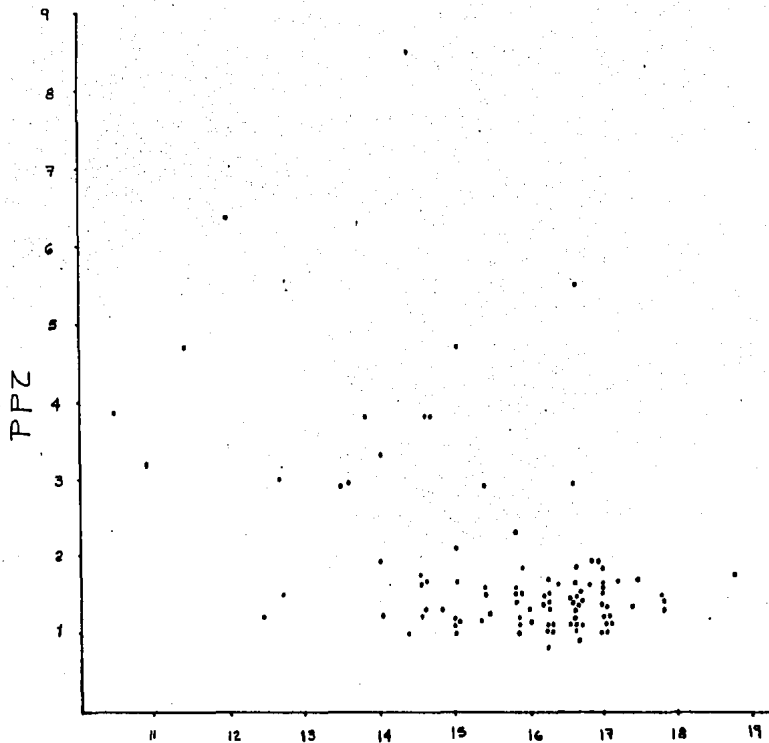


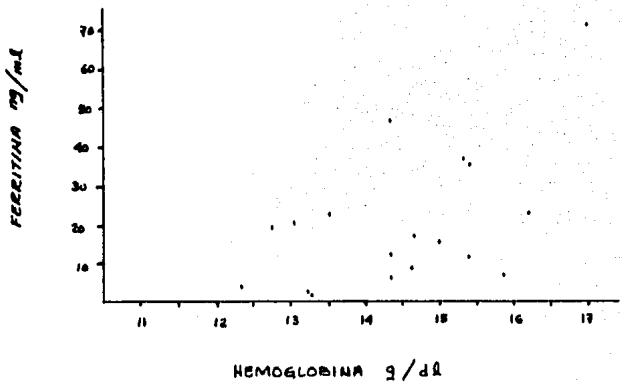
FIGURA N. 13





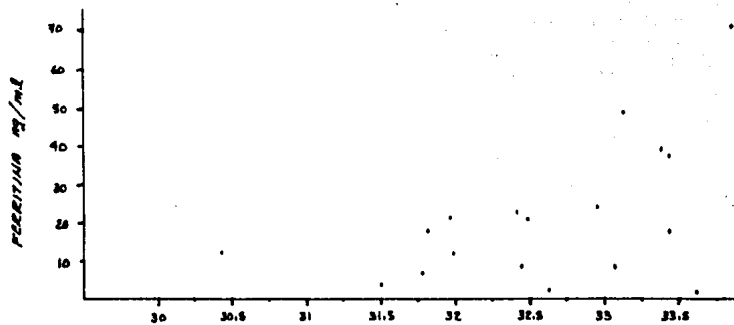
HEMOGLOBINA g/dl

FIGURA No. 14



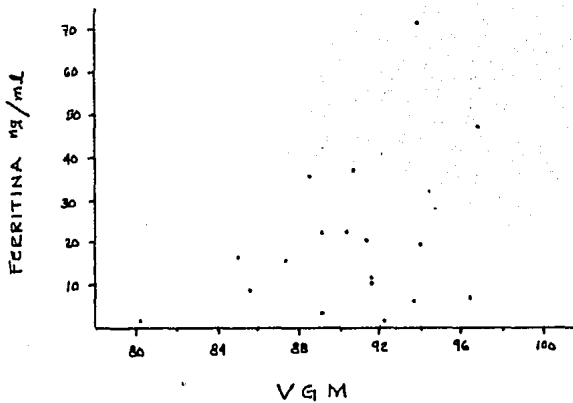
HEMOGLOBINA g/dl

FIGURA No. 15

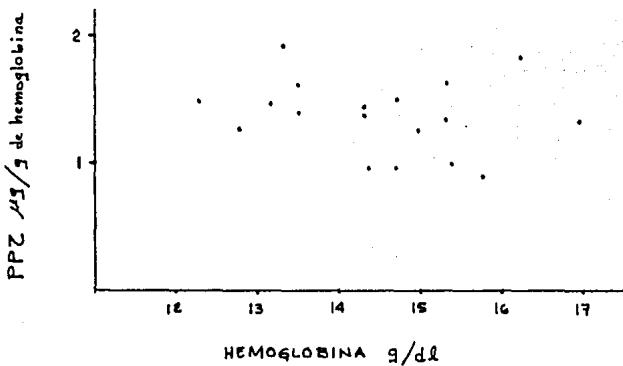


%CMH

FIGURA No. 16



VGM
FIGURA No. 17



HEMOGLOBINA g/dl
FIGURA No. 18

CONCLUSIONES

- 1) La biometría hemática de rutina, no es suficiente para revelar alteraciones que hagan sospechar la disminución de las reservas de hierro, aún considerando los límites inferiores de hemoglobina y hematocrito, obtenidos restando 2 desviaciones estándar a la cifra promedio: para donadores varones una hemoglobina de 12.7 g/dl y un hematocrito de 40 mm % y para las mujeres, una cifra de hemoglobina de 12 g/dl y un hematocrito de 37.4 %.
- 2) La determinación de ferritina sérica es un estudio eficaz para la detección de personas con carencia prelatente y latente de hierro (13), con el inconveniente de que ésta técnica es costosa.
- 3) La observación de elevación en el número de plaquetas y de plaquetas gigantes en los frotis de sangre, si bien es frecuente observarlas en la carencia de hierro y asociada con deficiencia de ácido fólico (50), no resulta de valor práctico su búsqueda, en tanto es más costoso hacer el frotis de sangre que hacer una

dosificación de protoporfirina-zinc en los donadores de sangre, ya que estas alteraciones morfológicas no guardan correlación clara con valores bajos de ferritina o altos de protoporfirina-zinc.

- 4) En este trabajo, se puso en evidencia la antigua observación hematológica (14, 16, 50) de que la síntesis de hemoglobina es prioritaria probablemente aun en situaciones de ingesta insuficiente de proteínas, además de que las alteraciones morfológicas de los eritrocitos, no se presentan hasta que no hay disminución severa de ferritina (deficiencia latente de hierro).

- 5) El estudio de la dosificación de protoporfirina-zinc en los donadores es válido y recomendable, primero por su bajo costo en comparación con la dosificación de ferritina, una vez que se cuenta con el hematofluorómetro y segundo porque cuando el valor de ésta aumenta, refleja ya la eritropoyesis ineficaz que puede ser consecuencia de la carencia de hierro o de una carencia mixta de hierro más fólico proporcionada por sangrias repetidas.

- 6) En vista de que en la población mexicana es conocida la deficiencia alimentaria, para seleccionar donadores de sangre, es indispensable tomar en cuenta sus hábitos alimentarios ya que estos puedan ser sugestivos de ingesta insuficiente de hierro, hecho que ocurre en poblaciones económicamente débiles, como la nuestra. En esta situación, es recomendable los siguientes estudios en orden de menor a mayor costo, además de las dosificaciones rutinarias a partir de hemoglobina y hematocrito: 1o. observación de frotis de la sangre para detectar signos tempranos de deficiencia latente de hierro (trombocitosis, plaquetas gigantes o leucocitos polisegmentados), 2o. dosificación de protoporfirina-zinc y 3o. dosificación de ferritina. Con ellos se garantiza la inocuidad de la donación de sangre y la detección de personas que requieren suministro de sales de hierro u otros hematínicos.

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

1.- ALVAREZ, Xavier, et al.

Ferritina Sérica en mujeres y varones. Valores de referencia.

Rev. Inv. Clin. (Méx) 33: 13-16p. 1981

2.- BAEZ, Villaseñor José.

Hematología Clínica.

6a. ed, 358p. Librería de Medicina eds.

México 1980

3.- BEN-BASSAT, Isaac, et al.

Globin synthesis in Iron-deficiency Anemia.

Blood 44:(4) 551-555 p.

1974

4.- BERNARD, Henry John.

TODD-SANFORD-DAVIDSOHN

Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio.

7a. ed, España, Salvat eds.

2086 p. Tomo I y II 1985

5.- BLUMBERG, J. et al.

Zinc protoporphyrin level in blood determined by a portable hematofluorometer: A screening device for lead poisoning.

J. Lab. Clin. Med. 89:(4) 712-721 p.
1977

6.- BODEMANN, H.H. et al.

Erythrocyte and plasma ferritin in normal subjects, Blood donors and Iron deficiency anemia patients.

Blut 48 131-137 p. 1984

7.- CELADA, Antonio.

Manifestaciones de la anemia ferropénica independientes del síndrome anémico.

Sangre 25:(3) 357-379 p.
1980

8.- COLEMAN, D. H. et al.

Rate of blood regeneration after blood loss.

Arch. Intern. Med. 92 341-349 p.
1953

9.- COOK, James D.

Clinical evaluation of iron deficiency.

Sem. Hematol, 19:(6)

1982

10.- COOK, James D., Clement A. Finch, and Nathan J.

Evaluation of the iron status of a population.

Blood 48:(3)

1976

11.- CHAVEZ, Adolfo.

La Alimentación y los problemas Nutricionales en México.

División de Nutrición, INN. 43 p.

1980

12.- ESKO, Harju. et al.

A comparison between serum ferritin concentration and the amount of bone marrow stainable iron.

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 44 555-556 p.

1984

- 13.- FINCH, A. Clement, Cook J.D., Labbe R.F. y Culala Maria.

Effect of Blood Donation on Iron Stores as Evaluated
by serum ferritin.

Blood 50:(3) 441-447 p.
1977

- 14.- GRUCHY de, G.C. et al.

Clinical Hematology in Medical Practice.

4a ed. 833 p. Blackwell Scientific eds.
Oxford London 1978

- 15.- GREEN, Ralph. et al.

"Normal" Serum Ferritin-A caution.

Blood 50:(3) Sep. 1977

- 16.- HARRIS, W. John.

The Red Cell.

Production, Metabolism, Destruction; Normal and
Abnormal.

482 p. Commonwealth fund eds.
Cambridge, Massachusetts. 1963

17.- HELMUT A. Huebers and Finch A.

Transferrin: Physiologic behavior and clinical implications.

Blood 64:(4) 763-767 p.

1984

18.- HERSHKO, C. et al.

Diagnosis of iron deficiency anemia in a rural population of children. Relative usefulness of serum ferritin, red cell protoporphyrin, red cell indices, and transferrin saturation determinations.

The American Journal of Clinical Nutrition 34

1600-1610 p. U.S.A. 1981

19.- I.M.S.S.

Procedimientos de Laboratorio Clínico.

Subdirección General Médica

México. 519 p. 1978

20.- JACOBS, A., Worwood M.

The biochemistry of ferritin and its clinical implications.

Progr. Hematol. 9 1-24 p. 1975

21.- LEHNINGER, L. Albert.

BIOQUIMICA

2a. ed, España Omega eds.
1117 p. 1985

22.- LIPSCHITZ, D. A., Cook, J.D. y Finch, C. A.

Clinical evaluation of serum ferritin as an index of
iron stores.

N. Engl. J. Med. 290:(22)
1974

23.- LIPSCHITZ, B. et al.

Effect of age on hematopoiesis in man.

Blood 63:(3) 502-509 p.
1984

24.- LORIA, Alvar. et al.

Anemia nutricional I. Valores de serie roja en varones
adultos sanos residentes a 2240 m.s.n.

Rev. Invest. Clin. 23:(1)
1971

25.- MARTIN, W. David. et al.

Bioquímica de Harper.

9a. ed, Manual Moderno eds.

660 p. 1984

26.- MILMAN, N. and Sondergaard M.

Iron stores in male blood donors evaluated by serum
ferritin.

Tranfusion 24 464-468 p.

1984

27.- MONSEN, E. R., Critchlow C.W., Finch C.A. and Donohue D.

Iron balance in superdonors

Tranfusion 23:(3) 221- 225 p.

1983

28.- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

Anemia Ferropénica.

Org. mund. salud Ser. Inf. tecn.

1959

29.- PIEDRAS, Joséfa y Alvar Loria.

Anemia nutricional VII. Valores de serie roja en mujeres nulíparas sanas residentes a 2240 m.s.n.

Rev. Invest. Clin. 30 México

241-246 p.

1978

30.- PIEDRAS, Joséfa. et al.

Diferencia intermétodos de ferritina sérica.

Rev. Invest. Clin. 35 México

185-187 p.

1983

31.- PIEDRAS, Joséfa. et al.

Sensibilidad y especificidad clínicas de protoporfirina eritrocítica en la detección de deficiencia de hierro.

Rev. Invest. Clin. 33 México

343-346 p.

1983

32.- PIEDRAS, Joséfa, et al.

Sensibilidad y especificidad de los índices eritrocíticos en el diagnóstico de deficiencia de hierro en niños y mujeres residentes a tres diferentes altitudes.

Rev. Invest. Clin. 37 México
21-25 p. 1985

33.- PIEDRAS, Joséfa, Córdova Ma. Soledad y Alvarez H. Xavier
Utilidad de algunos parámetros hematológicos en el diagnóstico de anemia por deficiencia de hierro en mujeres y niños.

Bol. Med. Hosp. Infant. 38:(6) México
1981

34.- QUINTANAR, R. Elisa y Rodríguez Moyado Hector.

Estudios sobre características hematológicas, hereditarias en la población mexicana.

Rev. Inv. Cien. 14:(319)
1962

35.- RAFTOS, J., Schuller M. y Louric A.

Iron stores assessed in blood donors by
hematofluorometry.

Transfusion 23 226-228 p.

1983

36.- REYES, Rosa María.

Introducción a los nuevos parámetros hematológicos y
sus aplicaciones en el área clínica.

Coulter Electronics, INC. U.S.A.

1985

37.- RICHTER, W. G.

The Iron-Loaded Cell-The cytopathology of Iron Storage
American Journal of Pathology 91:(2)

363-389 p. 1978

38.- RODRIGUEZ, Moyado Hector y Quintanar de R. Elisa.

Procedimientos básicos para la selección de un donador
de sangre en la Ciudad de México.

Rev. Med. del IMSS 8:(2) 131--142 p.

1968

39.- RONALD, J., et al.

Effect of induced fever on serum iron and ferritin concentrations in man.

Blood 49:(1) 1977

40.- RUIZ, Arguelles Guillermo et al.

Valores de serie eritrocítica en jóvenes sanos residentes en cinco alturas diferentes sobre el nivel del mar.

Agrupación mexicana para el estudio de la hematología A.C. XVIII Jornada Anual Guadalajara Jal. 1-7 p. 1977

41.- SCHAFFRIN, R. M. et al.

The effects of blood donation on serum iron and hemoglobin levels in young women.

Med. Assoc. J. 104 229-230 p. 1971

42.- SCHIFMAN, Ron., and Finley Paul.

Measurement of near-normal concentrations of erythrocyte protoporphyrin with the hematofluorometer: Influence of plasma on "Front-Surface Illumination" Assay clinical chemistry.

27:(1) 153-156 p. 1981

43.- SCHIFMAN Ron. et al.

R B C Zinc protoporphyrin to Screen blood donors
for iron deficiency anemia .

J A M A 248:(16) 2012-2015 p.
1982

44.- SECRETARIA DE SALUD

Reglamento de Bancos de Sangre, Servicios de
Transfusión y Derivados de la Sangre.

1988

45.- SIMON, TL. et al.

Iron stores in blood donors.

J A M A 245 2038-43 p.
1981

46.- SIMON, TL. et al.

Iron supplementation for menstruating female blood
donors.

Transfusion 24 469-472 p.
1984

47.- STANDARDS for blood banks and transfusion services.

American Association of Blood Banks.

7a. ed, 1980 U.S.A.

48.- WALTERS, G.O., Miller F.M. and Worwood M.

Serum ferritin concentration and iron stores in
normal subjects.

J. Clin. Path. 26 770-772 p.

1973

49.- WILLIAM, H. Grosby.

Iron deficiency anemia in a nutritionally complex
situation.

American Journal of Clinical Nutrition 32

715 - 716 p. 1979

50.- WINTROBE, Maxwell M., et al.

Clinical Hematology

8a. ed Lea Febiger eds. 2021 p.

Philadelphia 1981