



19 300627
24
UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**EVALUACION CUANTITATIVA DE HIERRO SERICO Y SU
CAPACIDAD DE FIJACION EN POLIGLOBULICOS
SECUNDARIOS SOMETIDOS A FLEBOTOMIAS
REPETIDAS**

TESIS PROFESIONAL
Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P r e s e n t a:
MA. GUADALUPE MATUTE GONZALEZ

México D. F.

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Este trabajo no hubiera sido posible sin la asistencia técnica y científica de quienes trabajan en el Instituto Mexicano del Seguro Social, en especial en el Banco de Sangre del Centro Médico la Raza.

INDICE

Resumen	
Capítulo I Introducción	1
Objetivos	10
Hipótesis	11
Capítulo II Material y Métodos	12
1.- Material Biológico	12
2.- Material de Laboratorio	14
3.- Fundamentos	16
4.- Métodos	17
Capítulo III Resultados	19
Capítulo IV Discusión	30
Capítulo V Conclusiones	36
Bibliografía	37

RESUMEN

Los pacientes con Poliglobulia Secundaria debida a una Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica han tenido durante mucho tiempo, como único tratamiento, flebotomías periódicas. Sin embargo en estos pacientes se observó que siguen presentando un hematócrito elevado y en la mayoría de ellos una microcitosis hipocrómica, por lo que el objetivo de este estudio es evaluar la administración de hierro oral, para ver si existe una mejoría en la capacidad de fijación y concentración del hierro en el suero.

Estos pacientes se dividieron en dos grupos: aquellos que recibían sulfato ferroso en forma oral aunado con flebotomías y los que siguieron, como único tratamiento, las flebotomías. Estos grupos se compararon con personas que eran aptas para donar sangre, divididas en dos grupos: aquellas que donaban por primera vez y las que eran donadoras habituales. En todos los grupos, se hicieron las evaluaciones de hematócrito, hierro sérico y transferrina. Se confrontaron los cuatro grupos por medio de la prueba de t de Student.

Se concluye que los resultados obtenidos fueron más positivos para los pacientes que recibieron el sulfato ferroso además de las flebotomías, que para los otros

grupos. Ya que el hematócrito de estos se estabilizó en niveles altos normales, trayendo como consecuencia un menor número de sangrías y un mejor aprovechamiento en la capacidad de fijación de hierro, debido a que se incrementó su concentración en el suero.

CAPITULO I

INTRODUCCION

El término "Poliglobulia Secundaria" y su sinónimo "Policitemia Secundaria" son utilizados para designar el trastorno hematológico en el que se aumenta el número de glóbulos rojos circulantes y consecuentemente se manifiesta con un incremento en las cifras del hematócrito más allá de lo normal. Es de hacer notar que esta alteración no se acompaña de modificaciones en el número de leucocitos y de plaquetas (19,41). También ha recibido el nombre de "Eritrocitosis", debido al aumento de la masa eritrocítica.

La policitemia se diagnosticó por primera vez en 1829, por Vázquez (19), pero sin tener una idea exacta de lo que se trataba, de acuerdo a las clasificaciones actuales. En 1878, Bert (40) demostró, que la alteración fisiológica observada a bajas presiones atmosféricas se debía a una disminución en la concentración porcentual del oxígeno en el aire respirado y lo correlacionó además con la Poliglobulia Secundaria de las grandes alturas. A principio del siglo XX se enviaron informes de casos en pacientes que presentaban una o varias características de la enfermedad, encontrando además diversas causas para la misma, lo que motivó que cada una de las descripciones recibiera el nombre del

investigador que lo informara, como es el caso del Síndrome de Gaisböck (3,4); con el tiempo y al hacer una adecuada clasificación de las características y causas de la enfermedad, esa terminología ha caído en desuso. En los últimos años investigadores como Patakas (28) han estudiado el control respiratorio en los pacientes con Poliglobulia Secundaria a enfermedad pulmonar obstructiva crónica, antes y después de someterlos a flebotomías; Flenley (13) ha realizado estudios en condiciones de reposo. Sin embargo, son pocos los investigadores que han estudiado la Poliglobulia Secundaria ya que casi siempre se encuentra asociada a una enfermedad basal "más importante". Entre los investigadores que estudiaron esta enfermedad tenemos a Dormandy (10), Nicolaidis et al (26), Pearson (30), Hutton (18), Stuart y Kenny (35), estos últimos dicen que en el tratamiento de poliglobulicos con repetidas sangrías, se debe tener cuidado para no causar una hiperviscosidad paradójica. Uno de los últimos investigadores más cercanos a nuestros días es Wedzicha que en 1986 hizo un estudio con pacientes poliglobulicos secundarios y sin poliglobulia en donde la reducción del hematócrito en los pacientes poliglobulicos hipóxicos no tuvo efecto en la curva de saturación de oxihemoglobina (39).

En enfermos en donde se encuentran los niveles de

hematócrito o de hemoglobina elevados es necesario determinar si se trata de una Policitemia Relativa o Absoluta (3). Aunque clásicamente se considera que este padecimiento es producido como consecuencia de una enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la cual puede ser resultado del tabaquismo, o por vivir a grandes alturas y a la exposición de agente químicos como el dinitrofenol, el cobalto y otras sustancias tóxicas inhalantes (16,20). Desde su descubrimiento, se trató de investigar el padecimiento por medio de pruebas clínicas y paraclínicas, dentro de estas últimas se encuentra la evaluación o historia natural de la enfermedad y la evaluación por medio del hematócrito. En la práctica médica actual es importante el contar con medios de diagnóstico precisos para poder seguir la evaluación del padecimiento ya que esto permitiría ofrecer al paciente un tratamiento que le ayude a llevar una mejor calidad de vida en vista de que, este padecimiento puede producir otros problemas; una de las complicaciones más frecuente que se presenta en la policitemia es la producción de cuadros de tromboembolia que pueden ser mortales (11); para evitar tales riesgos se debe hacer un diagnóstico precoz y correcto que permita aplicar un tratamiento adecuado tanto de tipo preventivo como correctivo. Las medidas de tipo preventivo son: aplicación de oxígeno suplementario, ejercicios respiratorios y dietas. Dentro de las medidas de carácter

correctivo se encuentran las flebotomías cuyo objetivo principal es el de reducir la masa eritrocítica aliviando a los pacientes de las manifestaciones de plétora sanguínea (rubicundéz, cianosis, disnea, macroglia, etc.) abatiendo las cifras del hematócrito.

Un elemento importante en este padecimiento es el hematfe maduro que posee un gran poder viscoelástico, debido a su morfología y a las especiales propiedades de su membrana citoplasmática, se caracteriza también por su gran flexibilidad y deformabilidad, que le permite circular, sin destruirse, por estrechos capilares de un diámetro incluso tres veces inferior al propio hematfe (1). El control fisiológico del número de eritrocitos circulantes depende de la regulación de la eritropoyesis, y ésta a su vez depende de la capacidad de transporte de oxígeno, ya que la función principal de los eritrocitos es el intercambio de gases respiratorios, es decir oxígeno y bióxido de carbono, entre los pulmones y los tejidos corporales; las reacciones reversibles con el oxígeno se efectúan en el hierro del hem (39). Como ya se mencionó la función del glóbulo rojo es transportar gases respiratorio, por lo que debe haber un número suficiente de eritrocitos circulantes que cubra las necesidades metabólicas del cuerpo. Si hay exceso de oxígeno disponible, el número de hematfes circulantes disminuye (19).

En cuanto al hierro, el cuerpo de un adulto normal contiene alrededor de 3-5 g, la mayor parte de él en forma de hemoglobina. Del resto 0.4 g forma parte de la mioglobina y hasta 1.5 g se encuentra en sustancias de almacenamiento como la ferritina y la hemosiderina; su principal uso es el transporte de oxígeno en la hemoglobina (15). La mayor parte del hierro de la dieta se encuentra en forma férrica (Fe^{+3}) y es necesario que se reduzca a la forma ferrosa (Fe^{+2}) que es la forma que es almacenado y utilizado en la hemoglobina, aunque mantiene una relativa concentración durante toda la vida; es necesario que se establezca un equilibrio entre la absorción y la pérdida durante la vida adulta (5,6). En circunstancias normales las necesidades diarias de hierro son mínimas y varían a lo largo de la vida y de cada sexo. Normalmente se pierde 1 mg. de hierro al día por la piel, orina y es insignificante por heces, células descaídas, principalmente del tracto gastrointestinal, por lo tanto es la cantidad necesaria de reposición en un adulto (27).

El ion 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 ion férrico en proporciones específicas a la apoferritina y a la

apotransferrina. En los vertebrados se desarrolla una molécula compleja llamada transferrina que maneja el transporte interno del hierro entre los sitios de absorción, almacenaje y utilización. La transferencia del hierro de la forma ferritina de almacenaje, como Fe +3, al plasma necesita la reducción a Fe +2 para que pueda ser liberado de la ferritina. El Fe +2 es subsecuentemente oxidado de nuevo a Fe +3 de modo que pueda unirse a la transferrina. El hierro es transportado a sitios de almacenaje en la médula ósea y en cierta extensión al hígado en el estado férrico, unido a la transferrina plasmática. En estos sitios de almacenamiento, el ion férrico es de nuevo transferido a la apoferritina como una forma de reserva estable pero intercambiable (21,34). Sin embargo, la concentración sérica del hierro es muy lábil y se influncia con facilidad por cualquier enfermedad sistémica inflamatoria o neoplásica. La concentración baja de hierro en suero es característica de enfermedad crónica y se debe posiblemente a un metabolismo anormal del hierro fagocítico mononuclear mientras que no guarda relación con descenso alguno en las reservas férricas. El aumento de la capacidad total para ligar hierro o transferrina, es característico de la deficiencia de hierro y puede encontrarse en ausencia de anemia.

La incorporación del hierro a los precursores

eritrocíticos se realiza por dos mecanismos diferentes:

1.- La mayor parte es transportada por la transferrina, la cual se une a los receptores específicos de la membrana celular de los eritroblastos cediendo el hierro al citoplasma de los mismos.

2.- Una pequeña parte del hierro es suministrada a los eritroblastos directamente por la célula a través del mecanismo denominado "rofecitosis".

Una vez en el citoplasma de la célula eritropoyética, una parte del hierro llega directamente a las mitocondrias donde se reduce pasando de férrico a ferroso, incorporándose a la protoporfirina III-9, para participar en la síntesis del hem. El hierro de depósito procede fundamentalmente de la fagocitosis y destrucción de los hematíes envejecidos por la célula de SFM (Sistema Fagocítico Mononuclear), donde es almacenado en forma de hemosiderina y ferritina y será de nuevo cedido a los eritroblasto para la síntesis de hemoglobina, se efectúa fundamentalmente por medio de la transferrina y en menor cuantía directamente por rofecitosis. En individuos normales la médula ósea capta diariamente del plasma alrededor de 100 μmol de hierro por litro de sangre. Esta captación se divide en dos fracciones:

1.- Recambio férrico eritrocitario: Alrededor de 80% de hierro captado por la médula aparece más adelante en

los hematíes maduros circulantes.

2.- Recambio férrico ineficaz: Aproximadamente el 20% del hierro captado por la médula para la síntesis de hemoglobina no es liberado con los hematíes maduros, sino que circula ligado a la transferrina (1,5,21).

En el Centro Médico la Raza, el servicio de hematología del hospital de Especialidades ha canalizado a los pacientes poliglobúlicos al Banco de Sangre para que sean sometidos a flebotomías. No obstante que se pretende realizar un adecuado programa de flebotomías, no es posible llevarlo a cabo por factores relacionados con los pacientes.

Poco es lo que se conoce respecto de los efectos mediatos y tardíos de las flebotomías correctivas, así como del impacto en los cambios metabólicos, principalmente en el del hierro, a pesar de que existen informes en la literatura de alteraciones hematológicas del tipo de anemia hipocrómica (35).

Por lo anterior, se decidió efectuar un estudio en este grupo de pacientes para conocer, si con el empleo frecuente de flebotomías eran susceptibles de ser llevados a un estado carencial de hierro y, por ende, a una estabilización en la masa eritrocítica. También, hay que considerar cuál sería el comportamiento para este grupo de pacientes si, además de las flebotomías,

se les diera un suplemento de hierro para evitar la esperada complicación (14).

OBJETIVOS

- a) Control de pacientes con Poliglobulia Secundaria sometidos a flebotomías.
- b) Control de pacientes con poliglobulia sometidos a flebotomías y administración de hierro oral en forma de sulfato ferroso.
- c) Establecer bases metabólicas en comparación con un grupo - control normal - de donadores voluntarios.
- d) Evaluación en estos grupos, de hierro sérico y transferrina para conocer su estado de reserva de hierro medular.

A) HIPOTESIS

La sangría periódica conduce al paciente poliglobúlico a una microcitosis hipocrómica.

HIPOTESIS NULA

La sangría periódica no conduce al paciente poliglobúlico a una microcitosis hipocrómica.

B) HIPOTESIS

La combinación de hierro por vía oral más flebotomías produce una mejoría en el metabolismo de hierro de los pacientes poliglobúlicos capaces de normalizar niveles de hierro sérico, transferrina y hematócrito.

HIPOTESIS NULA

La combinación de hierro por vía oral más flebotomías no produce una mejoría en el metabolismo de hierro de los pacientes poliglobúlicos capaces de normalizar niveles de hierro sérico, transferrina y hematócrito.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

1 MATERIAL BIOLÓGICO

Criterios de selección de pacientes

El estudio incluyó únicamente pacientes con Poliglobulia Secundaria debida a:

Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, EPOC

Fibrosis pulmonar

Cor pulmonale crónico

Los cuales fueron atendidos en el Banco de Sangre del Centro Médico "La Raza" de julio de 1986 a noviembre de 1987 y que cumplieron con los siguientes requisitos.

Pacientes masculinos entre la tercera y séptima década de la vida con padecimiento ya establecido clínicamente de Poliglobulia Secundaria.

Criterios de eliminación

1.- Pacientes femeninas

2.- Pacientes con Poliglobulia Secundaria debido a otras condiciones como cardiopatías, tumores y otras enfermedades renales, drogas, etc.

De acuerdo a los datos que se obtuvieron de los pacientes éstos se dividen en dos grupos.

a) Poliglobúlicos sin administración de sulfato ferroso, realizando tratamiento exclusivamente con

flebotomías.

b) Poliglobúlicos con administración de hierro, tratamiento con sulfato ferroso aunado a flebotomías.

Para probar eficacia a ambos grupos se les practicaron los siguientes estudios:

Evaluación del hematócrito

Determinación de hierro sérico

Determinación de transferrina, capacidad de fijación de hierro, estableciéndose lo siguiente:

1.- Si el hematócrito es superior al 55%, es necesario realizar una sangría de 450 ml al paciente y se separa una muestra para la determinación del hierro sérico y transferrina. Si pertenece al grupo con tratamiento se le proporciona sulfato ferroso de 60 mg, 3 veces al día durante seis meses citándolo para control cada quince días.

2.- Si el hematócrito es igual a 55%, el paciente sólo se sangra en caso de que presente síntomas clínicos de hipoxia, cianosis, disnea, somnolencia, etc. Se toma muestra para estudio en caso de no sangrarse, y se le da sulfato ferroso según el grupo de tratamiento al que pertenezca, citándole en la forma referida anteriormente.

3.- Cuando el hematócrito es inferior al 55%, solamente se le toma la muestra y se le administra por vía oral

sulfato ferroso en caso de que pertenezca al grupo en estudio, citándole en forma antes descrita.

Se incluyeron dos grupos testigos normales:

a) Personas familiares sanas que por única vez donaban sangre, agrupados en el grupo control 1, $n=35$, las edades de estas personas fueron de 19 a 60 años con un promedio de 40 años.

b) Donadores habituales sangrados de julio de 1986 a julio de 1987, personas sanas pero con repetidas sangrías además de recibir sulfato ferroso después de cada una de ellas. Las edades fueron igual que los donadores familiares, estas personas las agrupamos en el grupo 2, $n=35$.

Se utilizó como material biológico para las determinaciones de hierro sérico y transferrina, suero libre de hemólisis y sangre total con anticoagulante para el hematócrito.

2 MATERIAL DE LABORATORIO

2.1 Vidrio

Tubos de ensayo

Cubetas para espectrofotómetro

Pipetas volumétricas

Tubos capilares para hematócrito

2.2 Aparatos

Espectrofotómetro o fotómetro de filtro

Baño María de 37°C y 45°C

Pipetas automáticas de 0.1 y 0.5 ml

Microcentrífuga

2.3 Reactivos

2.3.1. Hierro Sérico

Agua libre de hierro (desionizada)

Amortiguador, fosfato de sodio 400 mmol/l a pH=5.5

Reactivo de coloración, ácido batofenantrolindisulfónico, sal disódica 0.68 mmol/l, en el mismo amortiguador

Ascorbato de sodio G.P. (en polvo)

Solución patrón de hierro (17.91 μ mol/l)

2.3.2. Transferrina

Agua libre de hierro (desionizada)

Amortiguador, 1 mol/l tris(hidroximetilaminometano) pH=8.3

Solución de reducción, 30 mmol/l p-metilaminofenol sulfato, 162 mmol/l sulfito monosódico.

Reactivo de coloración, 1.7mmol/l ácido batofenantrolindisulfónico, sal disódica

Solución patrón de hierro 2.5 mg/dl

NOTA: Todo el material de vidrio usado en las técnicas debe estar libre de hierro. La cristalería queda libre 15

de hierro colocándola toda la noche en mezcla crómica. Al día siguiente enjuagarlo 12 veces con agua destilada y tres veces con agua libre de hierro y se seca al aire colocándolo boca a abajo sobre el papel filtro limpio.

Toda el agua utilizada en las técnicas debe estar libre de hierro, por lo que se pasa a través de filtros de intercambio iónico hasta dar una conductancia menor de 5 ppm.

3 FUNDAMENTOS

3.1 Hierro Sérico

En el suero, el hierro está unido a la proteína transferrina. En un amortiguador de fosfato débilmente ácido, es separado el hierro, quedando las proteínas séricas en solución. Tras la reducción con ascorbato de sodio se transforma el hierro con un reactivo específico en un compuesto de color rojo y se determina fotométricamente.

3.2 Transferrina

El hierro como ya se dijo está unido a la proteína transferrina. Normalmente, esta proteína está ocupada en un tercio de su capacidad con hierro. Para determinar la capacidad de fijación de hierro un exceso de éste es añadido al suero. Bajo condiciones 16

favorables el hierro es atrapado por la transferrina, llenando todos los sitios de unión en la proteína. Los iones ferrosos que no se unieron son determinados fotométricamente. La diferencia entre el hierro añadido y el hierro no fijado después de la saturación es la capacidad de fijación de hierro en suero, transferrina.

4 METODOS

4.1 Hierro Sérico

Pipetear en tubos de ensayo:

	Problemas	Blanco Suero	Blanco Reactivo
Ascorbato de sodio	2.5 mg	2.5 mg	2.5 mg
Reactivo de coloración	0.5 ml	-	0.5 ml
Amortiguador	-	0.5 ml	-
Agua libre de hierro			0.5 ml
Suero	0.5 ml	0.5 ml	-

Mezclar y tapar los tubos de ensayo y dejarlos 10 minutos en baño maría a 37°C. Después enfriar a temperatura ambiente, medir las absorciones de los problemas contra el blanco reactivo y la absorción del blanco suero contra agua destilada. Máxima absorción 535 nm.

4.2 Transferrina

Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco Suero	Problema	Blanco Reactivo
Suero	0.5 ml	0.5 ml	-
Amortiguador	0.25 ml	0.25 ml	0.25 ml
Sol. patrón	0.5 ml	0.5 ml	-

Mezclar y tapar los tubos, colocarlos en baño maría a 45°C por 10 minutos (aunque puede incubarse a 37°C, obteniendo el mismo resultado).

Sol. de reducción	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Agua libre de hierro	0.1 ml	-	0.5 ml
Reactivo de coloración	-	0.1 ml	0.1 ml

Mezclar y cubrir los tubos, incubarlos en baño maría a 45°C por 90 min (si se incubaron a 37°C anteriormente el tiempo de la segunda incubación es de 180 min). Enfriar a temperatura ambiente y medir la absorbancia del problema contra el blanco reactivo y la absorbancia del blanco suero contra agua destilada. Máxima absorción 535 nm.

CAPITULO III

RESULTADOS

Los resultados para los cuatro grupos estudiados los observamos en las tablas siguientes:

Tabla 1 Donadores familiares

Sujetos	Hto %	Hierro Sérico umol/l	Transferrina umol/l
1	44	8.95	22.82
2	48	11.83	27.38
3	49	14.07	27.83
4	44	16.62	28.64
5	50	13.29	31.23
6	53	15.99	31.23
7	50	18.54	35.35
8	49	14.90	35.53
9	45	14.41	35.62
10	48	14.07	36.15
11	48	17.26	38.03
12	45	10.87	38.93
13	47	12.47	40.27
14	45	19.82	40.36
15	51	22.38	42.06
16	48	17.90	47.61
17	50	20.14	50.65
18	49	11.19	51.64
19	46	7.67	60.05
20	49	12.59	59.24
21	48	9.27	48.47
22	45	23.98	59.66
23	48	13.75	44.74
24	49	13.43	35.05
25	50	10.87	28.34
26	52	19.82	35.05
27	49	15.35	31.32
28	50	25.58	26.85
29	50	19.82	35.80
30	52	10.65	35.80
31	52	16.29	44.75
32	43	14.68	35.80
33	49	14.86	53.70
34	49	23.64	35.80
35	54	16.56	35.80

Tabla 2 Donadores Habituales

Sujetos	Hto %	Hierro Sérico umol/l	Transferrina umol/l
1	50	24.30	37.05
2	48	33.26	40.27
3	49	25.58	45.90
4	48	35.49	30.25
5	48	27.82	26.40
6	51	31.34	23.35
7	53	28.14	49.76
8	50	23.66	53.07
9	47	11.51	38.84
10	45	26.22	26.13
11	49	26.22	40.63
12	45	38.69	24.25
13	45	15.03	32.84
14	48	8.95	41.88
15	44	24.30	42.24
16	45	16.95	36.69
17	48	10.87	46.62
18	46	23.66	26.40
19	47	21.74	26.76
20	47	16.62	34.47
21	46	22.70	25.77
22	50	39.97	20.24
23	50	18.54	36.22
24	55	30.38	33.24
25	49	25.71	34.09
26	52	25.26	46.73
27	54	21.74	40.77
28	45	19.18	33.31
29	50	22.06	20.23
30	48	14.07	30.03
31	49	23.34	34.09
32	43	20.46	39.09
33	50	17.90	35.80
34	45	14.07	35.80
35	50	13.71	44.75

Tabla 3 Pacientes con Poliglobulia Secundaria sin administración de sulfato ferroso.

Sujetos	1 Sangría			2 Sangría			3 Sangría			4 Sangría			5 Sangría			6 Sangría			7 Sangría		
	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.	Hto	H.S.	T.
1	56	2.69	62.65	61	1.40	71.69	60	2.87	62.65	57	5.75	58.91	52	3.38	62.65	57	7.03	80.71	57	3.83	84.52
2	70	4.47	67.98	70	6.59	89.50	65	5.11	82.47	61	8.95	85.54	57	2.55	87.76	58	9.85	71.60			
3	70	7.54	57.41	67	10.55	54.26	61	5.43	62.52	58	6.39	62.67	65	5.22	67.04						
4	60	3.45	62.65	54	2.87	62.65	58	2.55	61.72	56	4.21	62.36	56	3.80	62.80	54	1.79	68.84			
5	57	3.83	69.72	52	4.47	66.62	56	2.74	63.33	56	5.37	67.08	56	2.02	63.28						
6	73	1.27	71.60	64	1.91	62.65	64	3.19	62.65	57	3.70	62.65	65	5.24	61.37	65	2.55	44.74			
7	59	7.67	57.53	56	9.50	54.34	58	8.64	58.97	55	9.40	56.49	50	5.07	62.36						
8	72	8.03	58.71	72	10.48	59.79	70	7.03	70.13	62	3.83	62.36	61	9.59	52.23	58	11.83	67.30	50	7.35	65.87
9	61	3.72	64.55	63	4.21	77.46	54	4.47	80.55	60	4.22	62.86	65	6.26	63.40	65	5.19	63.33			
10	65	13.66	66.77	62	10.48	60.65	60	7.16	68.19	54	6.84	61.79	65	10.77	64.24	57	7.61	46.04			
11	55	1.02	57.53	54	1.52	82.24	54	1.79	87.01	54	1.86	91.90	55	1.52	74.37						
12	60	4.47	84.52	52	2.39	65.84	53	1.90	71.60	56	2.68	77.40	52	1.84	62.65						
13	65	7.57	65.30	60	6.01	50.51	59	4.34	53.54	60	4.55	49.96	59	4.36	50.51						

Hto = hematocrito en %
H.S. = hierro sérico en $\mu\text{mol/l}$
T. = transferrina en $\mu\text{mol/l}$

Tabla 4 Pacientes con Poliglobulia Secundaria con administración de sulfato ferroso por vía oral.

Sujetos	1 Sangría			2 Sangría			3 Sangría			4 Sangría			5 Sangría			6 Sangría			7 Sangría			8 Sangría				
	Hto	H.S.	T.																							
1	57	6.44	68.09	59	5.37	72.09	52	6.08	64.52	53	6.26	53.78	55	7.35	67.76	50	7.67	60.51	52	8.44	60.94					
2	60	3.31	79.96	55	3.73	74.58	57	3.58	67.72	56	4.40	74.98	54	6.85	64.01	52	6.71	99.81	54	4.21	42.54	53	5.24	42.66		
3	58	2.38	61.96	59	2.98	62.80	54	2.68	62.64	55	2.55	68.19	55	3.58	79.54	57	3.80	69.60	52	6.32	79.81	54	9.31	56.99		
4	69	3.15	64.82	65	3.73	58.63	62	5.46	62.68	67	7.65	64.97	58	8.05	57.30	57	8.80	52.63	55	10.74	50.50	54	10.81	36.38		
5	60	3.22	70.16	60	3.88	68.19	59	3.73	58.81	57	6.69	65.30	54	8.95	61.47	55	14.13	54.00								
6	60	6.65	43.31	55	4.85	64.99	54	10.88	53.69	57	11.00	46.53	54	14.07	44.74											
7	56	5.09	58.07	58	6.19	64.57	57	6.89	55.57	52	6.26	65.63	54	8.23	65.93	56	10.24	67.97								
8	64	3.40	51.98	65	3.83	53.52	59	5.43	42.27	63	3.64	62.01	59	5.62	67.12	54	5.22	58.71								
9	59	7.93	54.35	54	8.44	47.98	57	10.28	69.36	57	9.59	87.55	57	10.81	65.87	55	11.31	60.09								
10	59	6.65	64.71	57	5.88	53.25	55	11.76	41.23	59	13.30	52.81	50	6.63	48.58											
11	58	3.58	71.36	57	6.34	80.97	55	4.79	68.41	54	5.37	64.04	52	12.62	67.12	55	10.55	62.23	53	9.59	53.56					
12	60	11.31	65.33	59	11.99	52.42	59	13.34	61.15	56	12.72	89.49	52	13.66	70.13	54	14.13	56.73	53	15.35	65.63					
13	57	2.27	69.47	56	4.15	70.32	54	4.50	70.50	54	7.41	64.63	56	7.49	72.09	50	8.90	51.78								
14	58	2.75	63.50	58	3.58	74.79	54	5.10	53.70	57	4.15	55.49	53	4.47	55.07	55	5.22	37.86	55	4.09	36.97					

Hto = hematócrito en %
H.S. = hierro sérico en umol/l
T. = transferrina en umol/l

Para una mejor interpretación de las Tablas 1 a la 4 se tabularon por medio del método de distribución de frecuencias. La determinación del hematócrito fue la única prueba que se realizó a los donadores antes de sangrarlos. El hierro sérico y la transferrina en muestras tomadas al terminar las flebotomías. Sólo aquellos donadores con hematócrito \geq a 43% se les permitió donar.

La media del hematócrito del grupo control 1, fue de 48.5% (rango normal de 43 - 54%), la media fue igual para el grupo 2, este grupo también estaba formado por 35 personas Tabla 5. Si asumimos que valores de hierro sérico menores de 7 $\mu\text{mol/l}$ representa deficiencia fisiológica de hierro, niveles de hierro bajos cuando se tienen valores de 7-11 $\mu\text{mol/l}$, normal cuando los valores son de 12-20 $\mu\text{mol/l}$ y altos normales cuando estos son mayores de 20 $\mu\text{mol/l}$ como observamos en la Tabla 6 la cifra de mayor frecuencia de entre los donadores familiares, el 62.90%, tiene concentraciones de hierro sérico normales, a diferencia de los donadores habituales que el mayor porcentaje, 65.70%, tuvieron valores altos normales. Las medias aritméticas para estos dos grupos de hierro sérico y transferrina están en la Tabla 5. En cuanto a la transferrina si asumimos que valores menores de 20 $\mu\text{mol/l}$ representan deficiencia en la captación, niveles de transferrina bajos cuando se tienen valores de 21-29 $\mu\text{mol/l}$, normales cuando los

valores son de 30-49 $\mu\text{mol/l}$ y altos normales cuando estos son mayores a 50 $\mu\text{mol/l}$.

Tabla 5 Donadores familiares y habituales
(promedio \pm DE)

	Grupo 1	Grupo 2
No. de sujetos	35	35
Edad X (años)	40	40
Hematócrito %	48.51 \pm 2.61	48.25 \pm 2.78
Hierro Sérico $\mu\text{mol/l}$	15.52 \pm 4.35	22.84 \pm 7.45
Transferrina $\mu\text{mol/l}$	39.07 \pm 9.6	35.08 \pm 8.12

Entre las determinaciones de transferrina en el grupo 1 encontramos que el 57.1% de ellas cayeron dentro de valores normales de 30-49 $\mu\text{mol/l}$, en cuanto al grupo 2 el 65.25% también tuvieron estos valores Tabla 7.

Tabla 6 Distribución de los valores de hierro sérico en los donadores familiares y habituales

Hierro Sérico $\mu\text{mol/l}$	Grupo 1	%	Grupo 2	%
7 - 11	8	22.85	3	8.60
12 - 15	13	37.15	4	11.40
16 - 19	9	25.75	5	14.30
20 - 23	4	11.40	8	22.85
24 - 27	1	2.85	8	22.85
28 - 31			3	8.60
32 - 35			2	5.70
36 - 39			2	5.70

Los pacientes poliglobúlicos se dividieron en: grupo 3, $n=13$, aquellos pacientes a los que no se les proporcionó hierro y grupo 4, $n=14$, con administración de sulfato ferroso. Las medias de las edades fueron de 24

60 \pm 9 años y 57 \pm 8 años respectivamente. El hematócrito del grupo 4 nos dio una media de 56% en donde el 46.72% de los pacientes no se sangraron, al contrario de los poliglobúlicos del grupo 3 que tuvieron un promedio de 60% que equivale al 77% de pacientes sangrados Tabla 8. En Tabla 9 se observan los promedios de hierro sérico y transferrina para estos grupos.

Tabla 7 Distribución de valores de transferrina en donadores familiares y habituales

Transferrina umol/l	Grupo 1	%	Grupo 2	%
20 - 25	1	2.85	5	14.30
26 - 31	8	22.85	6	17.20
32 - 37	11	31.40	11	31.40
38 - 43	5	14.30	8	22.85
44 - 49	4	11.40	4	11.40
50 - 55	3	8.60	1	2.85
56 - 61	3	8.60		

Tabla 8 Distribución de valores de hematócrito para pacientes poliglobúlicos con y sin tratamiento de sulfato ferroso.

Hematócrito %	Grupo 3	%	Grupo 4	%
50 - 52	5	6.75	10	10.86
53 - 55	12	16.21	33	35.86
56 - 58	20	27.02	26	28.26
59 - 61	15	20.30	16	17.40
62 - 64	5	6.75	3	3.27
65 - 67	10	13.52	3	3.27
68 - 70	4	5.40	1	1.08
71 - 73	3	4.05		

Tabla 9 Pacientes con Poliglobulia Secundaria sin y con administración de hierro (promedio \pm DE)

	Grupo 3	Grupo 4
No. de sujetos	13	14
Edad \bar{x} (años)	60 \pm 9	57 \pm 8
No. de sangrías	6 \pm 1	7 \pm 1
Hematócrito	60 \pm 5	56 \pm 3
Hierro Sérico umol/l	5.20 \pm 2.91	7.06 \pm 3.34
Transferrina umol/l	64.94 \pm 10.19	61.36 \pm 11.57
Normal Hierro Sérico	11.17 - 19.87 umol/l	
Normal Transferrina	29.47 - 48.67 umol/l	

En la Tabla 10, se observa que la mayor parte de los pacientes poliglobúlicos de ambos grupos tuvieron valores de hierro sérico entre 3-5 umol/l. En cuanto a la transferrina, el mayor porcentaje de estos grupos cayó dentro de los valores de 58-68 umol/l, Tabla 11.

Otro examen que se realizó a los pacientes para corroborar nuestros resultados fueron los frotis sanguíneos que se practicaron solamente a 25 de los pacientes dándonos resultados de microcitosis hipocrómica.

Tabla 12.

Tabla 10 Distribución de valores de hierro sérico en pacientes poliglobúlicos sin administración y con administración de hierro.

Hierro Sérico umol/l	Grupo 3	%	Grupo 4	%
0 - 2	21	28.37	6	6.52
3 - 5	27	36.50	35	38.04
6 - 8	16	21.62	27	29.34
9 - 11	9	12.16	15	16.30
12 - 14	1	1.35	8	8.70
15 - 17			1	1.10

Tabla 11 Distribución de valores de transferrina en pacientes poliglobúlicos secundarios sin dosis y con dosis de hierro.

Transferrina umol/l	Grupo 3	%	Grupo 4	%
36 - 46	2	2.70	11	11.95
47 - 57	11	14.86	22	23.90
58 - 68	41	55.40	40	43.50
69 - 79	9	12.16	15	16.30
80 - 90	10	13.53	3	3.25
91 - 101	1	1.35	1	1.10

Tabla 12 Frotis sanguíneos de pacientes poliglobúlicos

No. de pacientes	Tamaño	Color
20	microcitos	hipocrómicos
5	normocitos	hipocrómicos

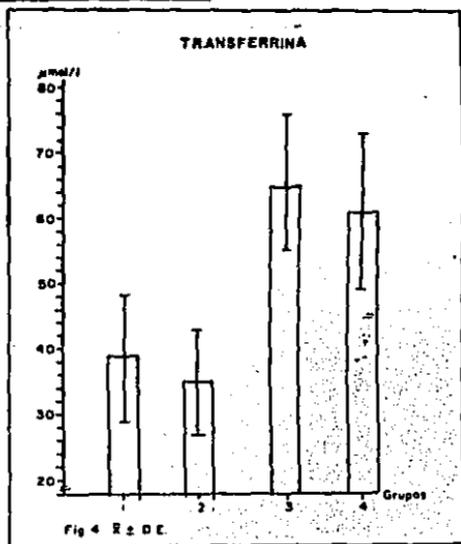
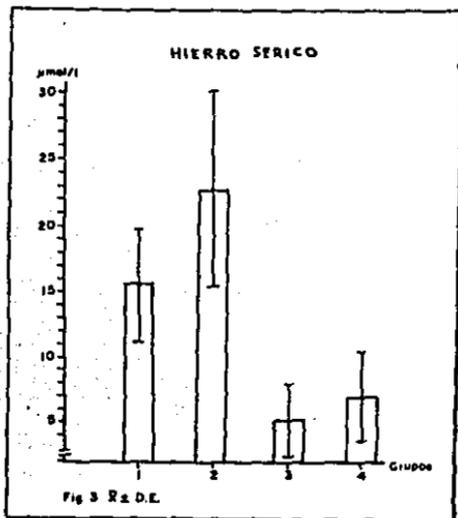
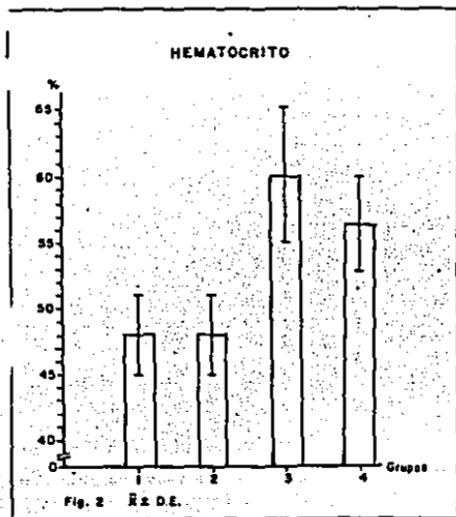
La comparación estadística se realizó por medio de la t-student y se consideraron significativos los valores con una $p < 0.05$. La diferencia estadística se hizo comparando los cuatro grupos entre sí, dándonos los resultados de la Tabla 13. Podemos observar estas comparaciones gráficamente en las figs. 2,3 y 4.

Tabla 13 Comparación de resultados entre los cuatro grupos.

Grupos	Hematócrito	Hierro Sérico	Transferrina
1 - 2	N.S.	S.S.	N.S.
1 - 3	S.S.	S.S.	S.S.
1 - 4	S.S.	S.S.	S.S.
2 - 3	S.S.	S.S.	S.S.
2 - 4	S.S.	S.S.	S.S.
3 - 4	S.S.	S.S.	S.S.

N.S. = no hay diferencia significativa
 S.S. = sí hay diferencia significativa
 $P < 0.05$

Para realizar la t de student se establecieron la hipótesis nula que las medias aritméticas eran iguales y la hipótesis alternativa de que éstas eran diferentes.



CAPITULO IV

DISCUSION

Este estudio incluyó individuos sanos y enfermos. Para los individuos sanos los resultados comparativos entre ambos grupos control, donadores familiares y habituales, no se encontró diferencia en los valores del hematócrito; ya que la media para estos grupos fue de 48%. Con respecto al hierro sérico y transferrina encontramos que existió un aumento de hierro sérico y un descenso en la transferrina, este hallazgo lo consideramos dentro de los valores bajos normales. Esto se debe probablemente a que al disminuir la reserva de hierro, en los donadores habituales la absorción de éste se incrementa (17), ya que el almacenamiento de hierro se ve reabastecido entre cada una de las flebotomías con la administración oral de sulfato ferroso. Con la donación continua los individuos cursan con niveles bajos de reserva de hierro, mientras que el hierro que se pierde y el que se absorbe están en equilibrio (23). En los donadores habituales estudiados se aprecia que los valores de hierro sérico están elevados con validez estadística al compararse con el grupo de donadores familiares, mientras que la transferrina estuvo en el límite inferior normal, no se encontró una diferencia significativa estadísticamente en los donadores familiares.

Se mencionó que la policitemia tiene como característica un aumento en el número de eritrocitos; sabemos que la eritropoyesis regula este mecanismo por lo que si hay exceso de oxígeno disponible, el número de hematies circulantes disminuye (19). Esto no sucede en los policitémicos ya que sufren de hipoxia. El hierro sérico existente en el organismo es deficiente para el exceso de glóbulos rojos, por lo que estos, presentan características de hipocromía por no tener la presencia de hierro y esto a su vez hace que el transporte de oxígeno sea deficiente y el almacenaje de hierro sérico esté disminuido.

Para la transferrina como se comentó antes, no hubo diferencia entre los grupos control, pero si existió una diferencia muy clara entre estos grupos y los grupos de pacientes como lo demuestra la fig. 4.

Al comparar los grupos de pacientes poliglobúlicos podemos observar que se establecieron diferencias significativas en los valores de hematócrito. En el grupo con administración de hierro se obtuvo una media de hematócrito de 56%, por lo que la frecuencia de las flebotomías fue menor en este grupo. En cambio el hematócrito de los pacientes que no recibieron sulfato ferroso tuvo una media de 60% lo que condicionó que fueran sangrados con mayor frecuencia, lo que sugiere que el tratamiento con hierro es susceptible de provocar

estabilización del hematócrito coadyuvando así al control de la Policitemia Secundaria por flebotomías.

Los datos comparativos de estos dos grupos con respecto al hierro sérico aunque no establece diferencia gráficamente, esta existe estadísticamente, en la prueba de "t" con un valor de $p \leq 0.05$. La marcada disminución de las reservas de hierro de la mayoría de pacientes, demostrada en frotis sanguíneo con datos de hipocromía y microcitosis, están relacionados con las cifras bajas de hierro sérico, medidas antes del tratamiento con sulfato ferroso mejorando significativamente la reserva plasmática de hierro sin llegar a normalizarse.

La transferrina en los pacientes se mostro elevada correlacionándose con los valores bajos de hierro sérico, pudiera significar que existe en los pacientes una alta capacidad de fijación de hierro. Al aportar hierro exógeno esta capacidad de fijación disminuyó, demostrándose con cifras estadísticamente menores de transferrina; no obstante no se llegó a cifras normales. Es de hacer notar que los valores de transferrina en el grupo de pacientes con administración de hierro tuvieron la mayor dispersión entre todos los parámetros valorados.

Las complicaciones de las sangrías frecuentes sobre el balance de hierro en poblaciones donadoras ha sido comprobado en múltiples ocasiones, las evidencias obte-

nidas incluyen disminución de hemosiderina medular y hierro sérico además de un incremento en la transferrina, estos dos últimos parámetros fueron confirmados por nuestros resultados, también se encuentran en la literatura médica intentos de mantener las reservas de hierro metabólico, administrado por vía oral en dosis de 100 mg diarios por períodos de ocho semanas; ya que se pierden aproximadamente 220 mg en cada sangría (24,25, 31).

Los resultados se pueden resumir en los siguientes puntos:

- 1.- Se estabilizó el hematócrito.
- 2.- Se incrementó el nivel de hierro sérico.
- 3.- Disminuyó la concentración de transferrina.
- 4.- Disminuyó la probabilidad de flebotomías en un 46.72%.
- 5.- Se manifestaron mejorías en los pacientes, menos fatiga, menor esfuerzo respiratorio.

La posible explicación a estos resultados sería:

- 1.- Que con el tratamiento se recupera el hierro perdido por las flebotomías periódicas.
- 2.- Que el hierro ingerido fue fijado metabólicamente ya que se incrementaron las cifras de hierro sérico y consiguientemente disminuyó la transferrina.
- 3.- La existencia de hierro metabólico seguramente incrementó la síntesis de hemoglobina, haciendo más eficiente a los eritrocitos en el transporte de oxígeno, 33

lo que implicó las manifestaciones de "mejoría" en los pacientes y la estabilización del hematocrito.

Ahora bien, el resultado del tratamiento debe ser considerado como positivo para los pacientes con Policitemia Secundaria a EPDC, pero se sugiere que se incremente la población de pacientes y que se tenga un mejor control de los mismos, una forma para lograrlo sería:

- a) Que los pacientes sean tratados conjuntamente con el Servicio de Hematología para así asegurar la ingestión del medicamento.
- b) Que se controlen clínicamente otros factores que intervienen en el metabolismo del hierro debido a que por su patología frecuentemente se someten a tratamiento con antibióticos o ingieren antiácidos y aspirinas la cual altera la absorción del hierro (24).
- c) Además asegurarse que los pacientes acudan a las citas periódicamente para su evaluación.

Por otra parte sería adecuado realizar estudios sistemáticos para buscar otra manera de administrar los elementos necesarios en el metabolismo del hierro que incrementen la eficiencia del manejo metabólico de este importante mineral, ya que posiblemente al mejorar el metabolismo del hierro, se incrementaría la síntesis de 34

hemoglobina y por consiguiente se tendría un mejor llenado de los eritrocitos con la consecuente mejoría de transporte de oxígeno y finalmente una disminución en el número de eritrocitos.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

- 1.- Se establecieron los valores normales de hierro sérico y transferrina para nuestra población donadora familiar y habitual.
- 2.- Se establecieron los valores de transferrina y hierro sérico en pacientes poliglobulicos.
- 3.- Los pacientes con Poliglobulia Secundaria tienen hipocromía y microcitosis, principalmente los que tuvieron tratamiento sólo con flebotomías.
- 4.- Se encontró diferencia significativa entre los niveles de hierro sérico y transferrina entre el grupo de pacientes poliglobúlicos sin administración y el grupo con administración oral de sulfato ferroso.
- 5.- Se considera que las determinaciones de hierro sérico y transferrina tienen significancia clínica.
- 6.- La administración de sulfato ferroso en pacientes poliglobúlicos es susceptible de mantener estable el hematócrito en niveles normales altos.
- 7.- La determinación de hierro sérico y transferrina son útiles para el control y evaluación del estado clínico en estos pacientes.
- 8.- Es necesario el empleo de metodología más especializada para conocer el estado de las reservas de hierro medular en estos pacientes poliglobúlicos.
- 9.- Se manifestaron mejorías en los pacientes con Poliglobulia Secundaria cuando se les dio hierro.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bentley D.P. y Jacobs A. Metabolismo del hierro y sus alteraciones. Anemias ferropénicas. Hematología (1) Medicine 7:465-473,1982.
- 2.- Burwell, C.S., Robin E.D. & Bickelman A.G. Extreme obesity associates with alveolar hypoventilación. A Pickwick Syndrome. Am. J. Med. 21:811,1956.
- 3.- Cecil, R.L. & Loeb, R.F. Tratado de Medicina Interna. Décimo séptima edición. Ed. Interamericana. México 1985.
- 4.- Cecil, R.L. & Loeb, R.F. Tratado de Medicina Interna. Décimo cuarta edición. Ed. Interamericana. México 1975.
- 5.- Conrad, M.C., Barton J. Factors affecting iron balance. Am. J. Haematol. 10 (2):199-225,1981.
- 6.- Chetty, K.G., Brown, S.E. Improve exercise tolerance of polycythemic lung patient following phlebotomy. Am. J. Med. 74 (3):415-420, 1983.
- 7.- Daniels, W. Biostatística. Primera edición. Ed. Limusa. México 1985.
- 8.- Dacie, J. & Lewis, S.M. Practical Hematology. Churchill Livingstone, Edinburgh 1984.
- 9.- Dixon & Massey. Introduction to Statistical Analysis, USA 1957.
- 10.- Dormandy, J.A., Clinical significance of blood viscosity. Ann. R. Coll. Surg. Engl. 47:211-228,1970.
- 11.- Erslev, A.J. & Gabuzda, T.G. Pathophysiology of Blood. USA 1973.
- 12.- Aranda, I.S. Función y principales alteraciones del sistema hematopoyético y linfático. Facultad de Medicina México 1982.
- 13.- Flenley, D.C., Sleep in chronic obstructive lung disease. Clin. Chest. Med. 6 (4):651-661,1985.
- 14.- Golde, W., Williams, G., Polycythemia mechanisms and managment. Ann. Intern. Med. 95 (1):71-84,1981.
- 15.- Harrison, T.R. Principios Medicina Interna. Mc Graw Hill. México 1986.

- 16.- Hathorn, M.S., The influence of hypoxia on iron absorption in rat. *Gastroenterology* 60:76,1971.
- 17.- Heinrich, H.C. Intestinal iron absorption in man methods of measurement, dose relationship, diagnostic and therapeutic implication. In: Hallberg L. Iron deficiency pathogenesis, clinical aspects, therapy. London and New York. Academic Press 213-253,1970.
- 18.- Hutton, R.D. The effect of iron deficiency on whole blood viscosity in polycythemia. *Br. J. Haematol.* 43:191-199,1979.
- 19.- Leavell, B.S. *Hematología Clínica*. Cuarta Edición. Ed. Interamericana. México 1984.
- 20.- Lichtman, M.A. *Hematología Clínica*. Ed. Interamericana. México 1983.
- 21.- Martin, D.W., Rodwell, V.W. *Bioquímica de Harper*. Octava Edición. Ed. El Manual Moderno. México 1982.
- 22.- Milligan, D.W. et al. The influence of iron deficient indices on whole blood viscosity in polycythemia. *Br. J. Haematol.* 50:467-473,1982.
- 23.- Milman, N. & Sondergard, M. Iron stores in male donors evaluated by serum ferritin. *Transfusion* 24 (6):464-468,1987.
- 24.- Mosen, E.R. et al. Iron balance in superdonors. *Transfusion* 23 (3):221-225,1983.
- 25.- Morse, E.E. et al. Evaluation of iron status in women identified by copper sulfate screening as ineligible to donate blood. *Transfusion* 27 (3):238-241,1987.
- 26.- Nicolaidis, A.N. Blood viscosity, red-cell flexibility, hematocrit and plasma-fibrinogen in patients with angina. *Lancet* 7:943-945,1985.
- 27.- Olmedo, F., Gómez, R. Anemias ferropénicas. *Hematología (I) Medicina* 7:426-433,1985.
- 28.- Patakas, D.A. Control of breathing in patients with chronic obstructive lung diseases an secondary polycythemia after venosection. *Respiration* 49 (4):257-262,1986.
- 29.- Pearson, T.C. et al. Viscosity and iron deficiency in treated polycythemia. *Br. J. Haematol.* 49:123-127,1981.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 30.- Pearson, T.C. Plasma and whole blood viscosity in treated primary polycythaemia. Clin. Lab. Haematol. 2:73-82,1980.
- 31.- Raftos, J. Iron stores assessed in blood donor by hematofluorometry. Transfusion 23 (3):226-228,1983.
- 32.- Rosenberg, M. Fetal hematopoiesis. Blood. 33:66,1969.
- 33.- Singht, I., Khm, R.K. Acute mountain sickness. N. Engl. J. Med. 280:175,1969.
- 34.- Sodeman, W.A. Pathophysiology. Seveth Edition. Ed. Sodeman & Sodeman. USA 1985.
- 35.- Sondel, D.M. Phlebotomy with iron therapy to correct the microcytic polycythemia of chronic hypoxia. Pediatrics 67 (5):667-670,1981.
- 36.- Stuart, J. & Kenny, M.W. Blood rheology. J. Clin. Pathol. 33:417-422,1980.
- 37.- Todd & Sanford. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Salvat. México 1985.
- 38.- Villaseñor, B.J. Hematología Clínica. Séptima Edición. Ed. Mendez Oteo. México 1981.
- 39.- Wedzicha, J.A. et al. Effects of hematocrit reduction on the hemoglobin oxygen saturation curve in polycythemia secondary to hypoxia lung disease. J. Resp. Dis. 46:367-372,1986.
- 40.- Williams, W., Beutler, E. Hematología. Segunda Edición. Salvat Editores. España 1983.
- 41.- Wintrobe, M.M. Clinical Hematology. Lea & Febiger, Philadelphia 1981.