

UNIVERSIDAD LABASTIDA  
INCORPORADA A LA  
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO

**VARIACIONES FISIOLOGICAS DIURNAS DEL HIERRO  
SERICO Y DE LA VELOCIDAD DE RECAMBIO DEL  
HIERRO RADIOACTIVO EN ADULTOS NORMALES**

**T E S I S**

Que Para obtener el Título de  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

MA. TERESA FONSECA FABELA

MONTERREY, N. L., 1960



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.

A MIS PADRES  
Con toda mi gratitud y cariño

A MIS HERMANOS

A MI QUERIDA FAMILIA

A JORGE



SUMARIO:

- I.—INTRODUCCION.
- II.—MATERIAL Y METODOS.
- III.—RESULTADOS.
- IV.—DISCUSION.
- V.—RESUMEN Y CONCLUSIONES.
- VI.—BIBLIOGRAFIA.

# CAPITULO I

## INTRODUCCION

El hierro tiene un papel biológico muy importante derivado de su estructura atómica. De ella dependen dos características primordiales en su comportamiento: a) su gran facilidad para perder o recuperar su tercera electrovalencia, lo que determina su papel de transmisor electrónico en las óxido-reducciones biológicas; y b) su propiedad de combinarse por medio de covalencias coordinadas para formar compuestos complejos.

El hierro se halla en el animal formando compuestos que se pueden dividir en dos categorías según su naturaleza química: compuestos hemínicos y no hemínicos. En los primeros, el hierro se une a una porfirina y este complejo se conjuga con una proteína. Los compuestos más importantes de este grupo son la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos, los peroxidases y las catalasas.

Los compuestos no hemínicos carecen de la porfirina y están formados de hierro y proteínas diversas. A este grupo pertenecen la ferritina, la hemosiderina, algunas enzimas y el complejo hierro-transferrina presente en el plasma.

Lecannú, en 1827, fue el primero en señalar la importancia biológica del hierro al descubrir su presencia en la hemoglobina. En 1885, Mac Munn observó los compuestos hematínicos en las células humanas y Hans Fischer, en 1923, descubrió que todas las células los contenían.

La relación entre el contenido de hierro celular y su unión reversible con el oxígeno fue establecida por Peters en 1912 y, en 1924, Otto Warburg emitió su teoría sobre el modo de acción del hierro en las oxidaciones celulares.

En 1938 se iniciaron los estudios con isótopos radioactivos del hierro, los

que han facilitado enormemente las investigaciones sobre el metabolismo del hierro, destacando en ellas los trabajos de Hahn, Granick, Whipple, Moore y Wintrobe.

El conocimiento del metabolismo del hierro en el ser humano es de suma utilidad en la fisiología. Dicho metabolismo puede dividirse en cinco etapas:

- a) Absorción.
- b) Transporte.
- c) Utilización.
- d) Almacenamiento.
- e) Excreción.

### **Absorción:**

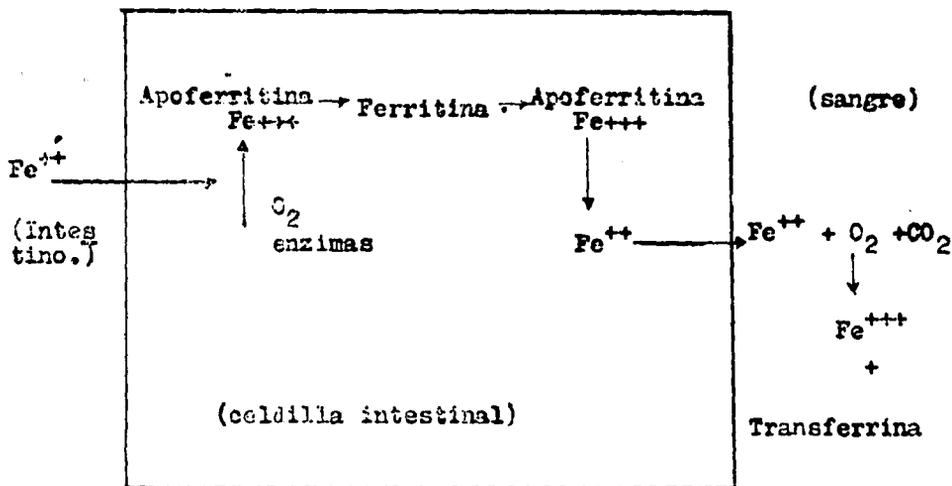
La cantidad de hierro ingerida con los alimentos es de 15 a 20 miligramos por día, de los cuales solamente se absorben 1 a 2 miligramos. La absorción se lleva a cabo en el estómago e intestino delgado principalmente en la 1a. y 2a. porción del duodeno.

Existen diversos factores que afectan la absorción. Los principales son:

- 1) La forma química del hierro; hay amplia evidencia de que en el hombre, el hierro ferroso es mejor absorbido que el hierro férrico.
- 2) Las secreciones digestivas como el ácido clorhídrico y la pepsina que, sin ser indispensables, contribuyen a una mejor absorción liberando a forma iónica el hierro alimenticio. Por el contrario, la bilis parece interferir en la absorción del hierro.
- 3) Ciertas sustancias presentes en la dieta pueden favorecer la absorción al reducir el hierro férrico alimenticio a ferroso (ácido ascórbico, proteínas que poseen grupos tiólicos). Otras, por el contrario, pueden inhibirla al formar con el hierro complejos de absorción difícil (fosfatos, ácido fítico, ácidos orgánicos).
- 4) La flora intestinal, de efecto variable.
- 5) Ciertos factores fisiológicos como son la edad, las etapas en la vida genital de la mujer y el embarazo que actúan en forma indirecta.

La absorción es bastante rápida ya que a los 15 minutos de ingerir una dosis de hierro, éste aparece en el plasma. Sin embargo, la absorción del hierro no es por simple difusión sino que existen sistemas enzimáticos en la celdilla

intestinal que intervienen en ella. El concepto actual de este mecanismo se encuentra esquematizado en la gráfica 1:



Gráfica 1.—Diagrama del mecanismo de absorción del hierro en la celdilla intestinal.

El hierro, una vez que penetra a la celdilla, sufre una serie de oxidaciones y reducciones y de conjugaciones y separaciones de una proteína, la apoferritina, antes de pasar a la sangre donde se unirá a la transferrina para ser transportado a los sitios de utilización y almacenamiento.

El factor esencial que parece regular la absorción del hierro es el grado de saturación del organismo en dicho metal. Sin embargo, otros factores pueden, en un momento dado, influir en ella: el gradiente (plasma-celdilla intestinal de la concentración de hierro y la cantidad de transferrina presente en el plasma.

#### Transporte:

El transporte del hierro se hace principalmente por vía sanguínea; la concentración plasmática de hierro es de 2 a 4 veces mayor que la de la linfa. En el plasma, el hierro se halla unido a la transferrina o siderofilina que es una beta-1-globulina que constituye el 3 por ciento de las proteínas séricas.

Aún cuando "in vitro" la transferrina es capaz de unirse a diversos metales como el cobre y el zinc, "in vivo" solamente se combina con el hierro formando un complejo muy estable entre pHs de 6.0 a 8.0.

Cada molécula de transferrina tiene la capacidad de fijar dos átomos de hierro y el contenido en el plasma de dicha proteína se expresa en microgramos de hierro que son capaces de fijar 100 ml. de plasma. Otro dato del laboratorio importante en el estudio del transporte del hierro es la determinación cuantitativa del hierro plasmático. De estos dos datos se obtiene un tercero llamado índice de saturación o sea el porcentaje de transferrina total que está unida al hierro. Los resultados de diversos autores en el adulto normal son, en promedio, muy similares aún cuando bastante variables. En la tabla que sigue están anotados dichos valores normales expresándose la variabilidad en dos veces la desviación estándar (5):

	Hombres	Mujeres
Hierro plasmático	135 ± 55	120 ± 60 µg. %.
Capacidad total de fijación.	340 ± 40	340 ± 40 µg. %.
Índice de saturación	40% ± 20	35% ± 20

Estos valores están influenciados por la edad, por el sexo, por el sueño, y por el ejercicio. Así, el recién nacido presenta durante la primera semana de vida, un hierro plasmático elevado (170 ± 40 µg. por 100 ml.) que va bajando progresivamente hasta llegar a un mínimo de 60 a 80 µg. a los seis meses de vida y manteniéndose en este nivel hasta los 2 a 3 años de edad a partir de la cual sube progresivamente hasta alcanzar las cifras normales a los 10 años de edad.

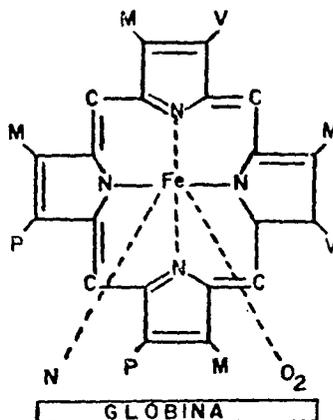
Se ha visto que durante el sueño, el hierro sérico se eleva, pero algunas investigaciones han demostrado que si el sueño no es profundo, el nivel permanece constante.

Los estudios llevados a cabo sobre el efecto del ejercicio en los niveles de hierro plasmático son contradictorios.

El conocimiento de los valores normales del hierro plasmático y de la transferrina así como de los factores que influyen en ellos, son de importancia pues pueden servir para el diagnóstico de ciertos estados patológicos como son la anemia por deficiencia en hierro, las anemias hipocrémicas hiperferrémicas y la hemocromatosis, en los que se hallan alterados dichos valores.

## Utilización:

La mayor parte del hierro circulante es utilizado directamente para la síntesis de hemoglobina la cual se realiza en la médula ósea. Allí, el hierro se une a la protoporfirina III (IX) para dar el heme y éste, al combinarse con la fracción proteica, la globina, constituye la hemoglobina cuya estructura química es:



Estudios recientes demuestran que el organismo tiende a suplir las necesidades de heme de los otros compuestos hemínicos (peroxidasa, catalasa, citocromos) antes que los de la hemoglobina, pues en los casos de anemias por deficiencia en hierro, dichas sustancias se encuentran en cantidades normales en tanto que la concentración de hemoglobina en los eritrocitos está disminuída (1).

## Almacenamiento:

El hierro absorbido que no se utiliza de inmediato, se deposita en diferentes órganos, principalmente en el hígado así como en el bazo, la médula ósea y el sistema retículo-endotelial de donde puede ser utilizado posteriormente.

El hierro de depósito está en forma proteica. El 65 por ciento como ferritina y el 35 por ciento en forma de hemosiderina. La ferritina contiene un 23 por ciento de hierro, es soluble en agua y es más fácilmente movilizable que la hemosiderina. La hemosiderina contiene 35 por ciento de hierro y es insoluble en agua.

La distribución de las cantidades promedio del hierro en el organismo se encuentran en la siguiente tabla. (22):

Forma del Fe	Fe total (gr.)	Porcentaje
a) Hemoglobina	3.0	75
b) Depósito (Ferritina y hemosiderina)	1.0	25
c) Transporte (Fetransferrina)	0.004	0.1
d) Funcional (Mioglobina, citocromos, peroxidasa y catalasa)	0.004	0.1

### Excreción:

Una de las características importantes en el metabolismo del hierro es la manera eficiente con la que el cuerpo conserva el metal. Cuando se destruyen los eritrocitos, casi la totalidad de los 20 a 25 mgs. de hierro liberados por día de la hemoglobina son reutilizados, lo que explica que los requerimientos de este metal sean muy bajos. El hierro liberado de otras células que mueren es conservado de una manera similar.

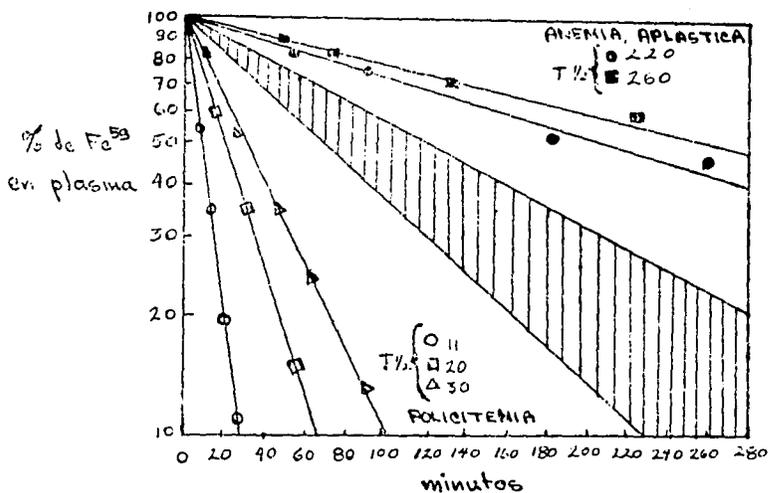
Sin embargo, se excretan cantidades pequeñas pero significativas de hierro cuando se pierden eritrocitos por orina, en descamación de células epiteliales, en el sudor, en la bilis y en las heces. En total se excreta un promedio de 1 a 2 miligramos por día.

El descubrimiento de los dos isótopos radioactivos del hierro, principalmente del  $Fe^{59}$  cuya vida media da 47 días lo hace más útil biológicamente que el  $Fe^{55}$  de 4 años de vida media, ha dado lugar a una serie de estudios que tienen aplicación directa a la clínica de los padecimientos hematológicos aún cuando algunos de ellos se hallen en fase de desarrollo.

Las pruebas actualmente en uso son tres:

#### a) Velocidad de desaparición del hierro plasmático:

Usualmente se expresa como el tiempo requerido para que la mitad del  $Fe^{59}$  inyectado por vía intravenosa desaparezca de la circulación. Normalmente es de 90 minutos con límites de 80 a 120. La velocidad de desaparición se observa acelerada en la policitemia, leucemia, anemia hemolítica, anemia de infección y anemia por deficiencia en hierro y se encuentra disminuida cuando existen condiciones aplásicas en la médula. En la gráfica 2 se ilustran algunos ejemplos de estas alteraciones representando la parte sombreada, los resultados normales.



Gráfica 2.—Diferencias en la velocidad de desaparición de  $Fe^{59}$ , inyectado intravenosamente. (Tomada Radioactive Isotopes in Clinical Practice, Quimby, Feitelberg y Silver 1959, Hea & Feliger Philadelphia).

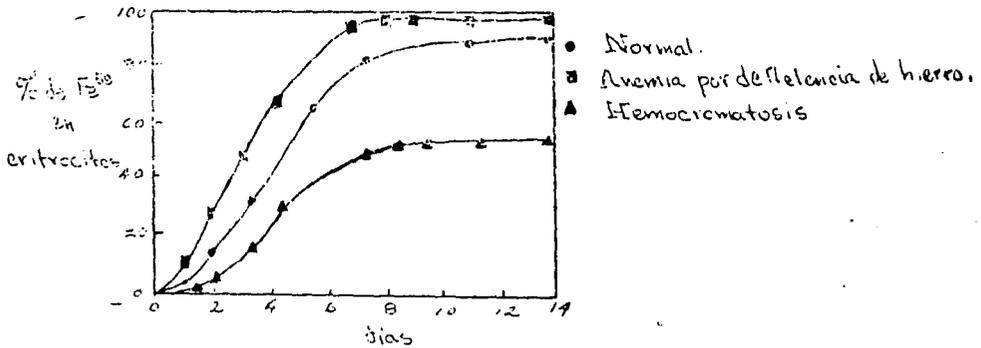
Se ha dicho que la velocidad de desaparición del hierro plasmático puede ser usada como un índice de la actividad eritropoyética siempre que los depósitos de hierro estén normales.

Conocidas, dicha velocidad, la concentración plasmática de hierro y el volumen plasmático circulante, puede calcularse la cantidad total de hierro movilizada por unidad de tiempo. Este dato frecuentemente se utiliza de preferencia al de la velocidad de remoción como un índice de la actividad eritropoyética de los individuos.

b) Grado de utilización de  $Fe^{59}$  por los eritrocitos:

Determinando la radioactividad presente en los eritrocitos circulantes durante los días subsiguientes a una inyección intravenosa de  $Fe^{59}$ , es posible determinar la cantidad del metal utilizada y la velocidad con que esto ocurre. Normalmente, en los primeros 7 a 10 días los eritrocitos circulantes

contienen, incorporado a al hemoglobina, el 85 al 100 por ciento de la dosis de hierro administrada. En la gráfica 3 se observa el tipo de curva obtenido en normales y en algunas situaciones patológicas.



Gráfica 3.—Hierro radioactivo en eritrocitos circulantes después de una inyección intravenosa de  $Fe^{59}$  representada en por ciento de la dosis de isótopo administrada (26).

c) **Fijación del  $Fe^{59}$  en diferentes órganos y su velocidad de remoción de los mismos:**

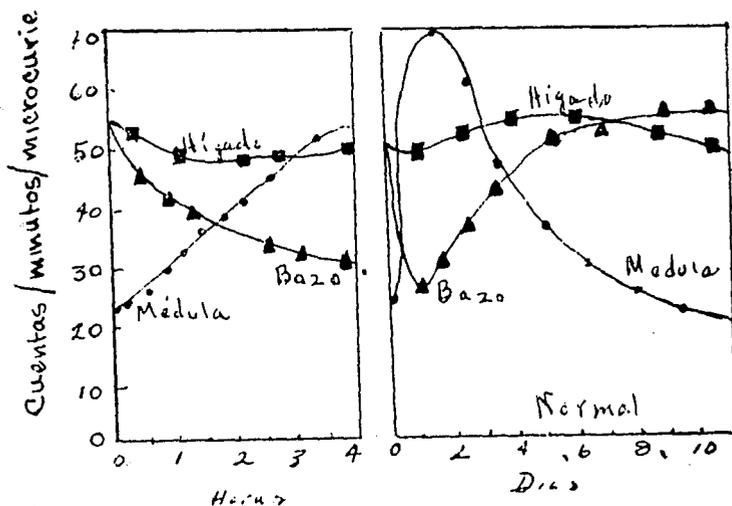
Esta prueba igualmente es de utilidad diagnóstica. En esencia consiste en medir, por cuanteos externos, la cantidad de radioactividad fijada por el hígado, el bazo y los huesos (el sacro) y observar los cambios cuantitativos que ocurren en los mismos durante las horas y días siguientes.

Normalmente hay un aumento inicial rápido de radioactividad en la zona del sacro que llega a su máximo a las 4 horas, y una segunda fase en que la radioactividad baja progresivamente hasta desaparecer en unos 10 días. La fase inicial representa el depósito de hierro en médula ósea y la segunda fase la utilización del hierro que desaparece a medida que pasa a formar parte de la hemoglobina y sale a la circulación dentro del eritrocito.

En el bazo se observa una fase inicial de descenso en las cuentas externas debido a que la concentración del isótopo en el plasma decrece conforme aquél pasa a los sitios de almacenamiento y utilización. En una segunda etapa, la radioactividad esplénica vuelve a aumentar simultáneamente con la fase de descenso de las cuentas externas sobre la médula, explicable por la presencia de un número cada vez mayor de eritrocitos circulantes que contienen hierro hemoglobínico radioactivo.

La radioactividad sobre la región hepática permanece casi sin modificaciones pues el hierro que pasa a depositarse como hemosiderina y ferritina es utilizado lentamente a lo largo de varias semanas.

En ciertos estados patológicos se observan diferencias con este patrón normal. Así, en la hemocromatosis, la mayor parte del hierro pasa a depositarse al hígado disminuyendo proporcionalmente la cantidad que pasa a la médula. En contraposición, en los casos de anemia por deficiencia en hierro, la mayor parte del hierro pasa primero a la médula y después a la circulación como hierro hemoglobínico, siendo nula o casi nula la cantidad de hierro que se almacena en el hígado. En las anemias hemolíticas, la radioactividad del bazo no solamente no disminuye en las primeras horas sino que aumenta progresivamente debido a que el bazo destruye gran número de eritrocitos y retiene el isótopo que éstos contenían.



## OBJETO DE LA TESIS

Diferentes autores han observado que los niveles plasmáticos de hierro en el ser humano no son constantes a lo largo de las 24 horas, sino que siguen habitualmente un curso ondulante, con descensos vespertinos y ascensos nocturnos en relación con los valores matutinos. Aún cuando antes de Vahlqvist (24) ya se había estudiado el nivel del hierro plasmático a lo largo del día en sujetos normales, encontrándose variaciones en él, Heilmeyer y Plotner (10), fué Vahlqvist el primero en apreciar que tales variaciones eran rítmicas. Este hecho ha sido confirmado posteriormente por Hamilton y col. (7), Paterson y col. (20), Hemmeler (11), Hemmeler (12), Höyer (13), Höyer (14) y Waldenstrom (25). En un trabajo, sin embargo, se han encontrado resultados contrarios a la tendencia general: Moore y col. (17) no hallaron variaciones grandes.

Se han emitido diversas hipótesis para explicar las variaciones del hierro plasmático: Entre las principales causas se han propuesto:

- 1) Un mayor consumo de hierro tisular durante el día debido a la actividad muscular diurna.
- 2) Un descenso en el ph sanguíneo que produciría disociación del hierro ligado a la transferrina: Laurell (16).
- 3) Las variaciones en la concentración sanguínea de hormonas corticales que influirían sobre el nivel de la sideremia: Cartwright (4), Hamilton (8).
- 4) El predominio diurno del simpático que incrementaría la fijación del hierro en el sistema retículo-endotelial: Schaefer y Boenecke (23).
- 5) Un aumento en la actividad eritropoyética a lo largo del día: Vahlqvist (24), Waldenstrom (25), Paterson (19).

El presente trabajo se realizó con la idea de determinar, en un número re-

lativamente grande de sujetos (la mayoría de los trabajos previos han sido realizados en grupos pequeños de 6 a 8 sujetos), las variaciones que sufre el Fe plasmático en el curso del día y determinar si las variaciones observadas corresponden a cambios en la velocidad de depuración del Fe plasmático, así como si la masa de hierro movilizada por el sujeto en la unidad de tiempo era constante o no en el curso del día.

## CAPITULO II

### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 32 individuos adultos y sanos, miembros del personal técnico y administrativo del Hospital de Nutrición, en los cuales se llevaron a cabo dos tipos de estudios.

Todos los sujetos tenían valores hematológicos de hemoglobina y hematocrito dentro de los límites normales. En ninguno de los dos grupos se impuso restricción alguna en su alimentación o en sus actividades habituales. Todos contaban entre 20 y 40 años de edad.

#### **Grupo I:—Estudio de las variaciones de los niveles de hierro plasmático:**

En 19 hombres y 7 mujeres se llevaron a cabo determinaciones del hierro plasmático de muestras extraídas a las 8, 12, 16 y 20 horas. Todas las muestras de las 8 y de las 12 horas fueron tomadas entre el desayuno y la comida; 13 casos cenaron antes de la extracción de la muestra de las 20 horas en tanto que los 13 restantes no lo hicieron.

Método de determinación del hierro plasmático.—Se siguió el método de Peters, Giovaniello, Apt y Röss (21) con la única modificación de que se usó alcohol isopropílico en lugar de la mezcla amílico-isopropílico en la preparación de la solución de batofenantrolina. Los reactivos empleados fueron:

- a) Acido clorhídrico 1.5 N.
- b) Acido tioglicólico al 80 por ciento.

## CAPITULO II

### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 32 individuos adultos y sanos, miembros del personal técnico y administrativo del Hospital de Nutrición, en los cuales se llevaron a cabo dos tipos de estudios.

Todos los sujetos tenían valores hematológicos de hemoglobina y hematocrito dentro de los límites normales. En ninguno de los dos grupos se impuso restricción alguna en su alimentación o en sus actividades habituales. Todos contaban entre 20 y 40 años de edad.

#### **Grupo I:—Estudio de las variaciones de los niveles de hierro plasmático:**

En 19 hombres y 7 mujeres se llevaron a cabo determinaciones del hierro plasmático de muestras extraídas a las 8, 12, 16 y 20 horas. Todas las muestras de las 8 y de las 12 horas fueron tomadas entre el desayuno y la comida; 13 casos cenaron antes de la extracción de la muestra de las 20 horas en tanto que los 13 restantes no lo hicieron.

Método de determinación del hierro plasmático.—Se siguió el método de Peters, Giovaniello, Apt y Ross (21) con la única modificación de que se usó alcohol isopropílico en lugar de la mezcla amílico-isopropílico en la preparación de la solución de batofenantrolina. Los reactivos empleados fueron:

- a) Acido clorhídrico 1/5 N.
- b) Acido tioglicólico al 80 por ciento.

- c) Acido tricloroacético al 30 por ciento.
- d) Solución sobresaturada de acetato de sodio.
- e) Batofenantrolina (4, 7-difenil-1, 10-fenantrolina) al 0.02 por ciento en solución de alcohol isopropílico.

Todos los reactivos y el material empleados en esta técnica deben estar libres de hierro.

**Técnica:**

- 1) Colocar 2 ml. de suero en un tubo de ensayo.
- 2) Agregar 3 ml. del ácido clorhídrico y una gota del ácido tioglicólico. Mezclar y dejar reposar 30 minutos.
- 3) Agregar 1 ml. del ácido tricloroacético. Mezclar y dejar reposar 15 minutos.
- 4) Centrifugar a 1,500 r.p.m. durante 15 minutos.
- 5) Transferir 4 ml. del sobrenadante a otro tubo de ensayo. Agregar 0.5 ml. de la solución de acetato de sodio y 2 ml. de la solución alcohólica de batofenantrolina. Mezclar y dejar reposar 15 minutos.
- 6) Leer la densidad óptica en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 535 milimicras. En este estudio se utilizó un espectrofotómetro Coleman Jr.
- 7) Determinar la cantidad de hierro presente comparando la densidad óptica de la muestra con las de una curva construída utilizando soluciones de concentraciones conocidas de hierro. Expresar el resultado en microgramos por 100 ml. de plasma.

Las determinaciones de hemoglobina se hicieron por el método de Drabkin utilizando la solución de cianmetahemoglobina y leyendo las densidades ópticas, contra soluciones de concentración conocida de hemoglobina, en un espectrofotómetro Coleman Jr. a una longitud de onda de 540 milimicras.

Los valores de hematocrito se realizaron en los tubos de Wintrobe centrifugando a 2160 g. durante 30 minutos.

## Grupo II:—Velocidades de desaparición del hierro plasmático.

Seis sujetos, todos del sexo masculino, fueron incluidos en este grupo. Una determinación se llevó a cabo a las 8 horas y la otra a las 17 horas. En tres de los individuos se realizaron ambas pruebas el mismo día en tanto que en los tres restantes, el primer estudio se hizo en la tarde y el segundo, en la mañana del día siguiente.

A cada sujeto se le extrajo una muestra previa de sangre: a 6 ml. de plasma extraídos de esta muestra se agregaron 6 microcuries de  $\text{Fe}^{59}$  en forma de sulfato ferroso, incubándose la mezcla de plasma y  $\text{Fe}^{59}$  durante 5 a 20 horas. La alta actividad específica de la solución de hierro radioactivo (25 mc. por mg. de Fe) empleada, permitió que la cantidad de hierro añadida no sobrepasara la capacidad de fijación de hierro del plasma.

Para cada estudio se inyectaron por vía intravenosa, aproximadamente 2 ml. de plasma marcado. La cantidad exacta se determinó según la fórmula que se da adelante, pesando la jeringa antes y después de la inyección. Terminada la inyección se echó a andar un cronómetro y a los 10, 30 y 60 minutos se extrajeron muestras de sangre a las cuales se les separó el plasma por centrifugación.

Alicuotas de 2 ml. de las muestras de ambos estudios fueron leídas en un cintilador de pozo para determinar los valores de radioactividad. Dichos valores fueron trazados en papel semilogarítmico contra el tiempo obteniéndose así la curva de desaparición del  $\text{Fe}^{59}$ , que fué extrapolada a tiempo cero para obtener la concentración original en el plasma de la radioactividad inyectada. Las velocidades de desaparición están expresadas en el tiempo en minutos que fué necesario para que desapareciera de la circulación, la mitad de la radioactividad original.

Juntamente con la de las muestras plasmáticas, se determinó la radioactividad total inyectada leyendo en el cintilador de pozo una alícuota de 2 ml. de una dilución apropiada del remanente de plasma inyectado. Con estos datos se obtuvo el volumen plasmático en ambos estudios por medio de la fórmula:

$$\text{ml. de volumen plasmático} = \frac{\text{RaR} \times \text{D} \times \text{v}}{\text{RaM}} \quad (1)$$

RaR es la radioactividad de la alícuota del remanente plasmático.

D es el factor de dilución; en todos nuestros estudios fué de 1000.

V es el volumen del plasma marcado que se inyectó. Se obtuvo dividiendo el peso inyectado entre 1.026 que es la densidad del plasma normal.

RaM es la radioactividad de la muestra en el tiempo cero.

Inmediatamente antes de la inyección del plasma marcado, se extrajo una muestra de sangre en la que se determinó el nivel de hierro plasmático. Con este dato y el del volumen plasmático correspondiente, se calculó la cantidad de hierro plasmático total circulante utilizando la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de Fe total} = \frac{\text{Volumen plasmático}}{100} \times \text{Fe plasmático (en } \mu\text{g. x 100 ml.)} \quad (2)$$

Para calcular la fracción de hierro removida por unidad de tiempo es necesario recordar que esta desaparición es de tipo exponencial por lo que la concentración de  $\text{Fe}^{59}$  en un tiempo  $t$  cualquiera podrá ser calculado de acuerdo con la ecuación matemática que la relaciona con la concentración original de  $\text{Fe}^{59}$ :

$$\text{Fe}_t = \text{Fe}_0 e^{-kt} \quad (3)$$

$\text{Fe}_t$  es la concentración de  $\text{Fe}^{59}$  en un tiempo  $t$ .

$\text{Fe}_0$  es la concentración de  $\text{Fe}^{59}$  en el tiempo cero.

$e$  es la base de los logaritmos naturales.

$k$  es una constante para cada curva.

$t$  es el tiempo transcurrido.

En ecuaciones de este tipo, la inclinación de la curva está en función de  $k$  que es particular de cada prueba individual y que viene a ser la fracción de hierro removida por unidad de tiempo. Despejando  $k$  de (3):

$$k = \frac{-\ln \frac{[Fe]_t}{[Fe]_0}}{t}$$

Si  $t$  es igual a una hora, tendremos que la fracción removida por hora es:

$$k = -\ln \frac{[Fe]_t}{[Fe]_0}$$

$$k = \ln [Fe]_0 - \ln [Fe]_t$$

De la curva, trazada en papel semilogarítmico para obtener una recta de esta pérdida exponencial, se determinaron las radioactividades en el tiempo cero y a la hora puesto que las concentraciones de  $Fe^{59}$  nos están expresando las radioactividades presentes en dichos tiempos. Se llega así a la fórmula empleada en este trabajo:

$$k = \ln [Ra]_0 - \ln [Ra]_t \quad (4)$$

Conociendo la fracción que se remueve en una hora (fórmula 4) y el hierro plasmático total circulante (fórmula 2), se logra saber la cantidad de hierro removida por hora en cifras absolutas:

$$\text{mg. de Fe removido/hora} = \frac{\text{Fe total} \times k}{1000} \quad (5)$$

en que 1000 es el factor de conversión de  $\mu\text{g.}$  a  $\text{mg.}$

## CAPITULO III

### RESULTADOS

Los resultados de los niveles de hierro plasmático a lo largo del día están anotados en la tabla 1. En las primeras columnas se indica el sexo del sujeto y si habían o no cenado antes de la extracción de la muestra de las 20 horas. En la columna marcada con un "1" se dan los microgramos de hierro por 100 ml. de plasma encontrados en el plasma de la muestra de sangre extraída a las 8 horas, valor al cual designaremos de ahora en adelante como hierro basal. En las columnas marcadas con los números "2", "3" y "4" se encuentran los resultados de las determinaciones de fierro plasmático en las muestras de las 12, 16 y 20 horas respectivamente, expresadas en porciento del hierro basal. En la columna 5 se encuentran los descensos máximos, con respecto al hierro basal, sin importar la hora en que se presentó, en microgramos por 100 ml. de plasma.

Tabla 1

VARIACIONES DE LOS NIVELES DE HIERRO PLASMATICO  
ADULTOS NORMALES

Porcentaje de Hierro Basal							
GRUPO	CASO	SEXO	FE BASAL µg.	12 HORAS	16 HORAS	20 HORAS	DESCENSO MAXIMO %
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
	1	M	200	66.0	38.8	25.0	150
	2	F	147	67.8	32.2	28.5	105.5
	3	M	182.5	64.3	35.6	32.8	122.5
	4	M	197.5	72.1	57.0	38.0	122.5
	5	F	65	66.1	38.4	38.4	40
	6	M	192.5	61.0	38.9	38.9	112.5
	7	M	145	63.7	48.2	42.7	83
	8	F	66	109.0	48.9	45.4	36
	9	F	107	74.8	51.4	46.7	57
	10	F	55	100.0	59.1	50.0	27.5
	11	M	140	73.2	64.3	53.6	65
	12	F	97	90.7	61.8	56.7	42
	13	M	144	100.0	79.8	57.2	61.5
	14	M	140	82.1	47.5	60.7	55
	15	M	106	82.5	73.1	61.3	41
	16	M	132.5	91.3	73.6	64.1	47.5
	17	M	77.5	161.2	83.9	77.4	17.5
	18	M	100	118.0	88.0	80.0	20
	19	M	131	97.3	68.7	80.2	41
Promedios grupo 1			128	86.4	57.3	51.5	65.6
	20	M	130	93.8	93.8	93.8	8
	21	F	125	106.9	95.2	100.0	7
	22	M	137.5	100.0	103.6	100.0	0
	23	M	90	130.5	94.4	100.0	5
Promedios grupo 2			121	107.8	96.8	96.0	5.0
	24	M	87.5	97.1	125.7	91.4	7.5
	25	M	88	85.2	85.7	120.4	13
	26	M	115	62.2	132.6	132.6	33.5
Promedios grupo 3			97	81.5	114.7	114.8	18.0

No se halló correlación entre las variaciones del hierro plasmático y el sexo, ni con el hecho de que hubieran cenado o no antes de la muestra de las 20 horas ni con el nivel del hierro basal.

Los 26 casos se presentan divididos en tres grupos de acuerdo con su comportamiento vespertino.

Los 19 casos del primer grupo mostraron descensos de cuando menos el 20 por ciento del hierro basal en las muestras vespertinas, generalmente a las 20 horas; solamente los casos 14 y 19 presentaron el descenso máximo a las 16 horas y los casos 5 y 6 presentaron el mismo valor de hierro plasmático en las muestras de las 16 y las 20 horas. El promedio de los valores mínimos en este grupo, no importando la hora, fué de 50.2 por ciento en relación con el valor basal de 100 por ciento, con oscilaciones entre el 25.0 y el 80.0 por ciento.

En los 4 casos del segundo grupo prácticamente no varió el nivel del hierro plasmático de las 16 ó de las 20 horas ya que la mayor variación, la observada en el caso 20, fué de 6.2 por ciento (8 microgramos por 100 ml. de suero).

Finalmente, en el último grupo de 3 casos están incluidos los que presentaron como característica la de aumentos equivalentes a cuando menos el 20 por ciento de la cifra del hierro basal en una (casos 24 y 25) o en ambas (caso 26) de las muestras de las 16 y de las 20 horas.

En los tres grupos, los valores de las 12 horas fueron más variables que los de las muestras vespertinas. Ni siquiera en el primer grupo, en el cual había un descenso vespertino consistente, lo hubo en todas las muestras de las 12 horas: los casos 8, 17 y 18 presentaron valores mayores del 100 por ciento y los casos 10 y 13 presentaron el mismo nivel de hierro plasmático a las 12 horas que a las 8 horas. En el segundo grupo, el caso 23 presentó un ascenso de 30.5 por ciento a las 12 horas. Por el contrario, en el tercer grupo, en el que hubo ascenso en los niveles vespertinos, todos los valores de las 12 horas fueron menores que los de las 8 horas.

En 9 de los 26 casos, el nivel de hierro plasmático mayor no fué el del hierro basal (casos 8, 17, 18, 21 a 26).

En todos los demás, el hierro basal fué el mayor.

Se presentan estos 9 casos considerando como 100 por ciento el nivel de hierro plasmático más elevado, no importando la hora, en la siguiente tabla:

Caso	Porcentaje de Hierro a las:				Descenso máximo µg. %
	8 hrs.	12 hrs.	16 hrs.	20 hrs.	
8	91.7	100.0	41.7	40.3	42
17	62.0	100.0	52.0	48.0	65
18	84.7	100.0	74.6	67.8	38
21	94.3	100.0	89.1	94.3	14.5
22	96.5	96.5	100.0	96.5	5
23	76.6	100.0	72.3	76.6	32.5
24	78.6	77.3	100.0	72.7	30
25	83.6	70.8	71.2	100.0	31
26	75.4	46.9	100.0	100.0	81

Excepto en los casos 21 y 22 en los cuales las variaciones son mínimas, los demás casos presentan un ritmo ondulante en los cuales los máximos y mínimos se presentan en horas distintas del día.

Con objeto de aclarar si las tendencias eran constantes para un mismo individuo, se obtuvieron muestras a las 8 y a las 17 horas de dos días consecutivos de los casos 11 y 25. En la tabla 2 se encuentran anotados los resultados de esta prueba junto con los de las variaciones ya tabuladas en la tabla 1 que se habían realizado un mes antes.

— Tabla 2 —

Caso	Porcentaje del hierro basal a las:				
	Hierro basal (µg. %)	12 hrs.	16 hrs.	17 hrs.	20 hrs.
11	140	73.2	64.3	—	53.6
	96	—	—	100.0	—
	130	—	—	81.0	—
25	88	85.2	85.7	—	120.4
	124	—	—	65.0	—
	120	—	—	125.0	—

Resultados de Niveles de Hierro Plasmático matutino y vespertino en dos días consecutivos.

Los resultados de estos dos casos, tomados al azar, muestran que no existe regularidad en las variaciones de los niveles de hierro plasmático en un mismo individuo.

**Resultados de las velocidades de desaparición del hierro plasmático.**— Los datos experimentales de  $T_{1/2}$  y fracción removida por hora de los estudios ferrocinéticos, se obtuvieron de las gráficas de cada uno de los casos estudiados (figs. 1, 2, 3, 4, 5 y 6). En dichas figuras se encuentran anotadas los valores porcentuales de radioactividad presentes a los 60 minutos, los cuales fueron utilizados para el cálculo de la fracción removida por hora. Dichos datos se encuentran concentrados en la tabla 3 junto con las demás pruebas realizadas a los sujetos de este grupo.

Para facilitar la discusión de los resultados, se obtuvieron las relaciones PM/AM de las columnas 1, 2, 3, 4 y 5 de la tabla 3 (ver tabla 4). No se hizo lo mismo con la columna  $T_{1/2}$  pues la pérdida exponencial de la radioactividad plasmática hace que los tiempos no sean directamente comparables.

**TABLA 3**

Caso	Hora	$T_{1/2}$ (Min.)	Volumen plasmático (ml.)	Fe plas- mático ( $\mu\text{g}$ %)	Fe total ( $\mu\text{g}$ .)	Fracción re- movida/hora.	Fe removi- do/hora (mg.)
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
1 #	AM	170	2486	117.5	2921	0.2485	0.7259
	PM	146	2291	162.5	3723	0.2943	1.0957
2	AM	126	2581	117.5	3033	0.3286	0.9966
	PM	107	2637	130	3428	0.3858	1.3225
3	AM	122	3081	97	2989	0.3383	1.0112
	PM	117	3277	102	3343	0.3567	1.1924
4 #	AM	110	2562	124	3177	0.3784	1.2022
	PM	86	2550	100	2550	0.4829	1.2314
5	AM	64	2042	127.5	2604	0.6580	1.7134
	PM	44	1871	98	1834	0.9290	1.7038
6 #	AM	88	2401	102	2449	0.4781	1.1709
	PM	51	2325	50	1163	0.8210	0.9548
Prom.	AM	113	2525	114	2772	0.4050	1.1367
	PM	92	2492	107	2673	0.5450	1.2501

# = En estos casos el primer estudio se efectuó en la mañana.

Los 6 casos están en orden decreciente de relación PM/AM de la cantidad de hierro removida por hora (columna 5). En los tres primeros casos se removió una mayor cantidad de hierro en la tarde que en la mañana. En los casos 4 y 5, la cantidad removida fué prácticamente la misma en las dos pruebas en tanto que el caso 6 removió más hierro en la mañana que en la tarde.

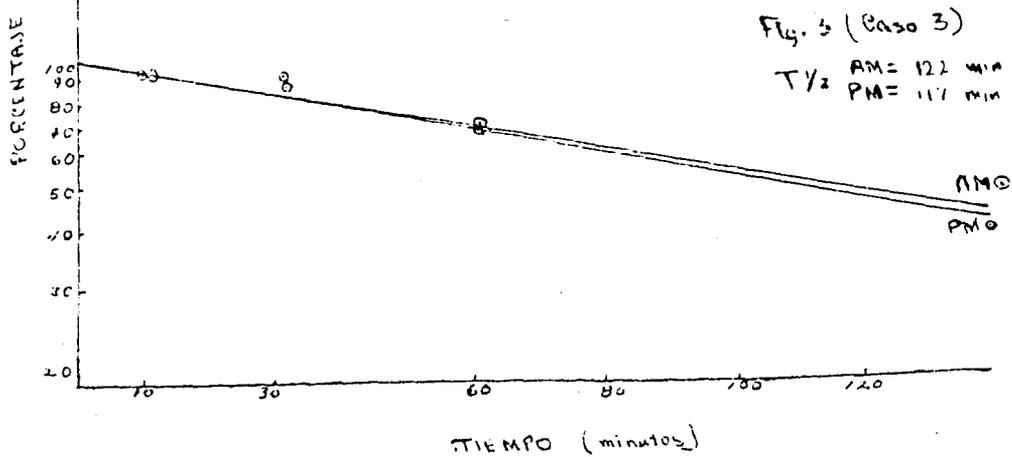
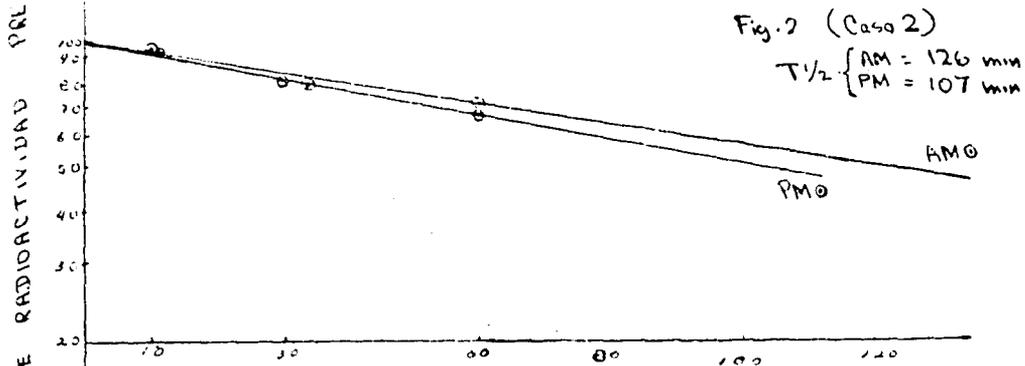
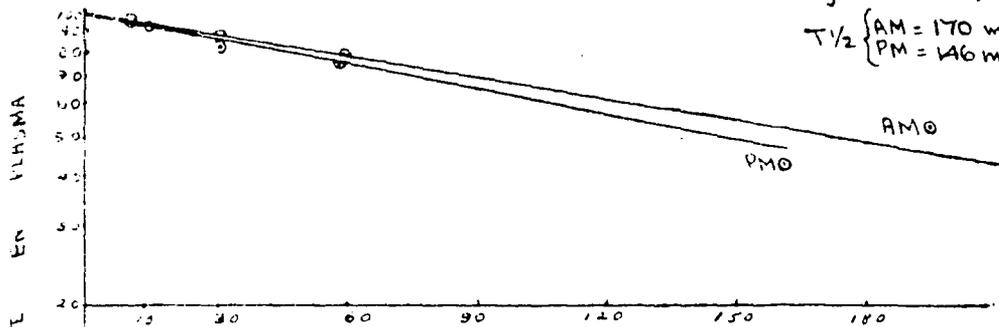
**TABLA 4**  
**RELACIONES PM/AM DE LOS DATOS DE LA TABLA 3**

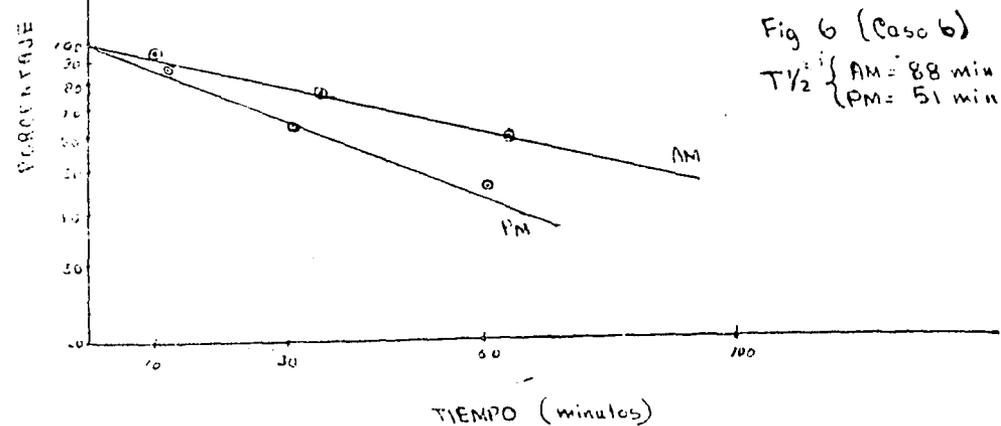
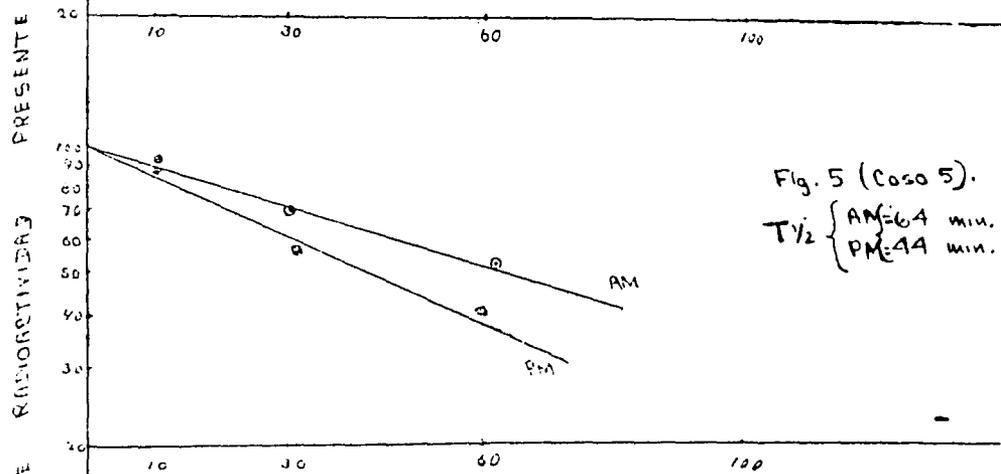
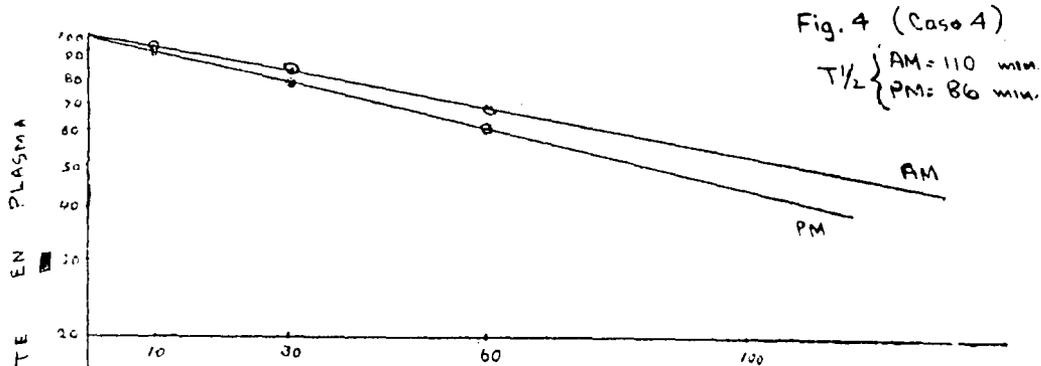
Caso	V.P.	Fe %	Fe total	Fracción	Fe removido
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
1	0.921	1.383	1.274	1.184	1.509
2	1.022	1.106	1.130	1.174	1.327
3	1.064	1.052	1.118	1.054	1.179
4	0.995	0.806	0.803	1.276	1.024
5	0.916	0.769	0.704	1.412	0.994
6	0.968	0.490	0.475	1.717	0.815
Prome- dios.	0.981	0.934	0.917	1.303	1.141

La única característica común en todos los casos fué el hecho de que siempre removieron una mayor fracción en la tarde que en la mañana (columna 4), aún cuando en el caso 3 la diferencia fué mínima (relación 1.054 de la columna 4).

En los tres primeros casos el hierro plasmático por 100 ml. fué mayor (relación 1.052 y 1.106). En los tres casos restantes se observó la misma tendencia que en nuestra serie del grupo I de este mismo estudio ya que los niveles vespertinos bajaron cuando menos un 20 por ciento del valor matutino.

Las variaciones del volumen plasmático no fueron lo suficientemente grandes (relaciones 0.916 a 1.064 de la columna 1) para que, al transformar el hierro por 100 ml. de plasma a hierro plasmático total, se alterara la tendencia a bajar o a subir que mostraron los valores de hierro plasmático por 100 ml.: se observa que las relaciones de la columna 3 (hierro plasmático total) son semejantes a las de la columna 2.





TIEMPO (minutos)

## CAPITULO IV

### DISCUSION

#### Cambios horarios en la concentración del hierro en el plasma.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los de diferentes autores (7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 20, 24) en el sentido de que los niveles de fierro plasmático en el individuo normal oscilan en el curso del día siguiendo habitualmente un ritmo constituido por ascensos matutinos y descensos vespertinos. Sin embargo este ritmo no es universal ya que faltó en una cuarta parte de nuestros sujetos (26.9 por ciento) al igual que en algunos de los estudiados por los otros autores (7, 14, 24) en quienes el nivel del hierro o se mantuvo constante a lo largo del día, o ascendió en la tarde. Por otra parte, ese ritmo tampoco es constante en el individuo, ya que el tipo de curva puede variar de un día a otro en un mismo sujeto, conforme fué apreciado por Moore y cols (14) en un caso y se comprobó en este estudio en dos individuos.

#### Velocidad de depuración del fierro plasmático:

Las investigaciones sobre la velocidad de depuración del fierro plasmático utilizando  $Fe^{59}$  se han llevado a cabo por 3 grupos de investigadores en 23 sujetos normales. Bothwell y col., (2) Wassermann y col. (27) y Huff y col. (15) han encontrado que el individuo remueve por hora el 46.4 por ciento\* de su fierro como promedio, con extremos de 29.4 a 69.0 por ciento.

Los datos anteriores se refieren a determinaciones practicadas en la mañana. En nuestros sujetos, los resultados matutinos fueron: 40.5 por ciento como promedio y 24.65 y 65.8 por ciento como valores extremos (tabla 3).

\* Lo habitual es representar estos valores en fracciones de la unidad, o sea 0.464 en vez de 46.4 por ciento.

## CAPITULO IV

### DISCUSION

#### **Cambios horarios en la concentración del hierro en el plasma.**

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los de diferentes autores (7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 20, 24) en el sentido de que los niveles de hierro plasmático en el individuo normal oscilan en el curso del día siguiendo habitualmente un ritmo constituido por ascensos matutinos y descensos vespertinos. Sin embargo este ritmo no es universal ya que faltó en una cuarta parte de nuestros sujetos (26.9 por ciento) al igual que en algunos de los estudiados por los otros autores (7, 14, 24) en quienes el nivel del hierro o se mantuvo constante a lo largo del día, o ascendió en la tarde. Por otra parte, ese ritmo tampoco es constante en el individuo, ya que el tipo de curva puede variar de un día a otro en un mismo sujeto, conforme fué apreciado por Moore y cols. (14) en un caso y se comprobó en este estudio en dos individuos.

#### **Velocidad de depuración del hierro plasmático:**

Las investigaciones sobre la velocidad de depuración del hierro plasmático utilizando  $Fe^{59}$  se han llevado a cabo por 3 grupos de investigadores en 23 sujetos normales. Bothwell y col., (2) Wassermann y col. (27) y Huff y col. (15) han encontrado que el individuo remueve por hora el 46.4 por ciento\* de su hierro como promedio, con extremos de 29.4 a 69.0 por ciento.

Los datos anteriores se refieren a determinaciones practicadas en la mañana. En nuestros sujetos, los resultados matutinos fueron: 40.5 por ciento como promedio y 24.65 y 65.8 por ciento como valores extremos (tabla 3).

\* Lo habitual es representar estos valores en fracciones de la unidad, o sea 0.464 en vez de 46.4 por ciento.

Uno de nuestros resultados (caso 1, tabla 3) cayó fuera de los límites encontrados por los 3 autores mencionados antes, sin que por ello pueda considerarse como anormal, ya que aquellos límites se basan en el estudio de un número muy reducido de casos, o erróneo, pues la curva correspondiente a tal estudio fué regular y guardó con el estudio vespertino una relación similar a las de los otros cinco casos.

### **Cambios horarios en la velocidad de recambio del hierro plasmático:**

Sobre este punto sólo existen dos estudios comparativos en sujetos normales: el de Paterson (19) y el presentado en esta tesis. Paterson midió dicho recambio en 3 sujetos normales, en la mañana y en la noche; y nosotros lo realizamos en 6 sujetos, en la mañana y en la tarde. Los resultados de ambos trabajos son concordantes respecto a la velocidad de remoción que fué constantemente mayor en la mañana que en la noche (Paterson) y mayor en la tarde que en la mañana (nuestros resultados). Las fracciones removidas de hierro, en las 3 etapas del día consideradas, guardaron la siguiente relación: noche 1.00; mañana 1.34; tarde 1.72.

Este incremento en la velocidad de remoción, sin embargo, no siempre se tradujo por un aumento en la cantidad absoluta de hierro movilizado del plasma, ya que en 2 de nuestros sujetos la cantidad removida en la mañana fué igual a la de la tarde (casos 4 y 5, tabla 3) y en otro, la de la mañana (caso 6) fué superior. En los 6 casos restantes (incluyendo los 3 de Paterson) sí hubo concordancia, de manera que a mayor velocidad de remoción correspondió un aumento en la cantidad absoluta de hierro traspasado del plasma hacia los tejidos.

### **Significación de los datos encontrados sobre niveles plasmáticos del hierro y la cinética del hierro:**

El primer punto que cabría analizar a la luz de los resultados comentados antes es el de si las variaciones horarios en la concentración de hierro en el plasma, habitualmente encontradas en los sujetos normales, se deben a un aumento en la velocidad con que este metal es transportado del plasma de los tejidos. Lógicamente dicha velocidad debe ser factor de importancia en la regulación del hierro plasmático y en apoyo de esta presunción se observó que la velocidad de remoción cambia en el curso del día, siendo mayor en las horas en que habitualmente la concentración del hierro del plasma es menor.

Sin embargo, no parece probable que sea este el único factor regulador del

hierro plasmático, ya que, analizados individualmente los resultados de los estudios ferrocinéticos de Paterson y de nosotros, se encuentra que en más de la mitad de los sujetos hubo discordancia franca entre la velocidad de remoción y el nivel del hierro en el plasma.

Paterson ha observado que el ritmo horario normal del hierro plasmático no se presenta en el anémico y ha pretendido darle a este hecho una significación especial: la de que en los anémicos, la actividad eritropoyética es mayor o menor, según el tipo de anemia, pero siempre constante por lo cual no varían los niveles de hierro plasmático en el curso del día. Creemos que esto es criticable en vista de que, al igual que en los sujetos anémicos, en un poco más de la cuarta parte de nuestros normales el hierro plasmático no siguió el patrón horario considerado como normal. Además las condiciones experimentales en que se han estudiado los normales y los enfermos no han sido iguales, pues en el caso de éstos se trató de individuos hospitalizados.

Es posible que el reposo físico y mental, propio de la hospitalización, sea un factor relevante capaz de explicar la diferencia que se está comentando.

La significación de la velocidad de remoción de hierro plasmático viene a ser más compleja en su interpretación ya que si existen autores, Wassermann y col. (27), que aceptan que en el sujeto normal la velocidad y la cantidad de hierro removido del plasma son un índice fiel de la actividad eritropoyética de la médula ósea, existen experiencias opuestas a este punto de vista: Garby y col. (6); Heilmeyer y Keiderling (9); Najean y col. (18), han hallado que en las llamadas anemias hipocrómicas hiperferrémicas la velocidad y la cantidad de hierro plasmático depurado son normales o mayores que las normales, a pesar de que la actividad eritropoyética medular está disminuida. Este hecho ha sido confirmado por Bush y col. (3) en cerdos anémicos por deficiencia en piridoxina. Si en estos casos, el hierro está siendo transportado a otros tejidos que no son médula ósea, no es posible excluir el que suceda lo mismo en el normal aún cuando sea en un grado menor.

Con los métodos actuales resulta imposible determinar directamente la actividad eritropoyética del individuo.

Para confirmar o rechazar la hipótesis de Valquist y Waldenstrom de que el hierro plasmático desciende en la tarde debido a un aumento en la actividad eritropoyética se seleccionó este método, por ser el menos inadecuado para esta

finalidad. Además, se le escogió considerando que un resultado desfavorable permitiría rechazar la hipótesis propuesta y que uno favorable, si bien no la confirmaba en forma indiscutible, sí le proporcionaba apoyo.

Se tomaría como favorable el resultado si el estudio demostraba que durante la tarde el sujeto movilizaba una cantidad mayor de fierro plasmático hacia los tejidos, pues un aumento en la actividad eritropoyética debería determinar un incremento en dicha movilización.

El resultado del presente estudio no fué concluyente, en tanto que si bien en 3 casos al incremento vespertino en la velocidad de remoción del fierro plasmático correspondió un "gasto" o "consumo" de fierro mayor, en los otros 3, aún cuando también se observó el incremento vespertino en la velocidad de remoción, el "gasto", o sea la cantidad absoluta de fierro traspasado del plasma a los tejidos, no aumentó.

Consecuentemente los resultados del presente estudio no parecen apoyar la hipótesis de Valquist y Waldenstrom y, aún cuando es reducido el número de observaciones realizadas, es aceptable proponer que las oscilaciones horarias en el ritmo del traspaso del fierro del plasma a los tejidos no tiene como finalidad cubrir un aumento en la demanda tisular de fierro, más bien parecería ser que, el aumento vespertino en el "gasto" del fierro, hecho observado inconstantemente, es una resultante y no la causa del aumento vespertino en la velocidad de remoción del fierro plasmático, hecho que sí fué constantemente observado en el presente trabajo.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

Resumiendo, puede decirse que:

- 1.—En el individuo normal, habitual pero no constantemente, la concentración de hierro en el plasma disminuye durante la tarde. Esta disminución en la mayoría de los casos, es de un 50 por ciento como promedio.
- 2.—La velocidad de remoción del hierro plasmático en el individuo normal, constantemente se encontró mayor en la tarde que en la mañana.
- 3.—Las modificaciones horarias en el nivel plasmático de hierro no dependen exclusivamente de las oscilaciones observadas en la velocidad de remoción del plasma de dicho metal. Esta ciertamente interviene como factor de aquélla, pero debe haber otro u otros factores desconocidos que expliquen las frecuentes discrepancias encontradas entre ambos.
- 4.—El incremento en la velocidad de remoción no se traduce, constantemente, por un aumento en el "gasto" de hierro del plasma hacia los tejidos. Por ello, el incremento en el gasto parece ser una consecuencia y no la causa del aumento en la velocidad de remoción de hierro.
- 5.—Al no comprobarse un aumento constante en el "gasto" vespertino de hierro del plasma a los tejidos no es posible aceptar que la actividad eritropoyética del individuo sea mayor en la tarde que en la mañana.  
Se requieren estudios posteriores que conduzcan a comprobar los resultados observados a determinar cuáles son los factores adicionales causantes del ritmo de los niveles del hierro sérico y los factores determinantes de que la velocidad de remoción del hierro plasmático oscile en el curso del día en el individuo normal.

## CAPITULO VI

### BIBLIOGRAFIA

- 1.—Beutler, E. y Blaisdell, R. K.  
J. Lab. and Clin. Med. 52: 1958.
- 2.—Bothwell, T. H., Callender, S. y Mallet, B.  
Brit. J. Haemat. 2: 1, 1936
- 3.—Bush, J. A., Jensen, W. N.,  
Ashenbrucker, H.,  
Cartwright, G. E., y Wintrobe, M. M.  
J. Exp. Med. 103: 161, 1956.
- 4.—Cartwright, G. E., Hamilton, L. D., Gubler,  
C. J., Fellows,  
N. M., Ashenbrucker, H., y Wintrobe, M. M.  
J. Clin. Invest. 2: 161, 1951.
- 5.—Dreyfus, J. C. y Schapira, G.  
Le fer. Expansion Scientifique Francaise, Paris, 1958.
- 6.—Garby, L., Sjölin, S., y Vahlquist, B.  
Brit. J. Haemat. 3: 55, 1957.
- 7.—Hamilton, L. D., Gubler, C. J.,  
Cartwright, G. E., y  
Wintrobe, M. M.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75: 65, 1960
- 8.—Hamilton, L. D., Gubler, C. J.,  
Ashenbrucker, H.,  
Cartwright, G. E., y Wintrobe, M. M.  
Endocrinology, 48: 44, 1951.

- 9.—Heilmeyer, L. y Keidurling, W.  
Germ. Med. Monthly 4: 261, 1959
- 10.—Heilmeyer, L. y Plötner, K.  
Das serumsein und die eisen mangel krankheit (Pathogenese,  
Symptomologie und therapie).  
Gustav Fisher, Jena, 1931
- 11.—Hemmeler, G.  
Helv. Med. Acta 7: 201, 1944.
- 12.—Hemmeler, G.  
Helv. Med. Acta 13: 20, 1946.
- 13.—Hoyer, K.  
Acta Med. Scand. 119: 562, 1944.
- 14.—Hoyer, K.  
Acta Med. Scand. 119: 577, 1944.
- 15.—Huff, R. L., Hennessy, T. G., Austin, R. E., García, J. F.  
Roberts, B. M., y Lawrence, J. H.
- 16.—Laurell, J.  
Acta Physiol. Scand. 14: 46, 1947.
- 17.—Moore, C. V., Minich, V., y Welch, J.  
J. Clin. Invest. 18: 543, 1939.
- 18.—Najean, Y., Neens-Bith, H., Bernard, C., Boiron, M., Bousser, J. y Bernard, J.  
Le Sang. 30: 101, 1959.
- 19.—Paterson, J. C. S.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96: 97, 1957.
- 20.—Paterson, J. C. S., Marrock, D. y Wiggins, H. S.  
J. Clin. Path. 6: 105, 1953.
- 21.—Peters, T., Giovaniello, T. J., Apt, L. y Ross, J. F.  
J. Lab. and Clin. Med. 48: 280, 1956.
- 22.—Quimby, E. H., Feitelberg, S. y Silver, S. S.  
Radioactive Isotopes in Clinical Practice.  
Lea and Fabiger  
Philadelphia.
- 23.—Schaefer, K. H. y Boenecke, I.  
Archiv. Exp. Pathol. und Pharm. 207, 1949.
- 24.—Valquist, B. C.  
Acta Paediat. 28, Suppl. 5, 1941.
- 25.—Waldenstrom, J.

Acta Med. Scand. 46 Suple 170: 252, 1946..

26.—Wallerstein, R. O. y Mettier, S. R.  
Iron in Clinical Medicine.  
University of California Press.  
Los Angeles, 1958.

27.—Wassermann, L., Rashkoff, I., Leavit, D., Meyer, L. y Port, S.  
J. Clin. Invest. 31: 32, 1952.