

8
2ej'



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZARAGOZA

DIAGNOSTICO DE HEMOSIDEROSIS EN PACIENTES POLITRANSFUNDIDOS TRATADOS CON DEFEROXAMINA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
CECILIA BEATRIZ CAMARILLO SUAREZ



MEXICO, D. F.

1990

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 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.

CONTENIDO

PAG.

INTRODUCCION	2
--------------------	---

CAPITULO I. GENERALIDADES.

1.1. Compartimientos de hierro en el hombre ...	4
1.2. Mecanismos fisiológicos de absorción de hierro	7
1.3. Hemosiderosis	11
1.3.1. Antecedentes Históricos	11
1.3.2. Ciclo interno del hierro	11
1.3.3. Manifestaciones clínicas y patológicas	14
1.3.4. Tratamiento	14
1.3.5. Diagnóstico	15

CAPITULO II.

2.1. Planteamiento del Problema	19
2.2. Hipótesis de Trabajo	20
2.3. Objetivo General	21

CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. Recursos	22
3.1.1. Material	22
3.1.2. Equipo	23
3.1.3. Material Biológico	23
3.1.4. Reactivos	23
3.2. Esquema de Trabajo	25
3.3. Métodos	26
3.3.1. Determinación de hierro sérico	26
3.3.2. Determinación de hierro en orina	28
3.3.3. Determinación de la capacidad de fijación de hierro	30

	PAG.
3.3.4. Tinción de hemosiderina en orina	32
CAPITULO IV.	
Resultados	33
CAPITULO V.	
Análisis de resultados	76
CAPITULO VI.	
Conclusiones	79
REFERENCIAS	82
APENDICE	85
- Preparación de reactivos	85
- Preparación del material libre de hierro	87

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Diversos padecimientos hematológicos en la edad pediátrica cursan por una anemia refractaria severa, por lo que se hace indispensable la administración repetida de transfusiones sanguíneas. Estas enfermedades incluyen principalmente: a) aplasia selectiva de la serie roja; b) drepanocitosis; c) anemia hemolítica hereditaria como la talasemia; d) anemias hipoplásticas congénitas y adquiridas, etc. El uso de continuas transfusiones sanguíneas como único tratamiento para estas enfermedades, condiciona el acúmulo de hierro en los tejidos y el desarrollo de hemosiderosis secundaria de severidad variable, en relación directa con el número de paquetes globulares transfundidos. La sobrecarga de hierro es consecuencia de su aporte excesivo y la ausencia de mecanismos fisiológicos eficaces para su excreción. El almacenamiento anormal de hierro ocurre principalmente en tejidos de diversos órganos y tejidos como piel, hígado, bazo y corazón, haciendo de la hemosiderosis una complicación potencialmente fatal.

El tratamiento usado para la hemosiderosis secundaria se basa en la administración de un compuesto quelante, la Deferoxamina, la cual favorece la formación de compuestos solubles de hierro que son excretados por la orina, y por consiguiente, induce un balance negativo del hierro en el organismo. Sin embargo, el uso de la Deferoxamina es delidado y además, el procedimiento para su aplicación implica diversos inconvenientes como lo es su administración continua durante doce horas, que acarrea molestias físicas al paciente y además limita notablemente sus actividades. De ahí la importancia de realizar el diagnóstico de hemosiderosis de manera eficaz y sencilla.

Existen diversos métodos para el diagnóstico de -
hemosiderosis llamados de gabinete que auxilian al mé^{di}
co en la evaluación de esta enfermedad; sin embargo, -
los métodos simples de laboratorio clínico son poco o -
no utilizados siendo que estos pueden dar datos cuanti-
tativos en el diagnóstico del paciente en comparación -
con los métodos antes mencionados. Es por esto que el -
objetivo del presente trabajo se basará en evaluar la -
importancia de las determinaciones de laboratorio clíⁿⁱ
co como apoyo al diagnóstico de la hemosiderosis secun-
daria a transfusiones sanguíneas que tienen tratamiento
con Deferoxamina.

CAPITULO I

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1. Compartimientos de hierro en el hombre:

El hierro, cuando penetra dentro del organismo, se integra dentro de un sistema virtualmente cerrado, ya - que de los 4 a 5 gr, de hierro que se encuentran dentro del organismo, aproximadamente sólo 1 mg. se renueva - diariamente en éste, a través de la absorción por un la do y la pérdida por otro (4).

El compartimiento más grande de hierro en el hom-- bre es la hemoglobina presente en los glóbulos rojos -- circulantes y en la médula ósea eritropoyética, repre-- sentando un 65% del hierro total en el hombre. El hie-- rro de reserva existe en dos formas distintas: ferriti-- na y hemosiderina. La ferritina es una proteína hidrosoluble, de peso molecular de 700,000 y contiene alrededor del 20% de hierro. Está compuesta por un núcleo cen-- tral de hidroxifosfato férrico y una corteza proteica -- llamada apoferritina. Cada molécula de apoferritina pue-- de contener aproximadamente 2000 átomos de hierro (34). La ferritina se encuentra normalmente en el plasma y en la mayoría de las células del cuerpo; la concentración_ de hierro en una célula o cerca de ella va a facilitar_ la inducción y regulación de la formación de la apofe-- rritina, presentando ésta propiedades enzimáticas en la oxidación del hierro, con lo cual facilita la absorción de hierro por la célula y su incorporación a la estruc-- tura de enrejado de la ferritina.

La hemosiderina se encuentra también en forma abun-- dante en las células del sistema fagocítico mononuclear;

en estados patológicos se encuentra a grandes escalas - en casi todos los tejidos de la economía. Mediante estudios con microscopía electrónica, se han descubierto - gránulos de ferritina en los depósitos de hemosiderina, por lo que se considera que la hemosiderina puede representar la ferritina parcialmente desnaturalizada y desproteinizada (34). Esta proteína es insoluble y contiene aproximadamente el 25 a 30% de hierro por peso.

El hierro de transporte se vincula a una proteína específica, la transferrina, que es una beta globulina ligeramente alargada, con peso molecular de 80,000. Cada molécula de transferrina puede fijar a dos átomos de hierro; esta proteína se comporta como verdadero transportador, puesto que libera el hierro a los receptores específicos y no se consume durante este proceso (1). El hierro ligado a la transferrina representa sólo el 0.08% del hierro total; aunque cuantitativamente poco importante, el hierro de la transferrina representa un compartimiento cinético muy activo, ya que el hierro del plasma se renueva unas diez veces por día. Existe otro compartimiento llamado pool de hierro lábil y es un concepto que se deriva de estudios de cinética del hierro; éste se compone del hierro que se fija a las membranas celulares o a las proteínas intracelulares durante un período relativamente corto de tiempo, antes de ser incorporado al hem o a los compuestos de almacenamiento; este compartimiento contiene el 2.2% del hierro total. El hierro de los parénquimas o tejidos representa el 0.2% del total. Este comprende el hierro de los citocromos y de una variedad de enzimas. Por último, el hierro de la mioglobina es el 4% del total y sus intercambios no son significativos.

Tabla 1. Compartimientos del hierro en seres humanos normales(34).

Compartimiento	Contenido de hierro (mg)	Hierro total %
Hierro hemoglobínico	2.500	65
Hierro de depósito (ferritina, hemosiderina)	1.000	27
Hierro de la mioglobina	130	3.5
Compartimiento lábil	80	2.2
Hierro hístico	8	0.2
Hierro de transporte	3	0.08

1.2. Mecanismos fisiológicos de absorción de hierro:

Los compuestos de hierro pueden ser absorbidos a cualquier nivel del intestino; sin embargo, la absorción de éste metal es más eficaz en el duodeno. El hierro atraviesa el epitelio de la mucosa y pasa al interior de la red capilar de la submucosa; para que el hierro iónico sea absorbido, debe encontrarse en forma divalente, y para que sea tomado por la transferrina plasmática debe de encontrarse en estado trivalente; este mecanismo lo realiza la ceruloplasmina y otras ferroxidasas plasmáticas. El complejo hierro - transferrina se dirige hacia la circulación a través de los conductos linfáticos, llegando hasta la médula ósea. Los vasos sinusoidales de la médula ósea permiten un estrecho contacto entre la transferrina circulante y los precursores eritroides. La molécula de transferrina se fija a la célula durante unos diez minutos (4). Una vez liberada del hierro, la transferrina se reintegra a la circulación. El hierro fijado por el eritroblasto se reincorpora rápidamente a las moléculas de la hemoglobina, quedando secuestrado hasta la muerte de las células. Tras los ciento veinte días de vida del eritrocito, los macrófagos de la médula ósea, del hígado y del bazo los fagocitan, degradan la hemoglobina y liberan el hierro al plasma, que de nuevo está disponible para la eritropoyesis o queda depositado en el sistema fagocítico mononuclear.

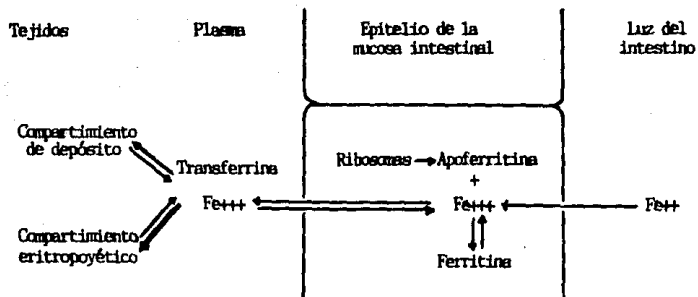


Figura 2. Absorción de hierro no hem por las células epiteliales de la mucosa intestinal (34).

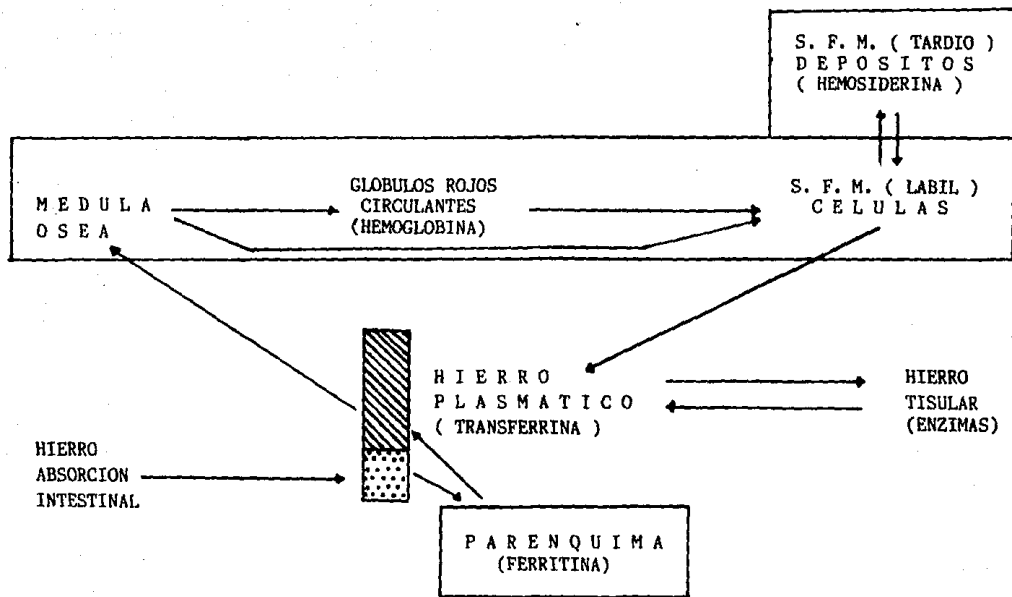


Figura 1. Cinética del hierro en el organismo (4).

1.3. Hemosiderosis

1.3.1. Antecedentes históricos:

Se considera el término de hemosiderosis como toda sobrecarga de hierro a nivel tisular, sea o no patógena, que puede provenir por distintos orígenes (4).

La hemosiderosis es una enfermedad sistémica en la que la sobrecarga de hierro histico está asociada con pigmentación de la piel, hepatomegalia, diabetes resistente a la insulina e insuficiencia cardiaca, así como otras manifestaciones hísticas de toxicidad férrica (17). El proceso fué primeramente reconocido durante la autopsia como cirrosis pigmentaria, y en 1889 recibe el nombre de hemocromatosis por Recklinghausen. En 1935 se reconoce una triada de acción en este síndrome clínico - que incluía: pigmentación cutánea, hepatomegalia y diabetes. Debido a los cambios de color en la piel y la existencia de diabetes se usaba a menudo el término de diabetes bronceada para conocer la enfermedad. Veinte años después se comprueba el papel del hierro en la patogenia de la enfermedad y se conoció a la hemocromatosis como siderosis, término usado en la actualidad para conocer el transtorno de la sobrecarga de hierro parenquimatoso (34).

1.3.2. Ciclo interno del hierro:

Es de gran importancia verificar si la sobrecarga de hierro se hace a través de los glóbulos rojos mediante transfusiones, o bien si se hace a través de hierro unido a la transferrina, ya sea por un exceso en la absorción en forma de terapia por la vía parenteral. Podemos ver que existen dos tipos de tejidos diferentes que intervienen en la cinética del hierro en reserva: por -

un lado, el sistema fagocítico mononuclear, que tiene como misión la de eliminar de la circulación hematíes envejecidos y de liberar el hierro al plasma. El circuito eritrocito - sistema fagocítico mononuclear representa cerca del 80% del renovamiento del hierro plasmático (4). Es una ruta metabólica de sentido único, ya que el sistema fagocítico mononuclear es incapaz de captar el hierro de la transferrina. El tejido de los parénquimas y en particular del hígado, reciben el hierro de la transferrina y lo liberan al plasma. Esta es una vía metabólica de doble sentido, y sólo representa el 10% del renovamiento plasmático en condiciones normales. Se ha demostrado que la captación de hierro por los tejidos parenquimatosos está directamente en función del nivel de sideremia. Se ha visto últimamente que la captación del complejo hemoglobina - haptoglobina, así como el de heme - hemopexina y la hemoglobina libre plasmática son captados por el hepatocito (4, 28). El hierro ligado a los hematíes se deposita a nivel del sistema fagocítico mononuclear donde es inocuo; se sabe que el hierro depositado en los parénquimas es capaz de inducir lesiones de consecuencia fatales en la mayoría de los casos. Cuando la cantidad de hierro sobrepasa el nivel de 500 ug/g de tejido el exceso se deposita en forma de hemosiderina.

En la eritropoyesis ineficaz, el depósito de hierro se realiza en los parénquimas, dañándolos, ya que los eritrocitos viables se destruyen en la médula ósea con lo cual liberan el hierro al plasma y se deposita en el parénquima. Además, cuando existe un desorden debido a una eritropoyesis ineficaz, las necesarias transfusiones de sangre dan como consecuencia un aporte excesivo de hierro ya que se estima que cada unidad de sangre contiene aproximadamente 200 mg de hierro (17).

Síntesis de hemoglobina

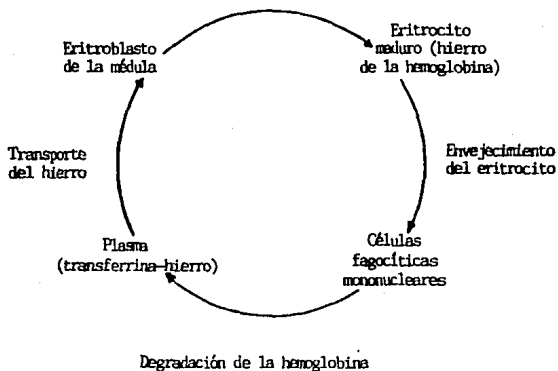


Figura 3. Ciclo interno del hierro (34).

1.3.3. Manifestaciones clínicas y patológicas:

Las manifestaciones clínicas y patológicas de la - hemossiderosis postransfusional son diversas aunque estas suelen presentarse cuando hay una acumulación de 20 a 25 g. de hierro (22). El hierro es virtualmente obis- cuo, lo que hace que los depósitos de hierro no sean de una localización especial, pudiéndolos encontrar en los ojos, dientes, en el hígado, bazo, páncreas, corazón, - en las glándulas tiroides, paratiroides e hipófisis, en los pulmones, en la zona glomerulosa de la corteza adre- nal, en los riñones, en los órganos apócrinos de la - piel, en el músculo esquelético, en los nódulos linfoi- des, en la médula ósea y en la mucosa gástrica. La pre- sencia de manifestaciones clínicas va a depender de la - susceptibilidad del órgano al metal, su reserva funcio- nal y de la habilidad de detectar dicha disfunción. El - desorden cardiaco es la causa más común de muerte en pa- cientes con hemossiderosis transfusional. Dichas manifes- taciones incluyen: hiperpigmentación de la piel debido - a una estimulación en la síntesis de melanina por el a- cúmulo de hierro, hepatomegalia con discretos aumentos - en los niveles séricos de las transaminasas, cansancio, arritmias e insuficiencias cardiacas, diabetes secunda- ria y retención en el crecimiento por disminución en la somatostatina, secundaria a un efecto en los receptores hepáticos para la hormona del crecimiento (17).

1.3.4. Tratamiento:

El tratamiento de esta complicación se basa en la - aplicación de un compuesto quelante, la Deferoxamina, - que favorece la excreción de hierro a través de la ori- na induciendo un balance negativo del hierro en el orga- nismo. La Deferoxamina es un compuesto que se aísla del

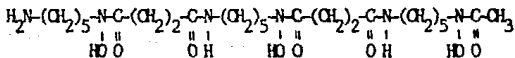
Streptomyces pilosus y tiene gran afinidad por el hierro y una baja afinidad por el calcio. Extrae el hierro primero de la hemosiderina y después de la ferritina, y en menor escala de la transferrina (10, 28). El hierro unido a la hemoglobina o a los citocromos no es extraído por la Deferoxamina. Este medicamento causa muchas reacciones alérgicas, desde prurito hasta anafilaxia. Otras manifestaciones secundarias son la disuria, fiebre, diarrea, calambres y taquicardia. Esto acarrea problemas a la aplicación de este tratamiento, ya que se recomienda una aplicación por vía subcutánea de aproximadamente 1 gr. de Deferoxamina durante un período de 12 horas continuas, cinco días a la semana, por tiempo prolongado, lo que nos permite observar la importancia de seguir el curso y evolución del paciente que está siendo tratado con Deferoxamina, con métodos de laboratorio rápidos y eficaces.

1.3.5. Diagnóstico:

El diagnóstico de hemosiderosis suele ser complicado, ya que suele ser confundido con otras enfermedades que en realidad son sólo manifestaciones clínicas del daño causado por los depósitos de hierro. El médico utiliza generalmente parámetros que son comunmente llamados "de gabinete" para realizar el diagnóstico de hemosiderosis. Estos parámetros son: valoración de la sobrecarga del hierro en el miocardio a través del estudio del electrocardiograma, teleradiografía de tórax y ecocardiografía; ultrasonografía hepática, del bazo y riñón para la determinación del tamaño y densidad de los tejidos; cálculo del aporte de hierro recibido a través de las transfusiones de los glóbulos rojos desde el inicio de la enfermedad. Los métodos de laboratorio son poco o no utilizados ya que la información que proporcio-

na un exámen inicial es poco clara y con variaciones es-
casas; sin embargo, una vez iniciado el tratamiento con
la Deferoxamina, la información proporcionada por los -
métodos de laboratorio suele ser mayor y de carácter -
cuantitativo con respecto a los procedimientos clínicos
antes mencionados.

Para una exploración inicial se puede realizar la_
determinación de hierro sérico y la capacidad de capta-
ción de hierro; estos valores no suelen estar más allá_
de los valores de referencia, o bien con un decremento
en la capacidad de fijación de hierro. El por ciento de_
saturación de hierro se eleva más allá del valor normal
que es del 30% de utilización de transferrina. La deter-
minación de hierro en orina en condiciones normales sue-
le no realizarse ya que la cantidad es muy pequeña; sin
embargo, al administrar Deferoxamina y producirse un ba
lance negativo del hierro, la determinación de la excre
ción urinaria de hierro en este momento nos va a propor-
cionar información concerniente a la sobrecarga de hie-
rro.



DEFEROXAMINA

CAPITULO II

CAPITULO II

2.1. Planteamiento del Problema:

La hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas suele ser una complicación que se convierte en la causa de muerte de la mayor parte de los pacientes, y no los padecimientos de origen hematológico que motivaron la aplicación repetida de dichas transfusiones. La terapia de quelación de hierro mediante el uso de Deferoxamina resulta de gran utilidad para la disintoxicación de dicho metal en estos pacientes; sin embargo, el tratamiento causa grandes molestias físicas en su aplicación, es costoso y trae consigo diversas reacciones adversas. Es por esto que se tratará de establecer la importancia de la determinación de hierro sérico y urinario, y de la determinación de la capacidad de fijación de hierro, además de la realización de la prueba de hemosiderina en orina como pruebas diagnósticas de hemosiderosis en pacientes politransfundidos tratados con Deferoxamina.

2.2. Hipótesis de Trabajo:

La presencia de niveles altos de hierro en la orina y la escasa variación de los valores de referencia en la determinación de hierro en suero y de la capacidad de fijación de hierro en los pacientes tratados con Deferoxamina, serán indicativos de la presencia de depósitos de hierro en los parénquimas, teniendo esto gran importancia en el diagnóstico de hemosiderosis por transfusión.

2.3. Objetivo general:

Evaluar la importancia de las determinaciones de - hierro sérico y urinario, de la capacidad de fijación de hierro y de hemosiderina en orina, como apoyo al diagnóstico de hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas que tienen tratamiento con Deferoxamina.

CAPITULO III

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Recursos

3.1.1. Material:

Agitadores de vidrio

Algodón

Bulbos para pipetas pasteur

Cajas de Petri

Cámaras húmedas

Cámaras de Neubauer

Capilares

Cubrehematímetros

Embudos de vidrio de cuello corto

Espátulas

Frascos ámbar de 1 Lt *

Gradillas metálicas para 20 y 40 tubos

Jeringas de 5 ml

Matraces Erlenmeyer de 125 ml

Papel Filtro

Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 ml *

Pipetas de Sahli para Hemoglobina

Pipetas de Thoma para glóbulos blancos

Pipetas de Thoma para glóbulos rojos

Pipetas pasteur

Portaobjetos

Probetas graduadas de 50, 500 y 1000 ml

Tubos de ensaye de 12 x 75, 13 x 100 y 15 x 150 mm *

Vasos de Coplin

Vasos de precipitados de 100 y 1000 ml

* Libres de hierro. La preparación de estos materiales viene indicado en el apéndice.

3.1.2. Equipo:

Balanza Analítica: Mettler
Baño María: J.M. Ortiz
Centrífuga: Sol - Bat
Espectrofotómetro: Coleman Junior II 6/35
Microcentrífuga: Sol - Bat
Microscopio de Luz Visible: Carl Zeiss
Refrigerador a 4°C: General Electric

3.1.3. Material Biológico:

- Sangre completa
- Suero
- Orina de 24 horas

3.1.4. Reactivos:

Acido Clorhídrico al 1% *
Acido Nítrico al 50% *
Agua Bidestilada
Colorantes de Giemsa
Colorantes de Leishman
Colorantes de Reticulocitos
Eter etílico
Ferrocianuro de Potasio al 1% *
Formaldehído al 37%
Merkotest Hierro 3307 que contiene:

- 1) Amortiguador (fosfato de sodio 400 mM a pH 5.5)
- 2) Reactivo de coloración (ácido batofenantrolindisulfónico, sal disódica, 0.68 mM, fosfato de sodio_400 mM a pH 5.5)
- 3) Ascorbato de sodio
- 4) Solución patrón de hierro (1.0 mcg/ml)

* La preparación de estos reactivos se incluye en el apéndice.

Merkotest Iron - Binding Capacity 3313 que contiene:

- 1) Amortiguador [tris(hidroximetil)aminometano -
1.0 mol/L, pH 8.3]
- 2) Solución reductora (metilaminofenolsulfato, -
162 mmol/L en sulfito ácido de sodio)
- 3) Reactivo de coloración (ácido batofenantrolindi--
sulfónico, sal disódica, 1.7 mmol/L)
- 4) Solución patrón de hierro (2.5 mg/dl)

Oxalato de Amonio al 3%

Reactivo de Drabkin

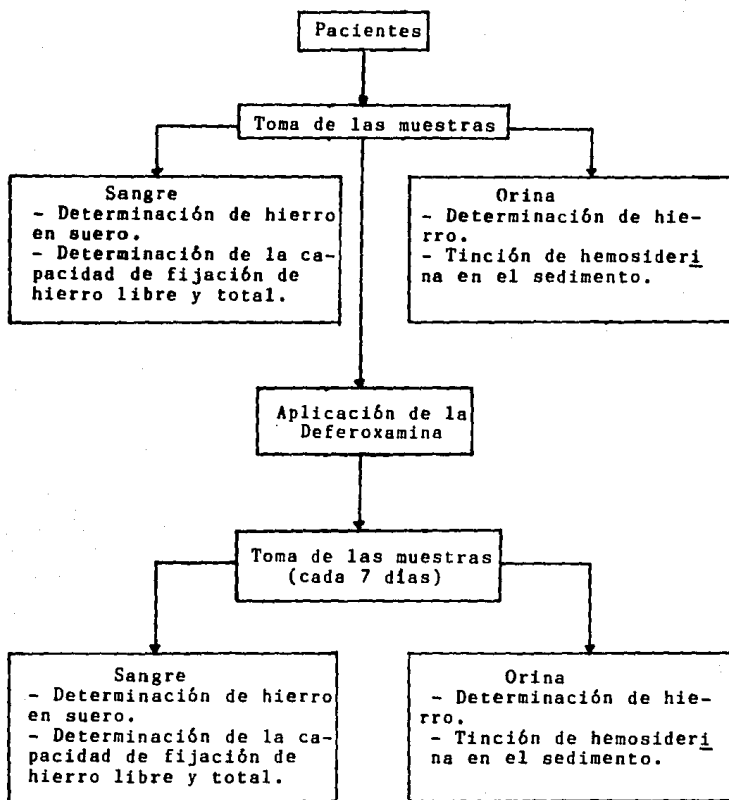
Reactivo de Turk

Safranina al 0.1% *

Versenato de Sodio al 1%

* La preparación de estos reactivos se incluye en el apéndice.

3.2. Esquema de Trabajo:



3.3. Métodos:

3.3.1. Determinación de Hierro Sérico

Fundamento:

El hierro se encuentra unido a la proteína transferrina en el suero, siendo escindido mediante un amortiguador de fosfatos ligeramente ácido, quedando las proteínas en solución. Se efectúa una reacción con batofenantrolina sulfonada formándose un compuesto de color rojo que se determina fotométricamente.

Procedimiento:

Colocar en celdillas 10 x 75 mm los siguientes reactivos en los volúmenes indicados:

	Problema	Testigo	Blanco	Patrón
Ascorbato de sodio	una cucharadita a c/u (aprox. 5mg)			
Amortiguador	-	0.5	-	- ml
Reactivo de color	0.5	-	0.5	0.5 ml
Agua bidestilada	-	-	0.5	- ml

Disolver el ascorbato agitando despacio

Suero	0.5	0.5	-	- ml
Solución patrón Fe	-	-	-	0.5 ml

Mezclar, tapar los tubos de ensaye y dejarlos 10 min, - en baño de agua a 37°C. Después de enfriar a temperatura ambiente, medir las extinciones de los problemas contra el blanco de reactivos, y las extinciones del testigo contra agua bidestilada. Máximo de extinción: 535 nm.

Cálculos: Hierro en suero (mcg/100ml):

Concentración de hierro = $(E_{pr} - E_b) \times F$ mcg/100 ml

$$F = \frac{100}{E_{pn}}$$

Donde:

Epr = Extinción del problema

Eb = Extinción del testigo

Epn = Extinción del patrón

Valores de Referencia:

Hombres: 59 - 158 mcg/100ml

Mujeres: 37 - 145 mcg/100ml

Niños: 90 - 190 mcg/100ml

Nota: El material de vidrio utilizado deberá ser libre de hierro.

3.3.2. Determinación de Hierro en Orina

Se realiza la determinación en orina de 24 horas, midiendo el volumen final y realizando una dilución 1:10, tomando después 1 ml de esta solución y siguiendo la misma técnica que para la determinación de hierro en suero, usando una solución estándar.

Procedimiento:

Agregar en celdillas 12 x 75 mm los siguientes reactivos en los volúmenes indicados:

	Problema	Testigo	Blanco	Patrón
Ascorbato de sodio	una cucharadita a c/u (aprox. 5mg)			
Amortiguador	-	1.0	-	- ml
Reactivo de color	1.0	-	1.0	1.0 ml
Agua bidestilada	-	-	1.0	- ml

Disolver el ascorbato agitando despacio

Orina	1.0	1.0	-	- ml
Solución patrón Fe	-	-	-	1.0 ml

Mezclar, tapar los tubos y dejarlos 10 minutos en baño de agua a 37°C. Dejarlos enfriar y medir las extinciones de los problemas contra el blanco de reactivos y las extinciones del testigo contra agua bidestilada. Máximo de extinción: 535 nm.

Cálculos: Hierro en orina (mg/24 hrs):

$$\frac{\text{Abs prob}}{\text{Abs pn}} \times \text{Cpn} \times \frac{\text{Volumen de orina de 24 horas}}{0.1 \text{ ml}} = \text{Fe en orina}$$

Donde:

Cprob = Concentración del problema

Abs prob = Absorbancia del problema

Abs pn = Absorbancia del patrón

Valores de Referencia:

aprox. 0.2 mg/24 horas.

Nota: El material utilizado deberá encontrarse libre de hierro.

3.3.3. Determinación de la Capacidad de Fijación de Hierro

Fundamento:

La cantidad de hierro en el suero se encuentra limitado por la acción de la proteína transferrina. Normalmente esta proteína se encuentra alrededor de una - tercera parte saturada con el hierro del suero. Una cantidad adicional de hierro puede ser empleada por la - transferrina y así poder determinar la capacidad de fijación de hierro no utilizada. En un medio favorable - (pH 8.3), la transferrina puede saturarse con el hierro en un corto período de tiempo. Posteriormente se realiza una reducción del hierro no captado, y mediante el - uso de un reactivo de coloración (batofenantrolina sulfonada) se transforma en un compuesto de color rojo que se determina fotométricamente. La diferencia entre el - hierro adicionado y el hierro no captado después de la saturación de la transferrina, es la capacidad de fijación de hierro no utilizada. La suma de la capacidad de fijación de hierro no utilizada y la concentración de - hierro en suero equivale a la capacidad total de fijación de hierro.

Procedimiento:

Colocar en las celdillas 10 x 75 mm los volúmenes indicados de los siguientes reactivos:

	Problema	Testigo	Blanco	Patrón
Suero	0.5	0.5	-	- ml
Amortiguador pH 8.3	0.25	0.25	0.25	0.25ml
Solución patrón Fe	0.1	0.1	-	0.1 ml

Mezclar, tapar los tubos y colocarlos en un baño de agua a 45°C por 10 minutos.

	Problema	Testigo	Blanco	Patrón
Solución reductora	0.1	0.1	0.1	0.1 ml
Agua bidestilada	-	0.1	0.6	0.5 ml
Reactivo de color	0.1	-	0.1	0.1 ml

Mezclar, tapar los tubos e incubar en un baño de agua a 45°C por 90 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y - medir las absorbancias de los problemas contra el blanco de reactivos y las absorbancias de los testigos contra agua bidestilada. Máximo de extinción: 535 nm.

Cálculos:

Capacidad de fijación de hierro no utilizada:

CFHNU = (Ast - Ap + Ab) F = Conc. mcg/dl

$$F = \frac{500}{Ast}$$

Donde:

Ast = Absorbancia del estándar

Ap = Absorbancia del problema

Ab = Absorbancia del testigo

Capacidad Total de Fijación de Hierro:

CTFH = CFHNU + Concentración de hierro en suero

Valores de Referencia:

	CFHNU	CTFH	
Hombres:	200-300	300-400	mcg/dl
Mujeres:	150-250	250-350	mcg/dl

Nota: El material utilizado deberá encontrarse libre de hierro.

3.3.4. Tinción de Hemosiderina en Orina

Fundamento:

La prueba se basa en la reacción descrita en 1936_ por Gomori entre el colorante Azul de Prusia (que es - una solución ácida de ferrocianuro) y el hierro presente en la hemosiderina, que en medio ácido se libera fácilmente como hierro iónico, dando origen a un complejo de ferrocianuro férrico que se presenta como un pigmento azul.

Procedimiento:

- 1) Mezclar en partes iguales la solución al 1% de ácido clorhídrico con la solución al 1% de ferrocianuro de potasio (reactivo Azul de Prusia).
- 2) Filtrar.
- 3) Centrifugar la orina 5 minutos.
- 4) Eliminar el sobrenadante y extender el sedimento en una laminilla, dejar secar al aire.
- 5) Fijar el frotis en éter etílico durante 10 segundos_ y secar.
- 6) Sumergir el frotis en Azul de Prusia de 30 minutos a 1 hora.
- 7) Sacar el frotis del reactivo y sin lavar, teñir con Safranina para contraste durante 5 segundos y lavar - (safranina al 1%).

Interpretación de los Resultados:

La presencia de gránulos azules intracelulares - constituye una prueba positiva, vista al microscopio en objetivo de inmersión.

CAPITULO IV

CAPITULO IV

RESULTADOS

Durante el desarrollo de este trabajo, realizado en el Laboratorio de Hematología Especial del Hospital General Centro Médico "La Raza" del I.M.S.S., fueron estudiados 8 pacientes en edad pediátrica con diversos padecimientos de origen hematológico (ver tabla 2), que ingresaron a la unidad de Hematopediatría con diagnóstico de Hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas. A estos pacientes se les tomaron muestras iniciales de sangre y orina y se realizaron las determinaciones de hierro sérico y urinario, de captación de hierro y hemosiderina en el sedimento urinario. Posteriormente los pacientes fueron sometidos a un tratamiento con Deferoxamina que fué aplicada por vía subcutánea mediante una bomba de infusión. Para realizar un estudio comparativo de la eficacia del tratamiento a diferentes tiempos de aplicación, los pacientes fueron seleccionados en dos grupos: al grupo no. 1 se le aplicó la dosis de Deferoxamina en un lapso de 12 horas continuas, y al grupo no. 2 en un periodo de 6 horas continuas. La dosis aplicada para el grupo no. 1 fué de 1000 mg de Deferoxamina diluida en 10 ml de solución salina isotónica al 0.9%, y para el grupo no. 2 fué de 500 mg de Deferoxamina diluida en 5 ml de solución salina isotónica al 0.9%. La aplicación del tratamiento se efectuó 5 días seguidos a la semana durante 4 semanas. Diariamente se hizo la recolección de muestra de orina de 24 horas excepto los días en que no existía aplicación del tratamiento, haciendo la determinación de la concentración de hierro correspondiente, y cada 7 días de aplicación.

de la Deferoxamina, se tomaron muestras de orina y sangre y se realizó la determinación de hierro, de la capacidad de captación de hierro además de la tinción de hemosiderina en el sedimento urinario.

Tabla 2. Cuadro descriptivo de los pacientes con diagnóstico de Hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas en tratamiento con Deferoxamina.

Grupo 1				
PACIENTE	SEXO	ENFERMEDAD PRIMARIA	CUADRO CLINICO ANTES DEL TRAT.	APORTE DE HIERRO APROX. RECIBIDO POR TRANSF. (g)
1	M	Drepanocitosis	Hepatomegalia, Esplenomegalia, Hiperpigmentación Cutánea severa, Retraso en el crecim.	25.8
2	M	Aplasia Selectiva de Serie Roja	Hepatomegalia, Esplenomegalia, Hiperpigmentación Cutánea.	21.6
3	F	Anemia de Fanconi	Pigmentación Cutánea ligera, Disfunción hepática, Cansancio.	19.4
4	M	Drepanocitosis	Retraso en el crecim., Disfunción hepática.	13.5

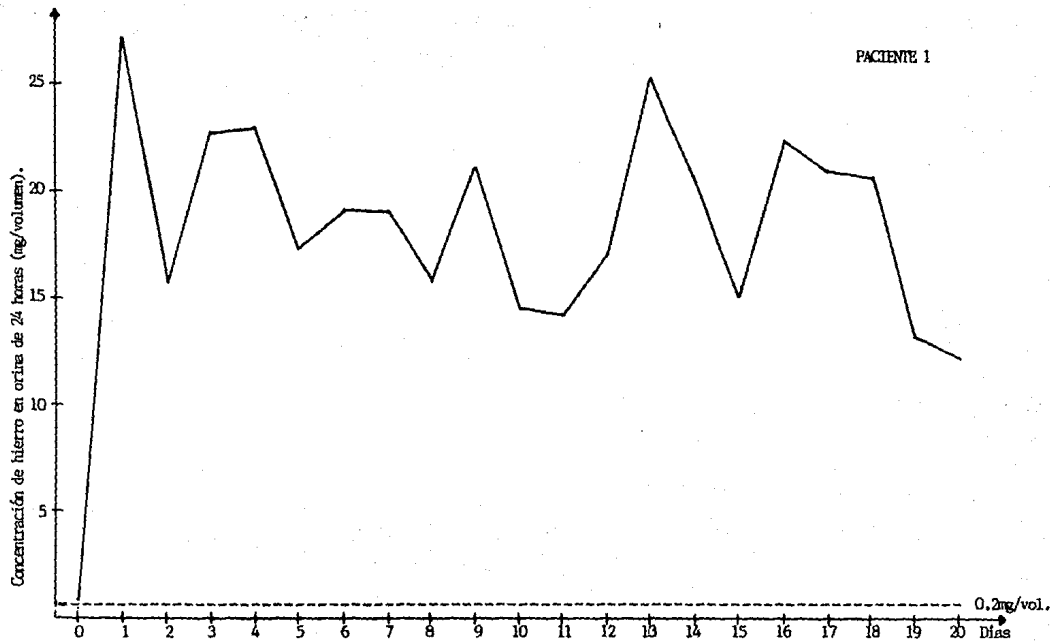
Tabla 2 (cont.). Cuadro descriptivo de los pacientes con diagnóstico de Hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas en tratamiento con Deferoxamina.

Grupo 2				
PACIENTE	SEXO	ENFERMEDAD PRIMARIA	CUADRO CLINICO ANTES DEL TRAT.	APORTE DE HIERRO APROX. RECIBIDO POR TRANSF. (g)
5	F	Drepanocitosis	Pigmentación Cutánea ligera, Retraso en el crecim., Disfunción hepática.	16.9
6	M	Aplasia Selectiva de Serie Roja	Hiperpigmentación Cutánea, Retraso en el crecim. Hepatomegalia.	18.5
7	M	Drepanocitosis	Disfunción hepática, Arritmias cardiacas.	14.2
8	M	Drepanocitosis	Hepatomegalia, Retraso en el crecim.	10.8

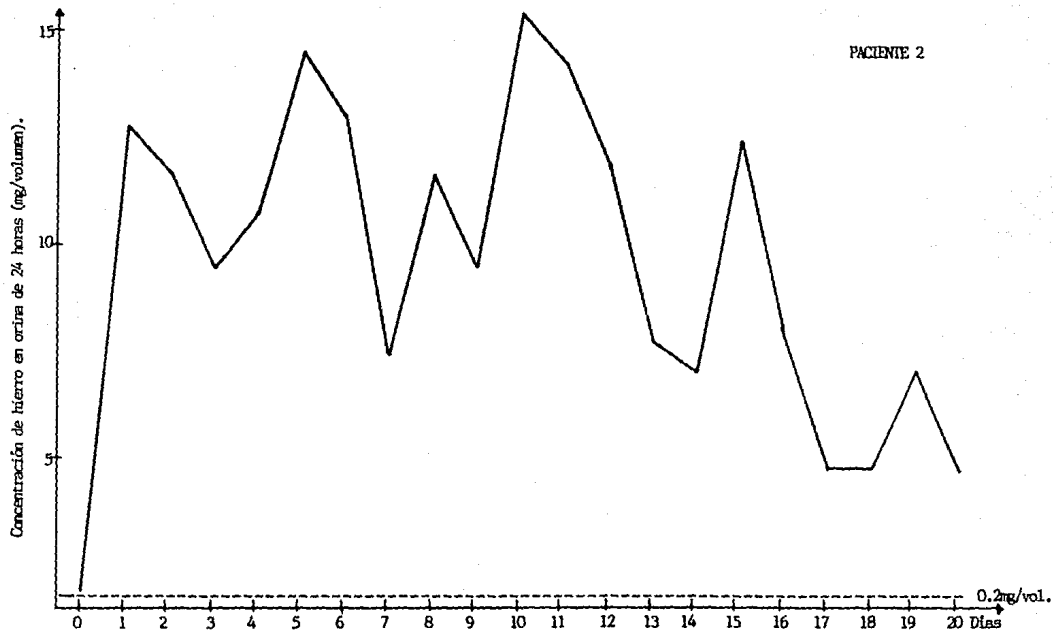
Tabla 3. Resultados de la determinación de hierro en orina en pacientes con Hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina, en mg/volumen de orina de 24h.

Grupo 1					Grupo 2			
Día	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8
0*	0.33	0.60	0.21	0.12	0.06	0.93	0.18	0.06
1	27.37	12.95	3.52	0.69	0.77	1.95	1.44	0.80
2	15.90	11.78	4.44	2.70	1.37	1.53	0.98	0.68
3	23.00	9.50	2.51	0.48	2.00	2.05	1.33	0.00
4	23.10	10.80	1.82	0.63	0.65	2.67	0.90	0.12
5	17.50	14.50	4.71	0.74	1.29	4.20	0.90	0.36
6	19.21	13.04	3.81	1.28	2.43	1.78	1.41	0.14
7	19.07	7.51	4.25	2.85	1.44	3.50	2.04	0.00
8	15.93	11.70	3.56	0.53	1.00	2.75	1.28	0.60
9	21.13	9.50	0.00	1.22	0.94	1.45	1.81	0.49
10	14.62	15.49	4.54	1.14	2.05	1.24	1.90	0.73
11	14.30	14.30	2.91	0.22	2.31	1.87	1.28	0.06
12	17.22	11.90	3.96	0.99	0.81	0.46	1.08	0.13
13	25.20	7.87	2.76	0.61	1.51	1.92	2.16	0.20
14	20.78	7.17	2.04	0.33	1.80	1.46	0.50	0.21
15	15.18	12.45	1.67	0.00	1.27	1.55	0.47	0.42
16	22.44	8.04	0.00	0.66	1.85	1.41	0.53	0.35
17	21.00	4.87	2.96	0.62	1.12	1.72	0.93	0.78
18	20.75	4.87	2.24	0.03	1.78	1.12	0.59	0.08
19	13.16	7.12	2.50	0.10	1.78	1.72	1.10	0.21
20	12.37	4.72	2.09	0.21	0.87	1.90	0.47	0.20

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

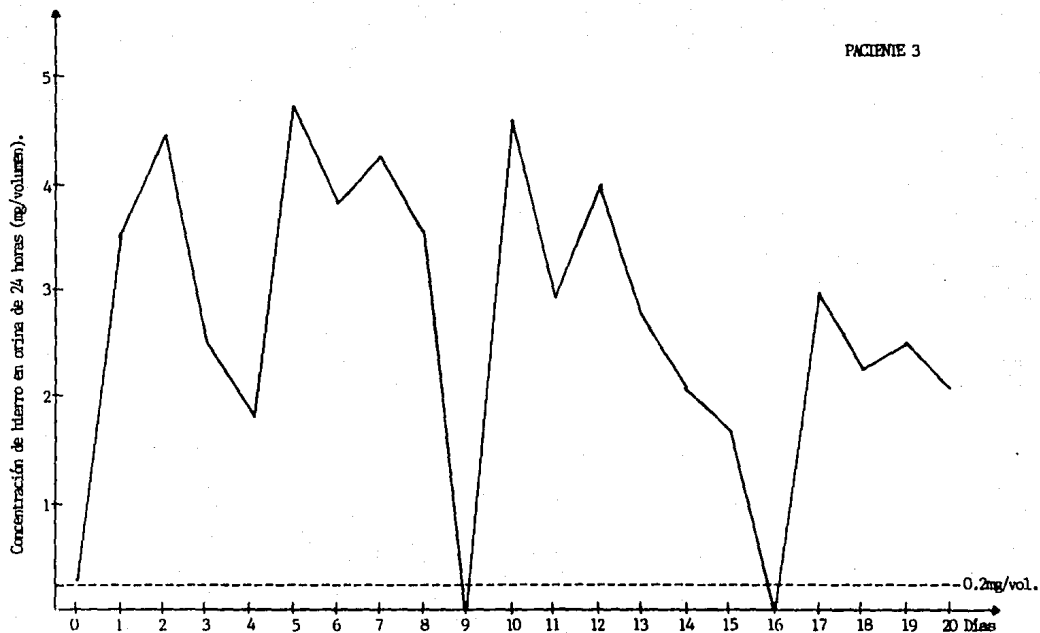


Gráfica 1. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



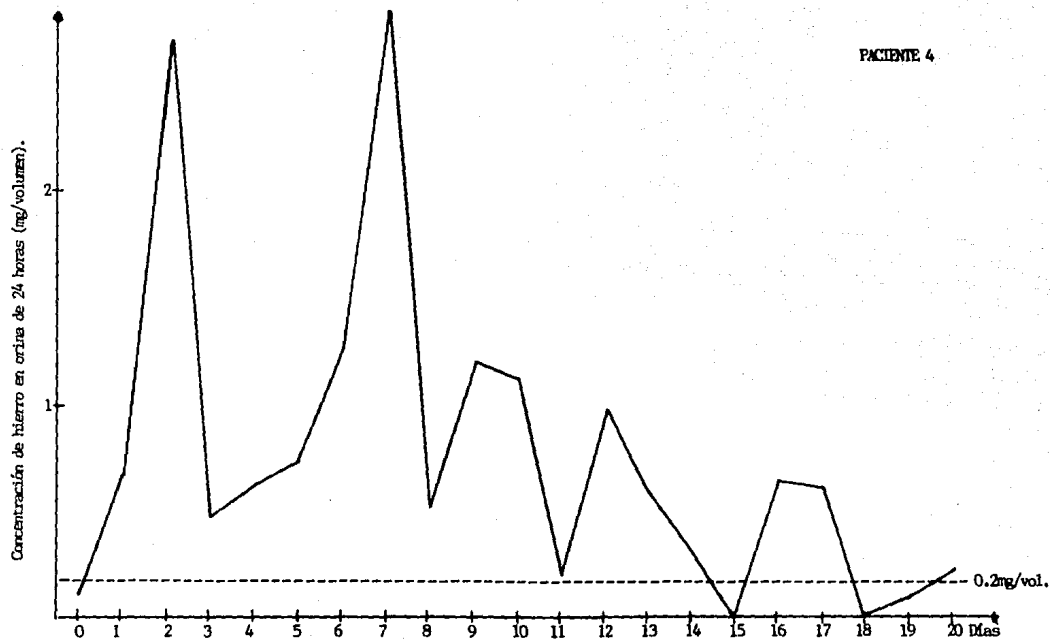
Gráfica 2. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE 3



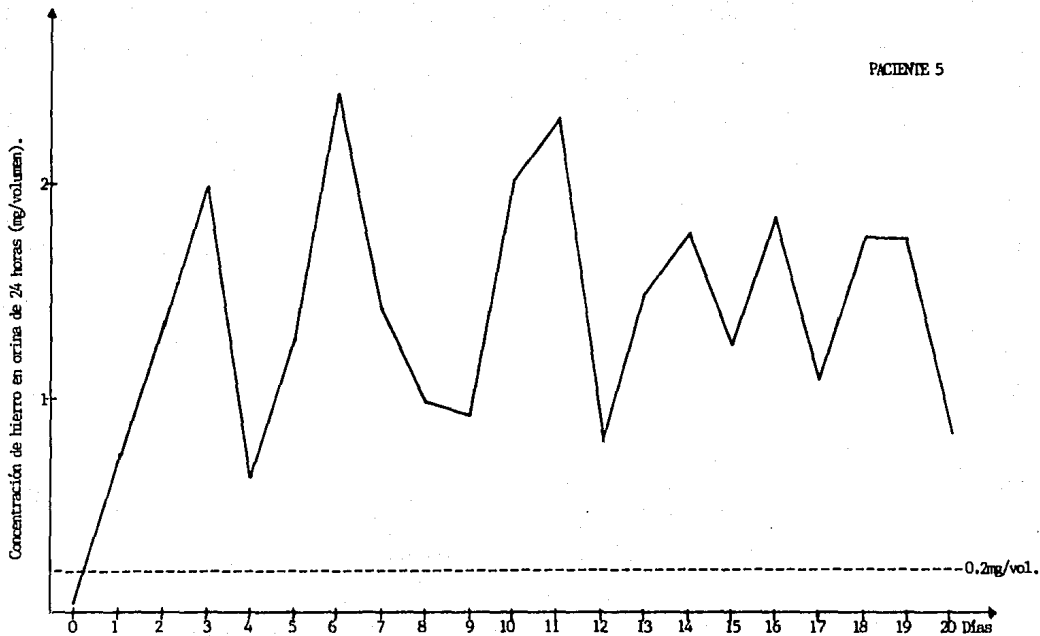
Grafica 3. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE 4



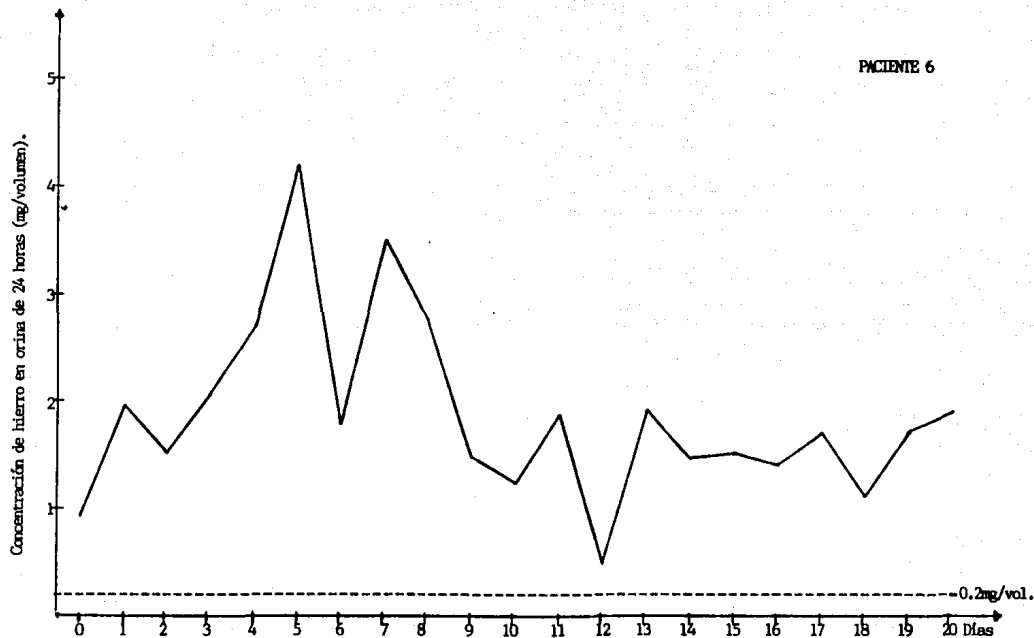
Gráfica 4. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferosamina.

0 h



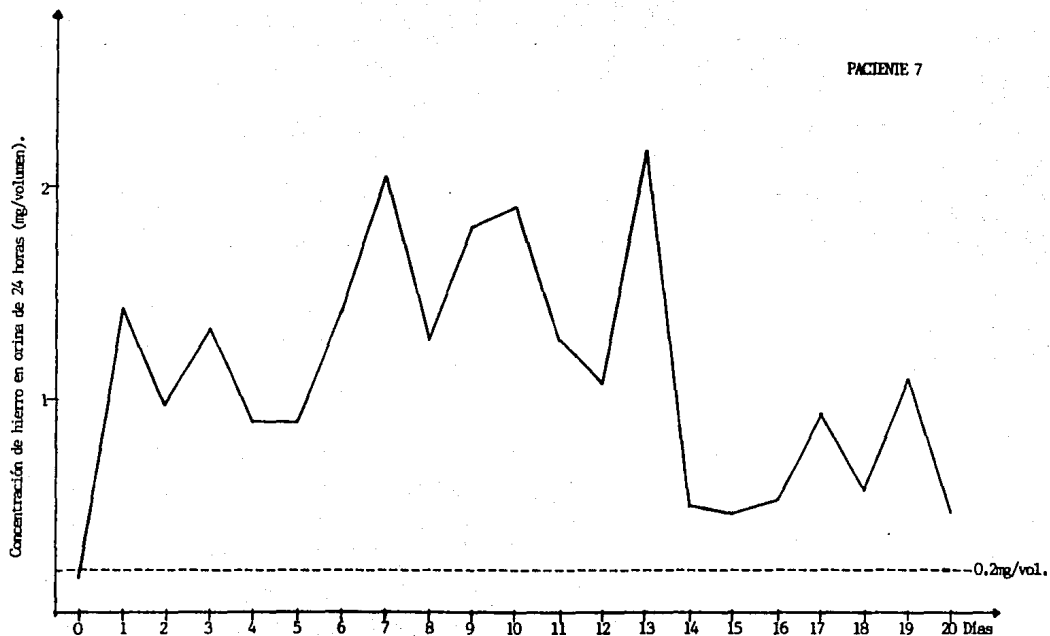
Gráfica 5. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferozamina.

PACIENTE 6



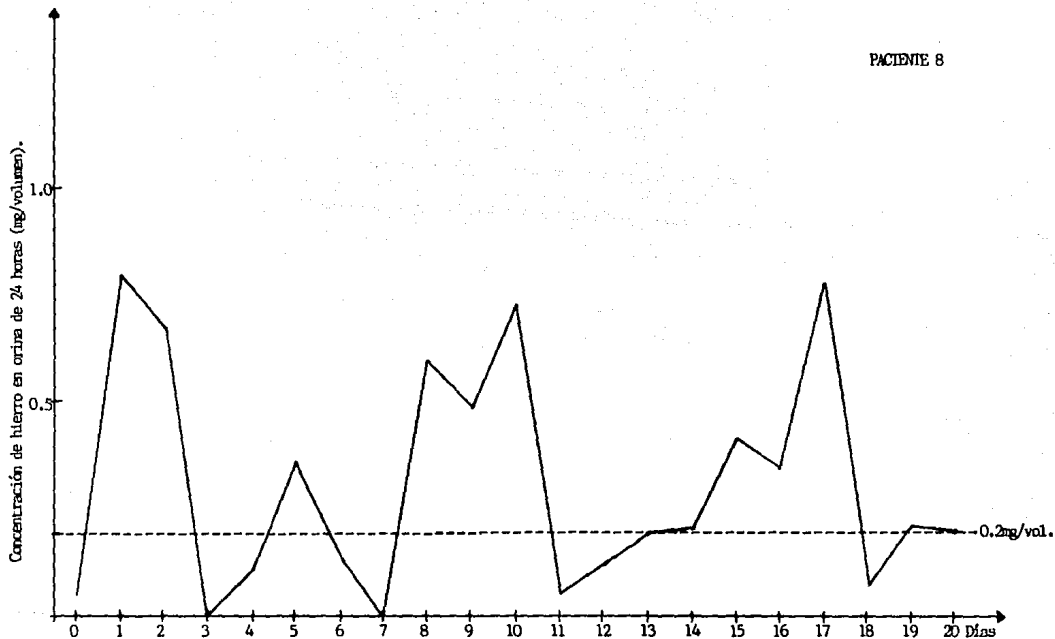
Gráfica 6. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferosamina.

PACIENTE 7



Gráfica 7. Determinación de hierro en orina en pacientes con hem siderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE 8



Gráfica 8. Determinación de hierro en orina en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

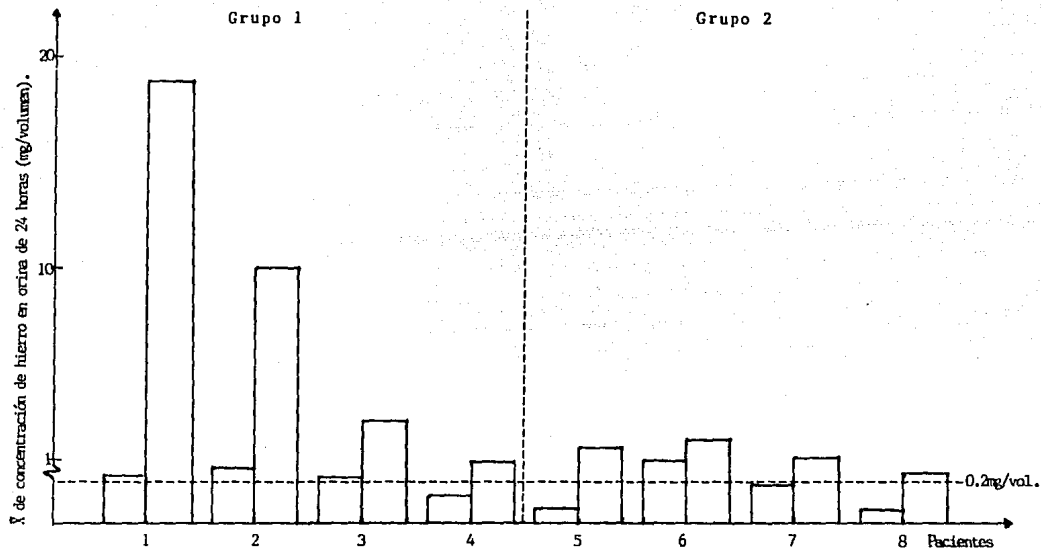
Tabla 4. Valores estadísticos obtenidos de los resultados de las de
terminaciones de hierro en orina en pacientes con hemoside
rosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina. (mg/vol)

PACIENTE	SUMA TOTAL DE HIERRO	\bar{X} DE ELIMINACION DE HIERRO AL DIA	DESVIACION ESTANDAR	COEFICIENTE DE VARIACION
Grupo 1:				
1	379.23	18.96	4.03	0.21
2	200.08	10.00	3.27	0.32
3	56.29	2.81	1.31	0.46
4	16.03	0.80	0.75	0.93
Grupo 2:				
5	29.04	1.45	0.51	0.35
6	38.25	1.91	0.81	0.42
7	23.10	1.15	0.51	0.44
8	6.56	0.32	0.25	0.79

Tabla 4 (bis). Cuadro comparativo de la suma total de hierro en orina y el aporte de hierro recibido por transfusiones (gr). en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE	SUMA TOTAL EN ORINA*	APORTE DE HIERRO POR TRANSFUSIONES
Grupo 1:		
1	379.23	25.8
2	200.08	21.6
3	56.29	19.4
4	16.03	13.5
GRupo 2:		
5	29.04	16.9
6	38.25	18.5
7	23.10	14.2
8	6.56	10.8

* mg/vol.

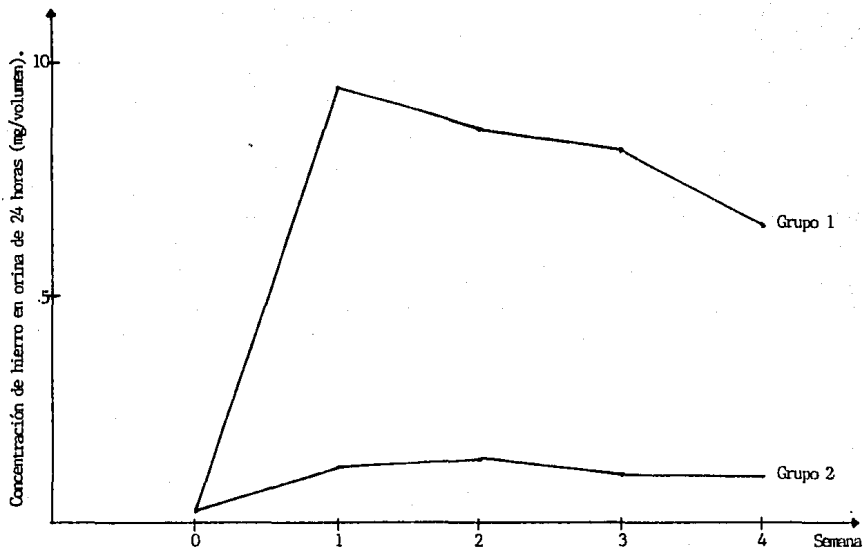


Gráfica 9. Comparación de los valores obtenidos al tiempo cero (barra izquierda) con el promedio de eliminación de hierro en orina diario (barra derecha) durante el tratamiento con Deferoxamina, en pacientes con hemosiderosis secundaria.

Tabla 5: Valores promedio obtenidos de la determinación de hierro_ en orina por semana de tratamiento, para cada grupo de pa cientes con hemosiderosis secundaria.

SEMANA	PROMEDIO	
	GRUPO 1	GRUPO 2
0*	0.31	0.30
1	9.43	1.29
2	8.51	1.44
3	8.09	1.07
4	6.53	1.02

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

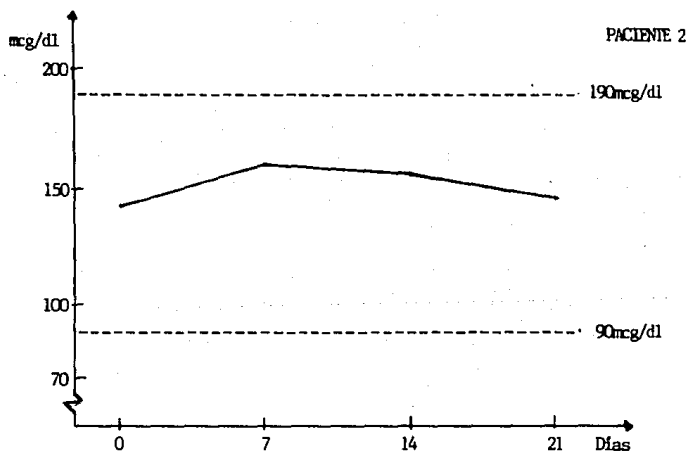
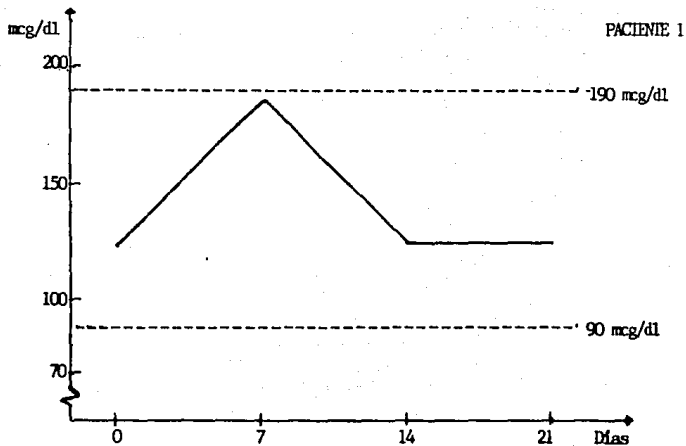


Gráfica 10. Comparación de los valores obtenidos por semana de tratamiento de la determinación de hierro en orina, por grupo de pacientes con hemociderosis secundaria.

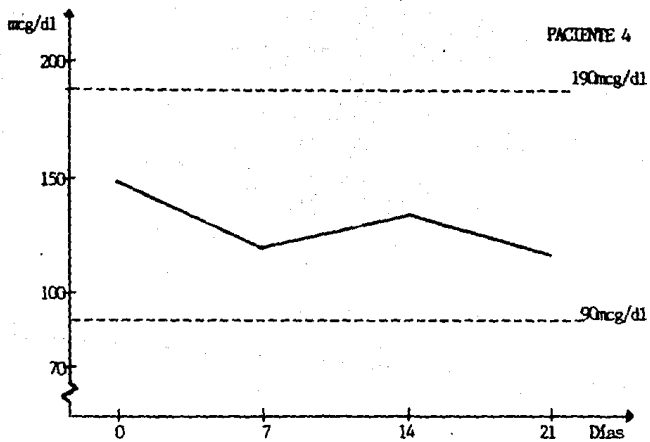
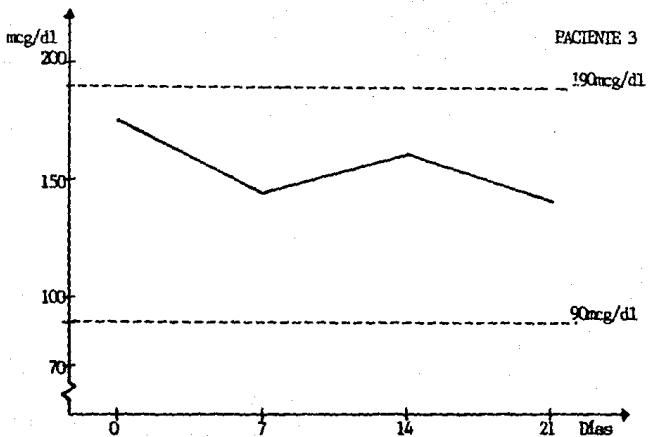
Tabla 6. Determinación de hierro en suero en pacientes con hemosi-
derosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina, en -
mg/dl.

PACIENTE	CONCENTRACION DE HIERRO EN SUERO			
	DIA 0*	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Grupo 1:				
1	125.0	187.5	125.0	125.0
2	143.7	160.0	156.2	146.6
3	176.9	144.4	162.5	142.5
4	150.0	122.2	137.5	120.0
Grupo 2:				
5	149.9	187.5	187.5	180.3
6	168.7	156.2	137.5	118.7
7	137.5	94.4	89.4	72.4
8	93.7	127.7	143.7	125.0

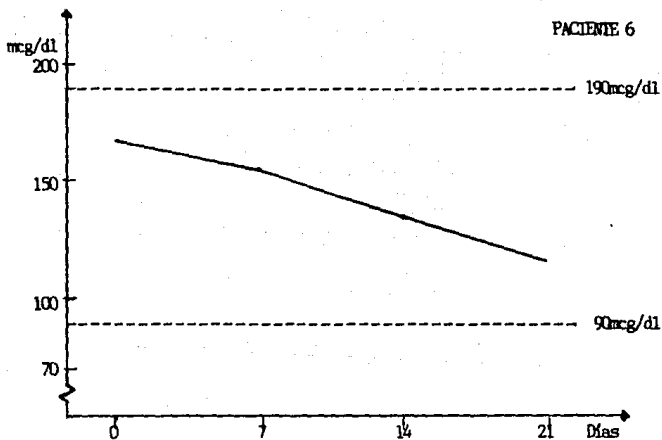
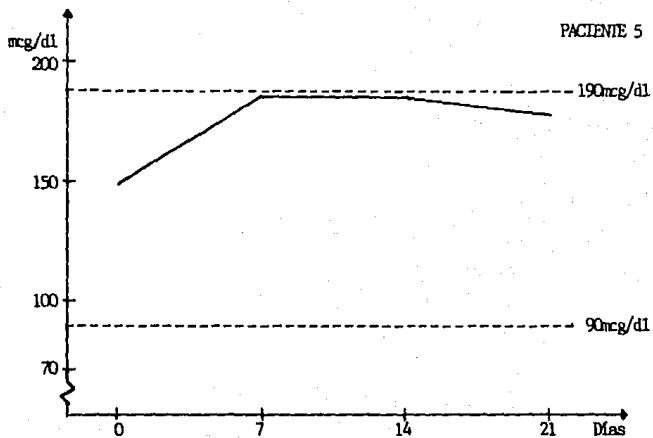
* Resultados obtenidos antes del tratamiento.



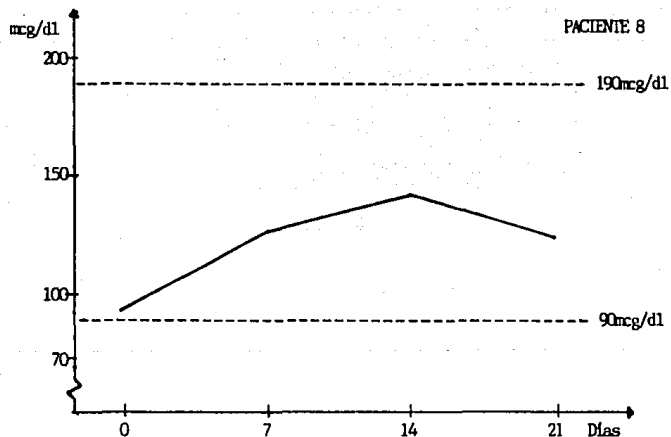
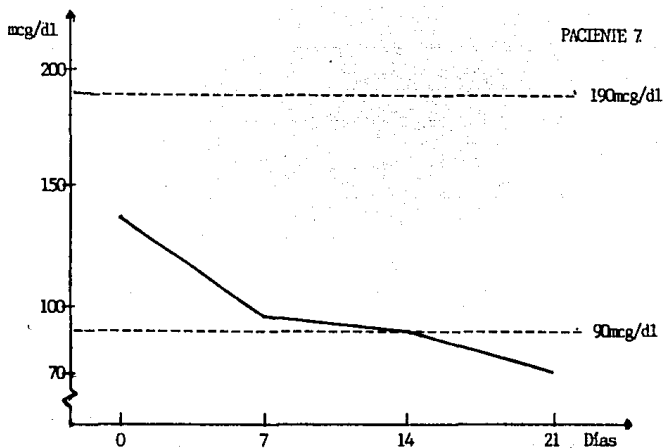
Gráfica 11. Determinación de hierro en suero en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



Gráfica 12. Determinación de hierro en suero en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



Gráfica 13. Determinación de hierro en suero en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

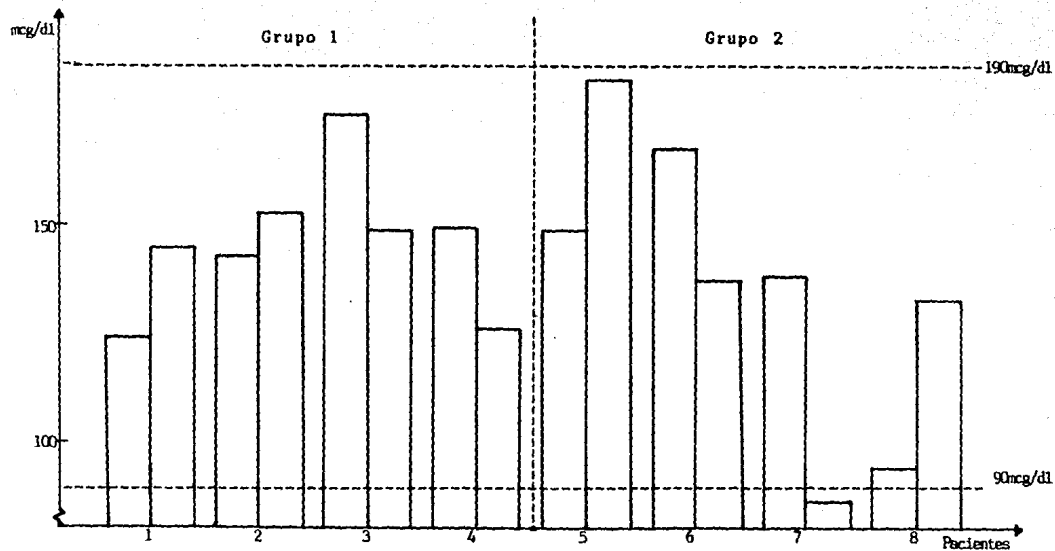


Gráfica 14. Determinación de hierro en suero en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

Tabla 7. Valores estadísticos obtenidos de los resultados de las 4 determinaciones de hierro sérico en pacientes con hemosi-
derosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE	VALOR BASAL	PROMEDIO DE HIERRO SERICO	DESVIACION ESTANDAR	COEFICIENTE DE VARIACION
Grupo 1:				
1	125.0	145.8	29.46	0.20
2	143.7	154.2	5.63	0.03
3	176.9	149.8	9.01	0.06
4	150.0	126.5	7.78	0.06
Grupo 2:				
5	149.9	185.1	3.39	0.01
6	168.7	137.4	15.30	0.11
7	137.5	85.4	9.41	0.11
8	93.7	132.1	8.25	0.06

Conc. en mg/100ml.

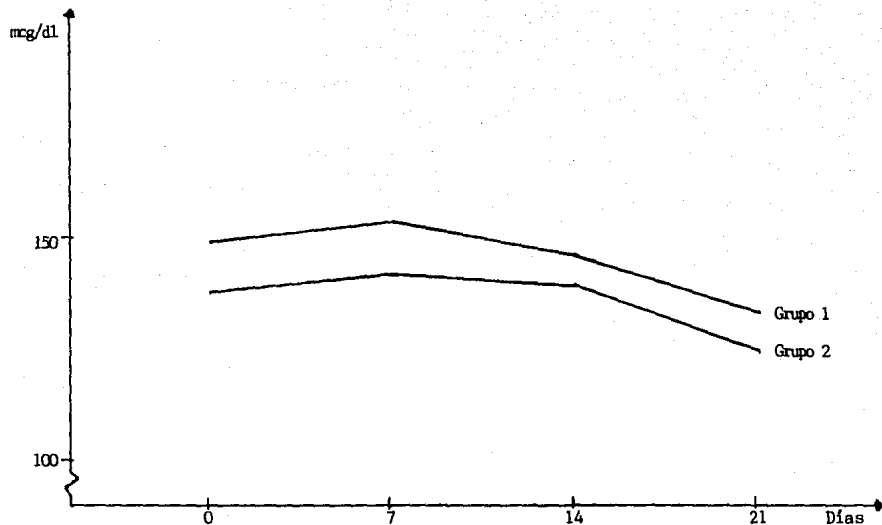


Gráfica 15. Comparación de los valores obtenidos al tiempo cero (barra izquierda) con el promedio de las determinaciones de hierro en suero (barra derecha) durante el tratamiento con Deferosemina, en pacientes con hem siderosis secundaria.

Tabla 8. Valores promedio obtenidos de la determinación de hierro sérico por día de toma de muestra, para cada grupo de pacientes con hemosiderosis secundaria.

DIA	PROMEDIO	
	GRUPO 1	GRUPO 2
0*	148.9	137.5
7	153.5	141.4
14	145.3	139.5
21	133.5	124.1

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.



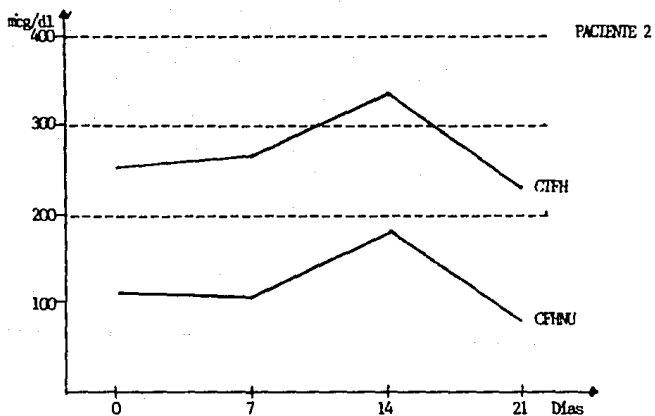
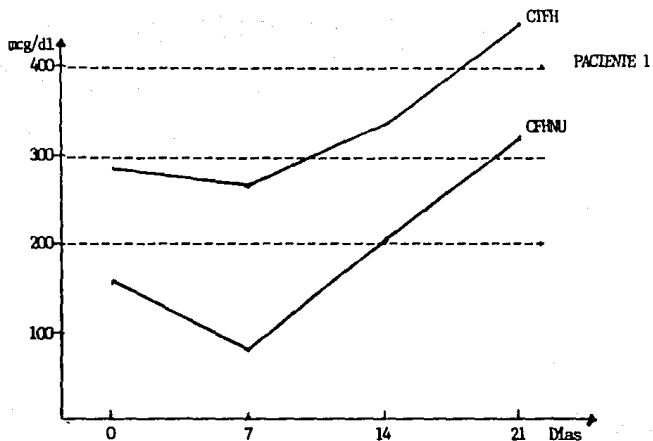
Gráfica 16. Comparación de los valores obtenidos de las determinaciones de hierro en suero, por grupo de tratamiento en pacientes con hemochromatosis secundaria.

Tabla 9. Valores obtenidos de la determinación de la capacidad de fijación de hierro no utilizada y total en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

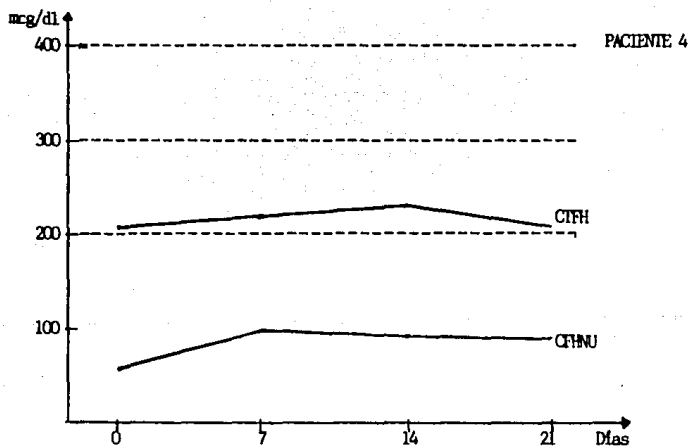
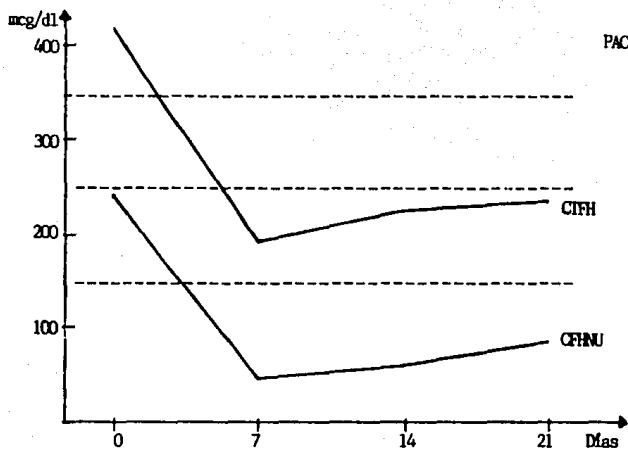
PACIENTE	DIA 0*		DIA 7		DIA 14		DIA 21	
	CFHNU	CTFH	CFHNU	CTFH	CFHNU	CTFH	CFHNU	CTFH
Grupo 1:								
1	163.2	288.2	81.7	269.2	209.0	334.0	324.5	449.5
2	112.2	255.9	110.0	270.0	181.2	338.0	84.9	231.5
3**	241.3	418.2	50.0	194.4	62.5	225.0	89.5	232.0
4	58.8	208.8	101.0	223.2	97.3	234.8	92.8	212.8
Grupo 2:								
5**	102.1	252.0	72.7	260.2	54.5	242.0	50.1	230.4
6	100.0	268.7	95.5	251.7	81.8	219.3	58.8	177.5
7	122.4	259.9	69.0	163.4	114.7	204.1	121.9	194.3
8	98.0	191.7	26.7	154.4	47.2	190.9	57.7	182.7

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

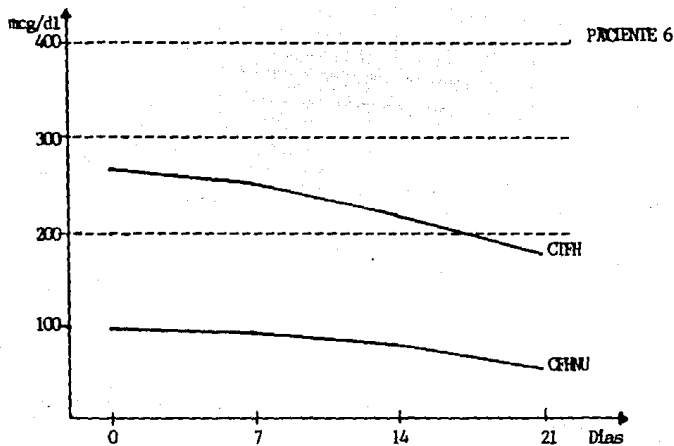
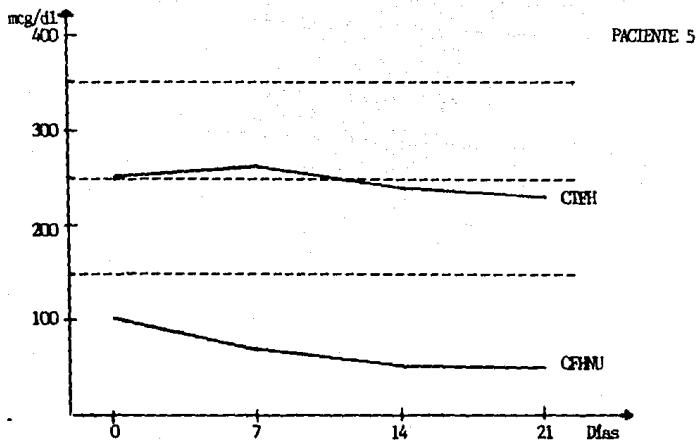
** Pacientes con sexo femenino.



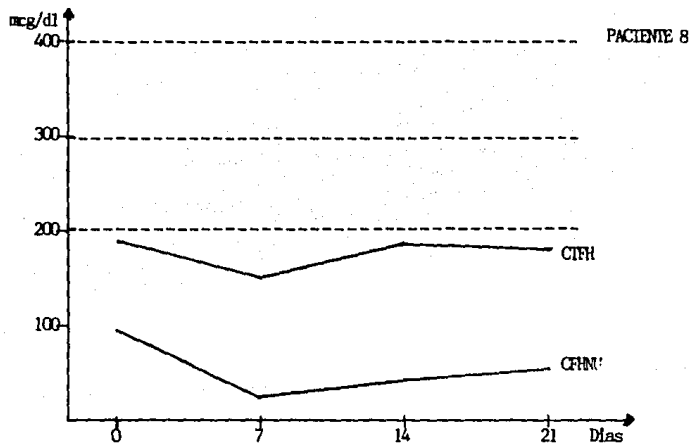
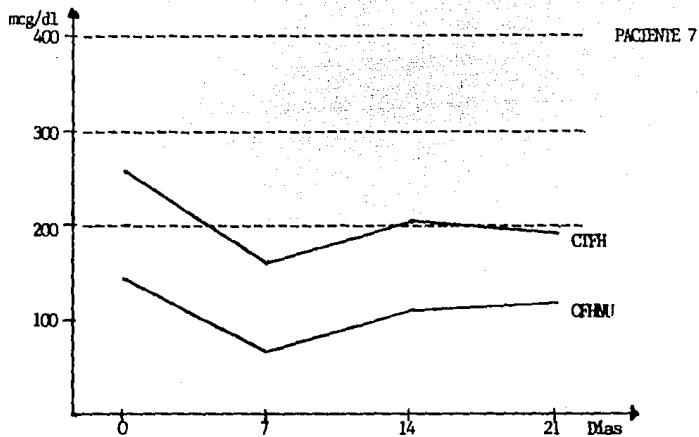
Gráfica 17. Resultados de la valoración de la CFHNU y de la CTFH en pacientes con hem siderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



Gráfica 18. Resultados de la valoración de la CFHU y de la CFH en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



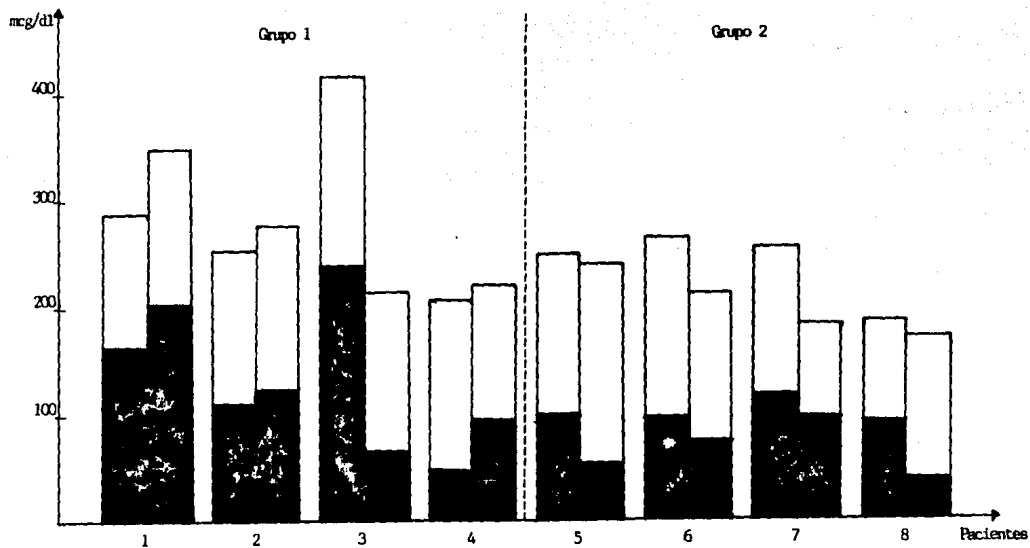
Gráfica 19. Resultados de la valoración de la CFHU y de la CTHH en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.



Gráfica 20. Resultados de la valoración de la CFHNU y de la CTFH en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

Tabla 10. Valores promedio obtenidos de las determinaciones de la -
CFHNU y de la CTFH durante el tratamiento con Deferoxami-
na en pacientes con hemosiderosis secundaria.

PACIENTE	PROMEDIO	
	CTFHNU	CTFH
Grupo 1:		
1	205.0	350.9
2	125.5	279.8
3	67.3	217.1
4	97.0	223.6
Grupo 2:		
5	59.1	244.2
6	78.7	216.1
7	101.8	187.2
8	43.8	176.0

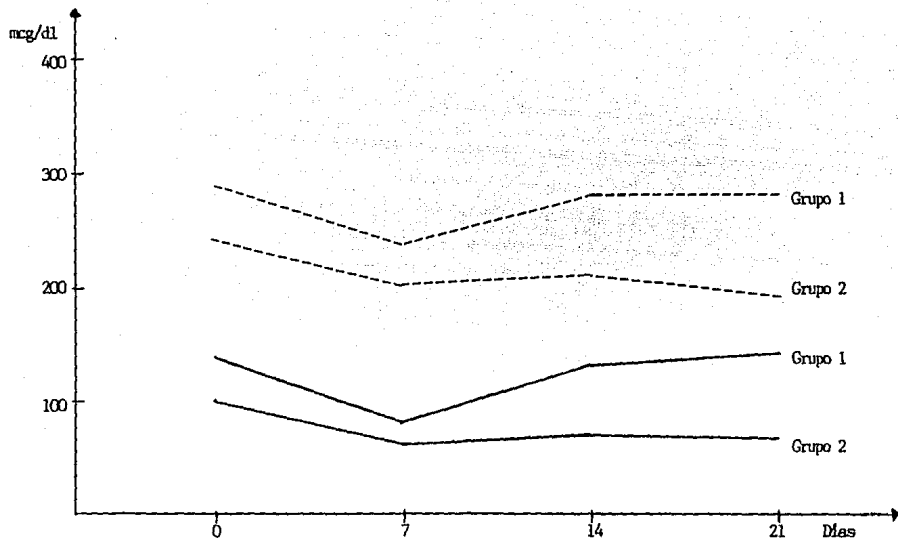


Gráfica 21. Comparación de los resultados obtenidos al tiempo cero (barra izquierda) con el promedio de las determinaciones de la CTH y la CFHU (barra derecha) durante el tratamiento con Deferosmina, en pacientes con hemosiderosis secundaria. La zona sombreada representa la CFHU y la zona clara la CTH.

Tabla 11. Valores promedio obtenidos de la determinación de la capacidad de fijación de hierro no utilizada y total por día de toma de muestra, para cada grupo de pacientes con hem siderosis secundaria.

DIA	PROMEDIO			
	GRUPO 1		GRUPO 2	
	CFHNU	CTFH	CFHNU	CTFH
0*	143.8	292.7	105.6	243.0
7	85.6	239.2	65.9	207.4
14	137.5	282.9	74.5	214.0
21	147.9	281.4	72.1	196.2

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

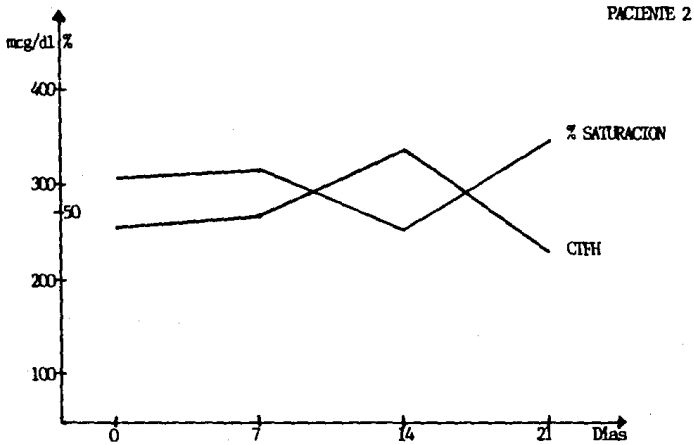
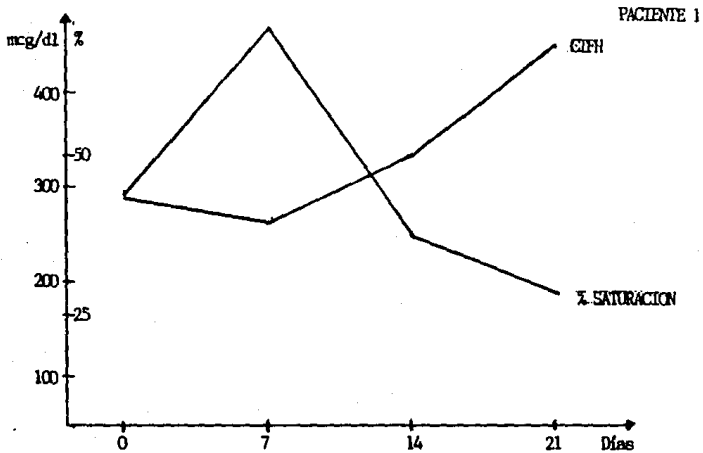


Gráfica 22. Comparación de los valores promedio obtenidos de las determinaciones de la CTFH y la CFNU, por grupo de tratamiento en pacientes con hemosiderosis secundaria. La línea punteada representa la CTFH y la línea continua la CFNU.

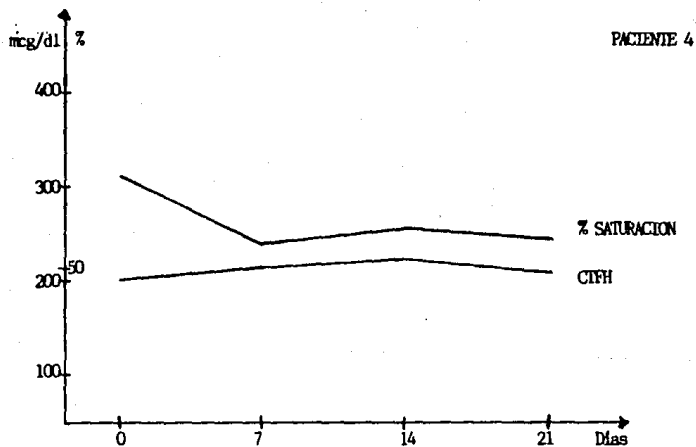
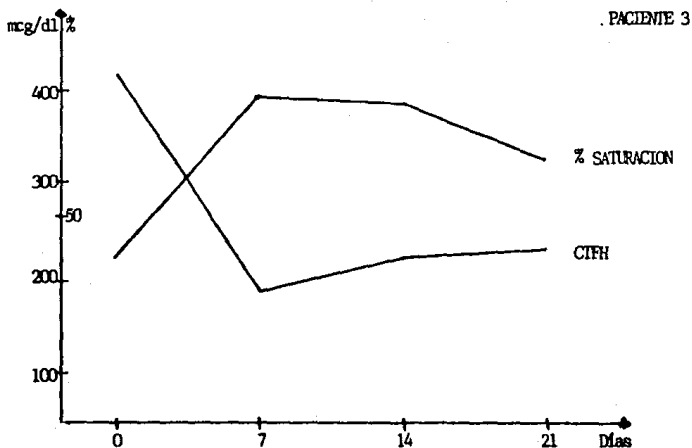
Tabla 12. % de Saturación de Transferrina en pacientes con hemosi-
 rosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE	% SATURACION			
	DIA 0*	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Grupo 1:				
1	43.3	69.6	37.4	27.8
2	56.1	59.2	46.2	63.3
3	42.5	74.2	72.2	61.4
4	71.8	54.7	58.5	56.3
Grupo 2:				
5	54.4	72.0	77.4	78.2
6	62.7	62.0	62.6	66.8
7	52.9	57.7	43.8	37.2
8	48.8	82.6	75.2	68.4

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

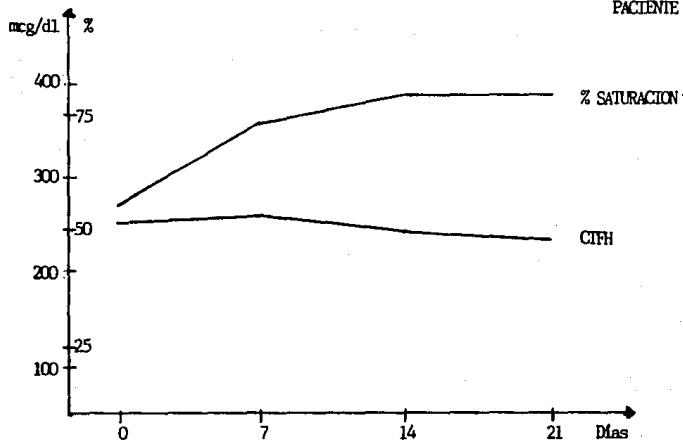


Gráfica 23. Comparación de los resultados obtenidos de la CTFH y el % de Saturación en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

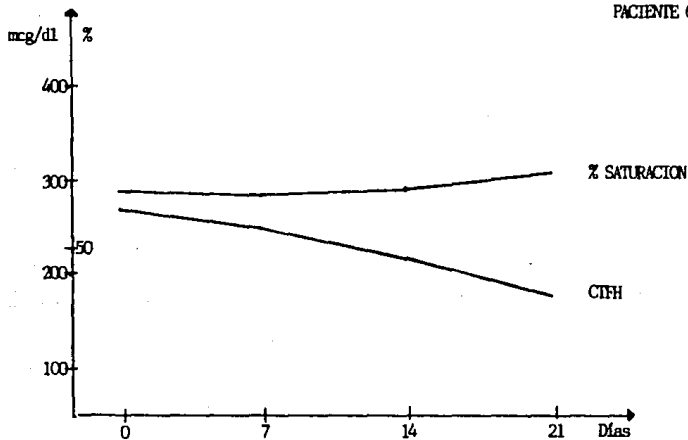


Gráfica 24. Comparación de los resultados obtenidos de la CTFH y el % de Saturación en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

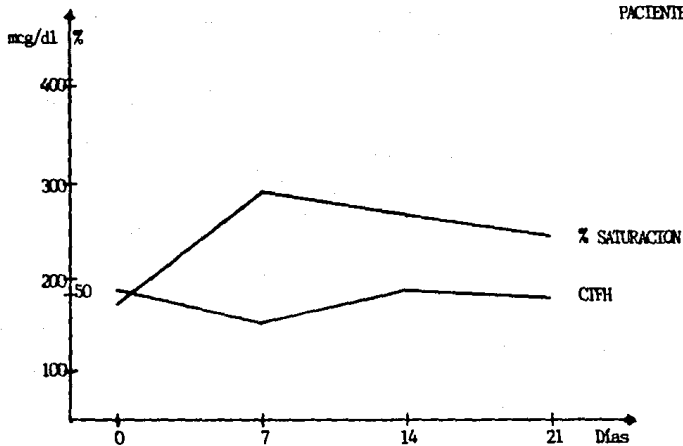
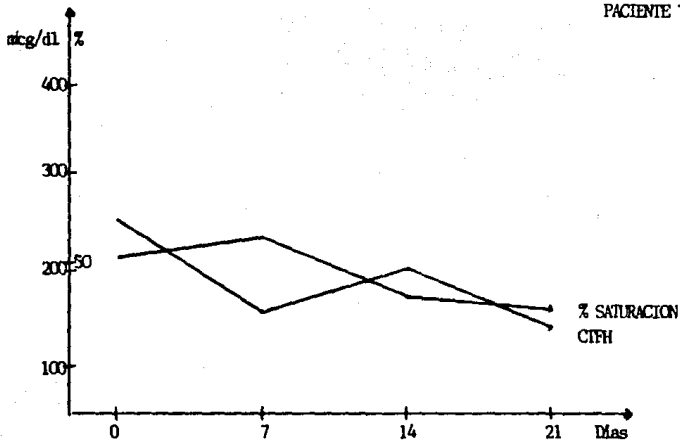
PACIENTE 5



PACIENTE 6



Gráfica 25. Comparación de los resultados obtenidos de la CTFH y el % de Saturación en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

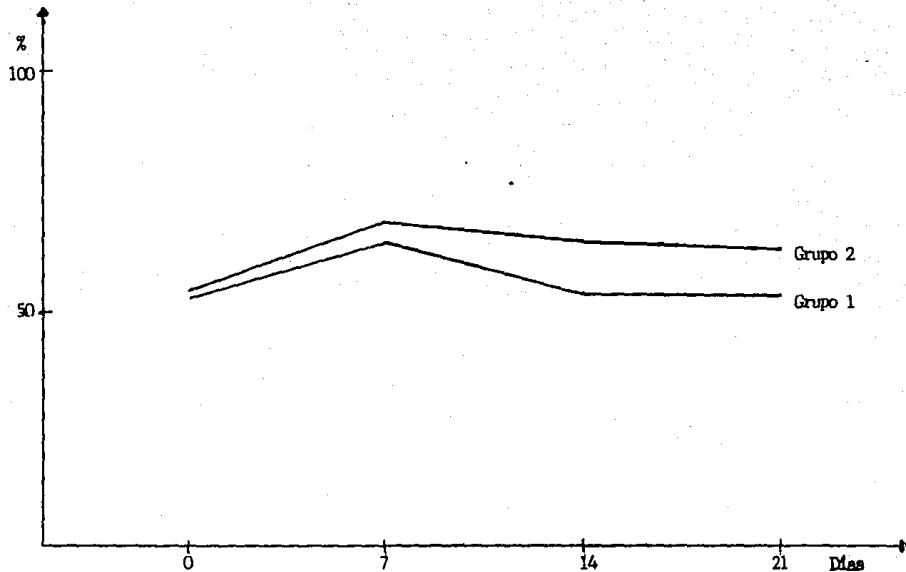


Gráfica 26. Comparación de los resultados obtenidos de la CTFH y el % de saturación en pacientes con hemosiderosis secundaria en tratamiento con Deferoxamina.

Tabla 13. Valores promedio obtenidos del % de Saturación de Transferrina por día de toma de muestra, para cada grupo de pacientes con hemosiderosis secundaria.

DIA	PROMEDIO	
	GRUPO 1	GRUPO 2
0*	53.4	54.7
7	64.4	68.5
14	53,5	64.7
21	52.2	62.6

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.



Gráfica 27. Comparación de los valores obtenidos del % de Saturación de Transferrina, por grupo de tratamiento en pacientes con hemociderosis secundaria.

Tabla 14. Resultados de las tinciones de hemosiderina en el sedimen
to urinario en pacientes con hemosiderosis secundaria en
tratamiento con Deferoxamina.

PACIENTE	TINCION 1*	TINCION 2	TINCION 3	TINCION 4
Grupo 1:				
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Grupo 2:				
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

* Resultados obtenidos antes del tratamiento.

CAPITULO V

CAPITULO V

ANALISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa - que existe un franco aumento de lo que es el valor normal de eliminación de hierro en orina diario y la eliminación del metal durante el tratamiento, lo que es indicativo de que el tratamiento con Deferoxamina resulta - muy eficaz en la desintoxicación de hierro en estos pacientes.

Cabe señalar que la modificación para orina del método de determinación de hierro en suero resultó muy eficaz, ya que fué rápido, sencillo y de fácil interpretación para la evaluación de este parámetro.

Durante el desarrollo de este trabajo, se verificó que la eliminación de hierro en orina se dió en relación proporcional directa con el índice de transfusiones sanguíneas recibidas por los pacientes; esto es, cuando -- existía una mayor cantidad en el organismo debido al aporte recibido por transfusiones, existió también una - mayor y más regular eliminación del metal en la la orina estando el paciente bajo tratamiento con Deferoxamina.

La dosis suministrada de Deferoxamina a los pacientes con hemosiderosis secundaria también influyó de manera directa a la eliminación de hierro urinario, observándose que a mayor cantidad de Deferoxamina aplicada se verificó una mayor eliminación de hierro, lo que es indicativo que la vida media del medicamento es mayor a tiempos más prolongados de aplicación. Sin embargo, se observaron mayores reacciones adversas en los pacientes a los que se les aplicó una dosis de 1000 mg. de Deferoxamina que en los que se aplicó una dosis de 500 mg.

Es importante señalar que cuando se indica que no hubo eliminación de hierro en orina (ver tabla 3), fué debido a que los pacientes mostraron reacciones secundarias, como son vómito y diarrea, haciendo que éstos no pudieran proporcionar la muestra e impidiendo la realización de la determinación de hierro en orina, aumentando así el coeficiente de variación.

Otro patrón de importancia que siguió el tratamiento fué que todas las determinaciones de hierro en suero se mantuvieron dentro de los rangos de referencia, antes y después de la aplicación de la Deferoxamina, lo que nos muestra que existe un recambio bioquímico entre el hierro unido a la transferrina en el suero y el hierro de los parénquimas liberado por el tratamiento, que posteriormente será eliminado por la orina. Además, esta situación es indicativa de que la Deferoxamina no atrapa el hierro unido a la transferrina. El coeficiente de variación es no significativo para cada caso.

Con respecto a la capacidad de fijación de hierro libre y total, ambas se encontraron abajo de los niveles normales en estado basal; esto nos muestra la existencia de un efecto intrínseco en que aunque el hierro se encuentre en niveles altos en el organismo, la fijación de hierro por la transferrina no será dada a manera de compensar dichos niveles. Es evidente la manera en que se ve aún más pronunciado dicho efecto por acción del tratamiento, ya que se presentó un descenso pronunciado de las capacidades de fijación de hierro libre y total en ambos grupos de pacientes. En los pacientes del grupo 2, se observó un descenso gradual tanto de la capacidad de fijación de hierro no utilizada como en la total debido a que el tratamiento fué menos agresivo que el de los pacientes del grupo 1, en el que se vió un aumento en ambas capacidades de fijación de hierro, ya que la transferrina trató de nivelar el exceso de hierro liberado a consecuencia del tratamiento.

Debido a la relación hierro aumentado - capacidad - de fijación total de hierro disminuido, se observa que - el % de saturación de transferrina se encuentra franca - mente aumentado, a niveles más allá del 50% aún en esta - do basal, que esta muy por arriba del porcentaje de satu - ración normal que es del 30%, lo que nos habla del pro - blema de almacenamiento de hierro en estos pacientes.

En el caso de la determinación de hemosiderosis en - el sedimento urinario, esta fué negativa para todos los - casos, lo que nos muestra que la hemosiderosis no puede - ser estudiada por este procedimiento, pues es un método - poco sensible a este nivel, además de ser visual y subje - tivo.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

De acuerdo a lo establecido al inicio de este trabajo, se pudo validar la eficacia de las pruebas de laboratorio de rutina como apoyo para el diagnóstico y evaluación de la hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas; así mismo, fué factible evaluar la efectividad del tratamiento con Deferoxamina en estos pacientes como medida de desintoxicación de hierro.

Con respecto a la determinación de hierro en orina, durante el tratamiento se verificó un incremento pronunciado de la eliminación de hierro con respecto al estado basal, en el cual es nula o muy escasa. Este parámetro - determina de manera cuantitativa, el grado de desintoxicación del metal ocurrido en el paciente, y por ende su proceso evolutivo con respecto al tratamiento con Deferoxamina, resultando de gran importancia para el médico. - Esto es importante ya que impediría la saturación de hierro en los parénquimas y el consecuente daño en los mismos, además de que se disminuirían los tiempos tan prolongados de aplicación y las reacciones adversas producidas por la acción del fármaco, evitándole así multiples incomodidades. Esta evaluación permite también predecir el tipo de tratamiento a utilizar, dependiendo del grado de saturación de hierro del paciente. La eliminación de hierro en orina esta dada en relación directa al índice de transfusiones y a la dosis suministrada del medicamento. Es recomendable el uso de la dosis completa aplicada en un lapso de 12 horas continuas para favorecer la mayor eliminación de hierro en menos tiempo, pero en casos en que el paciente por sus ocupaciones no pueda someter-

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

se a un tratamiento tan prolongado, él podrá realizarlo a la mitad de la dosis aunque su eliminación sea más lenta y en menor grado. El método utilizado para la determinación de hierro en orina es muy conveniente ya que en 2 - horas la prueba esta lista sin necesidad de preparar previamente y de manera especial al paciente para estudios de gabinete o similares.

Haciendo referencia a la determinación de hierro en suero, estos se van a mantener dentro de los valores de referencia antes y después del tratamiento, mientras que en la evaluación de la capacidad de fijación de hierro - no utilizado y total se vió un decremento de importancia debido a la agresividad del tratamiento, lo que constituye un modelo en la evaluación de la hemosiderosis secundaria. El porcentaje de saturación de transferrina estableció parámetro arriba del 50%, y la tinción de hemosiderina en el sedimento urinario resultó no significativa en este estudio, lo que fué probablemente a causa del método de tinción.

La hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas es una enfermedad potencialmente fatal y de difícil tratamiento. Sus manifestaciones clínicas se observan con mayor intensidad al rebasar el paciente un aporte de 20 gr. de hierro por este mecanismo. Los daños causados por los depósitos en los parénquimas son en la mayoría de los casos irreversibles. Sin embargo, es una enfermedad que puede evitarse realizando una desintoxicación con Deferoxamina de manera periódica en pacientes que reciben transfusiones de manera continua. El tratamiento debe ser aplicado de manera preventiva y no curativa, ya que de esta forma se corren menos riesgos con la vida del paciente.

Se sugiere la evaluación de la hemosiderina en el sedimento urinario por otros métodos más sensibles.

Con todo esto se concluye que los parámetros de laboratorio utilizados para evaluar el curso y evolución de pacientes con hemosiderosis secundaria a transfusiones sanguíneas, que están sometidos a tratamiento con Deferoxamina, son de gran utilidad para el médico, además de ser rápidos, eficaces y de causar molestias mínimas para otorgar muestras por parte del paciente.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Aisen, P., The role of Transferrin in iron transport, Brit. J. of Haemat., Feb. 1974, 26(2), pag. 159-163.
2. Bregman, H., Gelfand, M., Hemosiderosis in Hemodialysis Patients, JAMA, Julio 1981, 246(2), pag. 214-215.
3. Brown, B.A., Hematology: Principles and Procedures, 3a. ed., - Lea and Febiger, Filadelfia, 1980, pag. 180-181.
4. Celada, A., Metabolismo del hierro de reserva, Sangre, Barcelona, 22(4), 1974, pag. 474-485.
5. Collins, J., Massive Blood Transfusion, Clinics in Hematology, 5:201, 1976.
6. Dacie, J.V., Lewis, S.M., Practical Haematology, 3a. ed., Ed. J. and A. Churchill LTD, London, 1963, pag. 135.
7. Doberneck, R.C., Factors Influencing Hemosiderosis, The American Journal of Surgery, vol. 122, Julio 1971, pag. 33-35.
8. Finch, C.A., et al., Ferrokintetics in man, Medicine, Enero 1970, 49(1), 17-53.
9. Finch, C.A., Huebers, H., Perspectives in iron metabolism, N. Engl. J. Med., 1982, 306:1520.
10. Gennaro, R.A. (editor), Remington Farmacia, Tomo I, 17a. ed., Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1987, pag. 791.
11. Goodman G.A., Guilman, A., Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 5a. ed., Ed. Interamericana, México, 1978, pag. 1537-1538.
12. Halliday, J.M., Powell, L.W., Iron overload, Semin. Hematol., 1982, 19:42.
13. Halliday, J.W., Powell, L.W., Serum Ferritin and Isoferritins in Clinical Medicine, Progress in Hematology, Vol. XI, 1979, - pag. 229-260.
14. Hoffbrand, A.V., Gorman, A., Lavlicht, M., Improvement in iron status and liver function in patients with Transfusional iron-overload with long term subcutaneous Desferoxamine, LANCET, 1979, vol. I, pag. 947-949.

15. Hoy, T.G., Jacobs, A., Ferritin Polymers and the Formation of Haemosiderin, British Journal of Haematology, 1981, 49, pag. - 593-602.
16. Jacobs, A., Metabolic consequences in iron overload, Br. J. - Hemat., Sep. 1976, 66(3):1-4.
17. Ley, T.J., Griffith, P., Nienhuis, A.W., Transfusion Haemosiderosis and Chelation Therapy, Clinics in Haematology, 11(2), Junio 1982, pag. 417-463.
18. Lynch, M., et. al., Métodos de Laboratorio, 2a. ed., Ed. Interamericana, México, 1985, pag. 173, 475-481.
19. McCarthy, J., Deferoxamine-enlaced Fecal Losses of Aluminium - and Iron in a Patient Undergoing Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis, J. Am. of Med., 1987, 82:367-369.
20. McEnery, J.T., Deferoxamine as a chelating agent, J. Pediatr., 1968, 72:147.
21. Modell, B., Advances in the use of iron chelating agents for - the treatment of iron overload, Progress in Hematology, Vol. - XI, 1979, pag. 267-308.
22. Montoya, C.M., Administración intermitente de Deferoxamina en - pacientes con Hemocromatosis postransfusional, Revista Médica - IMSS, México, 1987, 25, pag. 41-45.
23. Montoya, M.A., Quelación: su importancia en Toxicología, Revista Médica IMSS, México, 1981, 19, pag. 476.
24. Moreb, J., et al., Evaluation of iron status in patients on - chronic hemodialysis relative usefulness of Bone Marrow hemosiderin, serum ferritin, transferrin saturación, mean corpuscular volume and red cell protoporphyrin, Nephron, 35, 1983, - pag. 196-400.
25. Pippard, M.J., et. al., Iron absorption in iron-loading anemias: effect of subcutaneous Desferoxamine infusion, LANCET, II, 1977, 737-739.
26. Propper, R.D., et. al., Continuous Subcutaneous Administration - of Deferoxamine in patients with iron overload, The New England Journal of Medicine, 297(8), 1977, pag. 418-423.
27. Prowase, W., Supa N.P., Sa-Nga, P., The Alpha Thalassaemias, - Clinics in Haematology, 1974, 3(2), pag. 407.
28. Rapaport, S., Introducción a la Hematología, 1a. ed., Salvat - Editores, Barcelona, España, 1985, pag. 31-37.

29. Rodríguez, C.R. (editor): Vademécum Académico de Medicamentos, - Tomo I, México, 1984, U.N.A.M., pag. 222.
30. Ross, C.E., Hemochromatosis; Pathophysiologic and Genetic Considerations, AM. J. Clin. Pathol., vol. 63, 1975, pag. 179-191.
31. Saenz, R.G., (editor), Manual Latinoamericano, CITHATA, San - José, Costa Rica, 1980, pag. 26-33.
32. Schafer, A.I. et. al., Long term efficacy of deferoxamine iron chelation therapy in adults with acquired transfusional iron - overload, Arch. Intern. Med., 1985, Julio, 145(7), 1217-1221.
33. Summers, M.R., Jacobs, A., Studies in desferoxamine and ferrioxamine metabolism in normal and iron loaded subjects, British Journal of Haematology, 42, pag. 547-555.
34. Williams, W.J., Hematología, Tomo I, 2a. ed., Salvat Editores Barcelona, España, 1983, pag. 163, 179-186, 258-259, 393-395, - 438-442.

APENDICE

APENDICE

PREPARACION DE REACTIVOS

1) Acido Clorhídrico al 1%

- Medir con una probeta graduada 99 ml. de agua destilada y colocarla en un matraz.
- Adicionar de manera lenta y con precaución, 1 ml. - de ácido clorhídrico concentrado, tomando este con una pipeta unida a una perilla de succión.
- Mezclar la solución cuidadosamente y almacenar en un frasco limpio a temperatura ambiente.

2) Ferrocianuro de potasio al 1%

- Pesar 1 gr. de Ferrocianuro de Potasio.
- Adicionar el ferrocianuro de potasio en un vaso de precipitados y agregar agua destilada hasta llegar a un volumen de 100 ml, agitando hasta disolución completa.
- Almacenar en frasco ámbar limpio a temperatura ambiente.

3) Safranina al 0.1%

- Pesar 0.1 gr. de Safranina.
- Medir 100 ml. de agua destilada y colocarla en un vaso de precipitados.
- Añadir al vaso la safranina y mezclar.
- Una vez disuelta la safranina, pasar la solución por papel filtro.
- Almacenar la solución en frasco ámbar a temperatura ambiente.

4) Acido Nítrico al 50%

- Medir con una probeta graduada, 500 ml. de agua desionizada y colocarla en un vaso de precipitados de 1000 ml.
- En otra probeta de 500 ml. perfectamente seca, medir con toda precaución 500 ml. de ácido nítrico concentrado.
- Agregar al vaso con agua destilada el ácido nítrico de manera lenta y con precaución.
- Agitar la solución lentamente y colocarla en un frasco ámbar a temperatura ambiente.

PREPARACION DEL MATERIAL LIBRE DE HIERRO

Procedimiento:

- 1) Introducir perfectamente el material de vidrio en ácido nítrico al 50% con agua desionizada durante 24 a 72 - horas.
- 2) Sacar y enjuagar con agua destilada abundantemente - (tener cuidado de no quemarse con el ácido, de preferencia usar guantes).
- 3) Enjuagar 12 veces con agua desmineralizada.
- 4) Dejar escurrir el material sobre papel filtro.
- 5) Una vez seco el material, cubrir este con papel estrella o bien cerrar de manera hermética.