

DETERMINACION DE CIFRAS NORMALES DE
HIERRO SERICO EN NUESTRO MEDIO

— **Lab. Gabriel Sulbarán Solís.**

Encargado de la Sección de Bioquímica
del Instituto de Investigación Clínica.

Aun cuando la mayor parte del hierro de la sangre se encuentra formando parte de la molécula de hemoglobina, existe también una pequeña cantidad unida a las seroglobulinas plasmáticas, que no forma parte de la molécula proteica ferruginosa que es la hemoglobina, y que constituye el hierro de transporte en el organismo.

Su metabolismo y el mecanismo íntimo de sus variaciones fisiológicas y en diversos estados patológicos, aún no ha sido debidamente esclarecido, a pesar de los numerosos trabajos que en muchos países se han hecho al respecto. En nuestro país la bibliografía sobre sideremia es más bien escasa. No habiendo hallado en ella referencias a cifras normales en nuestro medio tropical, y considerando la necesidad de las mismas para una buena relación de los hallazgos de tan importante y ya rutinaria investigación, nos hemos propuesto su determinación, cuyos resultados exponemos en el presente trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se determinó el hierro sérico en un grupo de 60 personas, 30 hombres y 30 mujeres, en edades comprendidas entre los 16 y 60 años, clínicamente sanas y en las cuales se descartó además cualquier entidad patológica no manifiesta, o simple condición circunstancial, que pudieran alterar las cifras normales de hierro sérico, mediante la determinación de las siguientes investigaciones: Hematocrito, Hemoglobina, Reacción de Harger, Bilirrubina, Transaminasas Oxalacéticas y Pirúvicas, Colesterol, Orina y Heces. Se descartó a las personas que mostraban alguna anormalidad en las pruebas mencionadas.

De entre los varios métodos para la dosificación del hierro sérico, hemos seleccionado el de Schales, que permite efectuar determinaciones exactas, utilizando como reactivo cromático la Orto-Fenantrolina, en la formación del ion complejo Ferroso-fenantrolina y como sustancia reductora la Hidroquinona. Estudios espectrofotométricos han comprobado para esta reacción una sensibilidad del orden del sexto decimal. Podemos dividirla en tres pasos principales:

- 1.— Liberación del hierro ligado a las proteínas.
- 2.— Precipitación de las proteínas separadas del hierro.
- 3.— Formación y valoración del complejo coloreado ferroso-fenantrolina.

REACTIVO: Ácido Clorhídrico al 0.3 N
Ácido Tricloroacético al 20 %
Acetato de Amonio al 50 %
Hidroquinona al 1 %
Orto-Fenantrolina al 0.1 %
Standard de Hierro de 200 Gammas %

PROCEDIMIENTO:

- 1.— En tubo de ensayo de 13 x 100, colocar 2 cc. de suero libre de hemólisis y agregar 1 cc. de ácido clorhídrico al 0.3 N.
- 2.— Incubar a 37° durante una hora.
- 3.— Agregar 1 cc. de ácido tricloroacético al 20 %. Mezclar bien y dejar reposar 10 minutos.
- 4.— Centrifugar a alta velocidad durante 5 minutos.
- 5.— Del líquido sobrenadante, poner en tubo de colorímetro 2 cc. y agregar 0.10 cc. de acetato de amonio. Esperar 1 minuto.
- 6.— Agregar 0.15 cc. de hidroquinona. Dejar reposar 1 minuto.
- 7.— Agregar 0.5 cc. de orto-fenantrolina. Dejar reposar 20 minutos y leer en longitud de onda de 520 m μ (filtro verde), contra un blanco preparado según el procedimiento anterior usando agua desionizada libre de hierro en lugar de suero.

El Standard se prepara en igual forma, usando 2 cc. de la solución de 200 Gammas %.

Debe emplearse agua desionizada, absolutamente libre de hierro, en la preparación del blanco y de todos los reactivos. El valor del blanco, determinado contra agua bidestilada no debe ser superior a 10 Gammas %.

Todo el material usado debe ser lavado con solución sulfocrómica o una solución ácida fuerte y enjuagar varias veces con agua desionizada libre de hierro.

EXPERIMENTAL

Utilizando el Standard de 200 Gammas, se hizo una curva del espectro de absorción a fin de determinar el máximo de absorción del complejo coloreado Fe-fenantrolina, en un espectrofotómetro Beckman D.U. El máximo hallado fue en 510 m μ , pero en 520 m μ se cumple una buena absorción y es una longitud de onda seleccionable por un filtro en muchos colorímetros, lo que hace al método accesible a muchos laboratorios que no disponen de un espectrofotómetro.

Por esta razón, los valores hallados en este trabajo han sido referidos en esa longitud de onda del espectro, utilizando un colorímetro Klett-Summerson y tubos micro para leer las pequeñas cantidades finales del procedimiento.

Seguendo la técnica descrita, se hicieron recuperaciones utilizando 4 sueros de valores diferentes: A, B, C, y D, a los que se agregaron 200, 200, 100 y 50 Gammas respectivamente, obteniendo los resultados siguientes:

Sueros	Recuperados
A.	100 %
B.	97.5 %
C.	97.5 %
D.	94.0 %

Lo que significa una recuperación promedio de 97.2 %, que es muy satisfactoria.

Con el fin de averiguar el grado de alteración de los valores en sueros contaminados con Fe de la hemoglobina, se dosificó el Fe de 2 sueros antes y después de agregarle una cantidad de lisado eritrocítico suficiente para hacer aparente a simple vista una ligera hemólisis, obteniendo los resultados siguientes:

Antes	Después	Incremento
A. 123 Gammas %	130 Gammas %	5.6 %
B. 90 "	98 "	8.8 %

El aumento ocasionado por la hemólisis no llega a las 10 gammas %.

Esto nos induce a concluir que en sueros que no muestren una muy marcada hemólisis, puede dosificarse el Fe con relativa seguridad.

RESULTADOS

El análisis matemático estadístico del grupo de 30 varones arrojó los resultados siguientes:

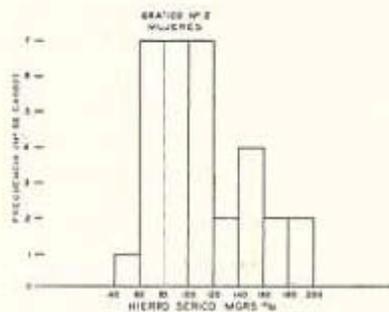
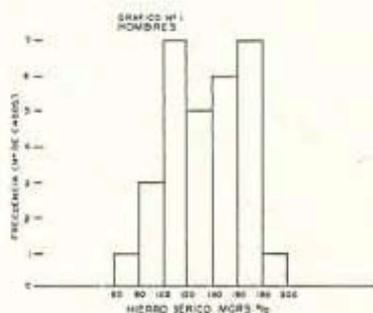
Media	Dev. Stand.	Coef. Variac.	Cif. extremas
134.73	30.0	22.2 %	78 - 182

Para el grupo de 30 mujeres los resultados fueron:

Media	Dev. Stand.	Coef. Variac.	Cif. extremas
114.60	27.5	23.9 %	58 - 192

Considerando la media aritmética \pm 2 veces la desviación Standard, tenemos concretamente los siguientes valores normales para ambos grupos:

	Cifras límites	Media
Varones:	74.7 a 194.7 Gammas %	134.73 Gammas %
Mujeres	59.6 a 169.6 "	114.60 "



En las cifras publicadas por varios investigadores en los Estados Unidos, y que mostraremos a continuación, puede observarse una gran discrepancia en los valores hallados para personas normales de ambos sexos. Pueden observarse variaciones en las cifras límites inferiores que van desde 44 hasta 125 Gammas %, valor este último que casi alcanza la cifra límite superior de otro autor.

	H.S. Gammas %	Media
Mandel	50 - 180	110
Levy. A. y Cols	44 - 155	98
Kushner	80 - 190	120
Kingsley	125 - 238	171
Rosenthal	85 - 235	173
Peters	57 - 194	119
Ramsay	60 - 200	130

Las cifras por nosotros halladas se acercan a los valores encontrados por Kushner y Ramsay, observándose para los varones valores ligeramente más altos que para las mujeres.

Los gráficos 1 y 2 muestran los normogramas de frecuencias de distribución construidos con las cifras halladas para hombres y mujeres respectivamente.

RESUMEN

- 1.— Se determinó el hierro sérico en un grupo de 30 hombres y 30 mujeres aparentemente sanos.
- 2.— Se utilizó el método de Schales con adaptación de micro-técnica al colorímetro Klett-Summerson.
- 3.— Los valores hallados para varones fueron los siguientes: de 74.7 a 194.7 Gammas %. Media: 134.73 Gammas %.
- 4.— Los valores hallados para mujeres fueron los siguientes: de 59.6 a 169.6 Gammas %. Media: 114.60 Gammas %.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.— Levy, A. and Vitacca, P.; Clin. Chem. 7: 241-248 (1961).
 - 2.— Mandel, E. E.; Clin. Chem. 5: 1 (1959).
 - 3.— Kushner, I.; Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 246 (1959).
 - 4.— Kingsley, G. R. and Setchell, G. Clin. Med. 2: 175 (1956).
 - 5.— Rosenthal, H. L.; Pfluke, M. L. and Jud., L.; Clin. Chem. 4: 290 (1958).
 - 6.— Peters, T.; Giovanniello, T. J.; Apt., L. and Ross, J. F. J. Lab. Clin. Med. 48: 274 (1956).
 - 7.— Ramsay, W. N. N.; Adv. in Clin. Chem., 1: 1 (1958).
 - 8.— Barkan, G. and Walker, B. S.; J. Biol. Chem. 135: 37-42. (1940).
 - 9.— Iovine, E.; Gaya Noya, E. y Villa, J. C. "Fotolorimetría Clínica", 275 (1959).
 - 10.— Layrisse, M.; Paz, A.; Blumenfeld, N. and Roche, M. Blood 18: 61 (1961).
-

Roberto Koch

Introdujo nuevas técnicas en el estudio de los microbios y la utilización del microscopio, y el medio sólido como la forma más eficaz de cultivo bacteriano. La tesis de Lister de que las bacterias del aire eran las perjudiciales durante el acto quirúrgico, fue llamada errónea por Koch y sus discípulos, quienes dieron la razón a Semmelweis al comprobar que las infecciones de las heridas ocurren simplemente por contacto. Enseñó a usar el condensador de Abbe, la inmersión en aceite, las preparaciones histológicas muy finas, y dio gran impulso a la microfotografía. Era un viajero incansable. Le atraían los trópicos, sede de las epidemias. Estuvo en África. La India, Java y Tejas. En cada lugar cosechó éxitos memorables: sobre la peste bovina, la peste bubónica, el paludismo, y la enfermedad del sueño. En 1885 fue nombrado profesor. A los seis años se cansó del sedentarismo, abandonó su cátedra, y se dedicó a la dirección del Instituto para Enfermedades Infecciosas, creado para él. Koch está entre los grandes de la medicina. Era el genio y el método, la ciencia y el corazón, la aventura y el sistema. Dedicó gran parte de su vida a luchar contra su querido enemigo: el bacilo de la tuberculosis.