

Hierro sérico y capacidad libre de fijación al suero en adultos normales*

Dr. Jorge Noguera** y Dr. German Sáenz***

INTRODUCCION

Con la intención de contribuir al mejor conocimiento de los valores hematológicos y de química clínica de nuestro país, queremos aportar algunos valores de sideremia y de la capacidad de fijación del hierro al suero, investigados en adultos normales de uno y otro sexo, obtenidos usando procedimientos de laboratorio suficientemente valorados por diversos investigadores.

Normalmente la cantidad total de hierro en el cuerpo humano es de 3 a 5 gramos. De esa cantidad entre 1,5 a 3 gramos, se hallan en la hemoglobina, tanto del eritrón móvil como del fijo. Los tejidos que contienen hierro en forma de complejos proteoporfirínicos (mioglobina, citocromos, peroxidases, catalasas), comprenden de 0,1 a 0,3 gramos del total. Los depósitos de hierro representan de 1 a 1,5 gramos, cuya mayor parte se halla en el hígado, bazo y médula ósea en forma de ferritina y hemosiderina (7 - 12 - 13 - 29). Las moléculas de ferritina resultan ser micelas de hidróxido-fosfato-férrico dispuestas en cuatro áreas de la proteína, apoferritina (29). La hemosiderina se considera como un complejo de ferritina. Ambas formas de depósitos de hierro son utilizadas para la hemopoyesis; sin embargo, el hierro de la ferritina es más disponible para el organismo en cualquier momento (8 - 24). De acuerdo con la teoría de GRANIK (7) la cantidad de ferritina en las células de la mucosa intestinal es la que gobierna la absorción del hierro. Menos de un 15 % del hierro de los alimentos se absorbe (12-13-28-29); agentes reductores como el ácido ascórbico facilitan esa absorción, mientras que los fosfátidos la obstaculizan (13-29).

* Trabajo realizado en los Laboratorios del Hospital Nacional de Niños, San José - Costa Rica.

** Laboratorio Hospital Nacional de Niños.

*** Cátedra de Hematología Departamento Análisis Clínicos. Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.

El hierro plasmático disponible (3 a 4 miligramos) representa un puente en el metabolismo complejo de este metal. Iones ferrosos en el plasma son rápidamente oxidados a la forma férrica, siendo transportados por una globulina beta₁ específica llamada transferrina o siderofilina (9-24-25-26-27-29).

La transferrina representa el mayor mecanismo de transporte para hierro inorgánico y comprende alrededor de un 3% del total de las proteínas plasmáticas (aproximadamente 0,22 g%) (29). Cada molécula de esta proteína se combina con dos moléculas de hierro férrico (20-24-25-26). La transferrina tiene un peso molecular de noventa mil (20-27). Normalmente sólo un 25-40% de la misma se halla saturada con hierro y debido a su alto peso molecular, el complejo hierro-transferrina no atraviesa el compartimiento vascular (20).

Las haptoglobinas juegan un papel menor en el transporte de hierro (11). Como se sabe, las haptoglobinas son proteínas plasmáticas que forman compuestos estables con la hemoglobina que ha quedado libre en forma intravascular; por lo tanto son un mecanismo muy importante en la eliminación de la hemoglobina extracorpúscular (13).

En una forma característica, el hierro sérico se encuentra disminuido y la capacidad libre de fijación aumentada, en la anemia ferropénica y en la anemia fisiológica del embarazo (2-14-20). En las infecciones, ambos valores se hallan disminuidos (1-2). En las afecciones con aumento del depósito de hierro originado en la hemólisis; en las hipertransfusiones y en las anemias aplásica y perniciosa, el hierro sérico se encuentra aumentado y la capacidad libre de fijación se halla dentro de los valores muy inferiores a las cifras normales (12-13-24-27). Asimismo, la determinación de hierro sérico y de la capacidad de fijación es importante en las afecciones hepáticas; tanto en la hepatitis aguda infecciosa, como en la ictericia por suero homólogo el hierro sérico puede alcanzar valores muy altos (12). En la hemocromatosis primaria y secundaria hay por lo general una completa saturación de la transferrina en el suero y el hierro sérico acusa valores muy elevados (8-13-27-29). En la nefrosis, tanto el hierro sérico como la capacidad de fijación están extremadamente reducidos.

La carencia de piridoxina puede causar una anemia hipocrómica, microcítica, morfológicamente semejante a la anemia ferropénica producto de una eritropoyesis defectuosa (8). Difiere de aquella en la hipersideremia, hemosiderosis y presencia de derivados anormales de triptofano en la orina (8).

Un dato adicional que se obtiene a partir de la determinación de hierro sérico y de la capacidad libre de fijación del hierro al suero, es el llamado índice de saturación de la transferrina, que viene a representar el porcentaje de la transferrina sérica combinada al hierro. También en nuestro trabajo hacemos mención de los hallazgos al respecto.

MATERIAL Y METODOS

I. *Material humano*

La población estudiada fue constituida por adultos, de uno y otro sexo, con edades comprendidas entre los 18 y 35 años, aparentemente sanos y con índices de hemoglobina y hematocrito dentro de los límites reportados como normales para nuestra población adulta por SÁENZ y ARROYO (23). Aproxima-

damente el 80 % de los casos estudiados se obtuvo del personal técnico y administrativo del Hospital Nacional de Niños así como de donadores de sangre de esa Institución. El 20% restante fue de estudiantes universitarios.

II. Métodos

La determinación cuantitativa de hierro sérico (FeS) fue realizada con la técnica de PETERS et al. (14) y la capacidad de fijación de hierro al suero por el método de RATH y FINCH (20).

Discusión sobre métodos

1. Hasta hace algunos años las determinaciones de hierro sérico y de la capacidad del suero para fijar el mismo, se realizaban con fines investigativos, pero lo cierto es que estas determinaciones son de gran utilidad diaria, sobre todo para el diagnóstico de ciertos tipos de anemia, por lo que dichos análisis se han ido incluyendo dentro de los exámenes corrientes de laboratorio.

2. Los métodos propuestos para la valoración del hierro sérico son muy numerosos, cada uno con su respectivo grado de sensibilidad. La diferencia fundamental entre ellos se basa en la reacción coloreada final, es decir, en el reactivo cromógeno. Los principales reactivos empleados son el tiocianato sódico o potásico, la fenantrolina, el alfa-alfa-dipiridilo, el 2, 4, 6-tripiridil-s-triazina, la 4-7 difenil-1-10-fenantrolina (batofenantrolina) o su derivado sulfonado y la fenil-2-piridil-quetoxima (3-5-17-21).

3. En todas las determinaciones, el fundamento del método estriba en reducir el ión férrico, que se halla copulado a la transferrina y provocar luego una reacción de color entre el hierro ya reducido y el reactivo cromogénico que cada método aconseja. Los principales agentes reductores para este fin son la hidroquinona, la hidrazina, la hidroxilamina, el ácido ascórbico, el ácido tioglicólico (ácido 2-mercapto etanoico) (28) y el sulfito de sodio (18).

4. Otros métodos cuyos fundamentos se apartan de los antes señalados son rara vez citados en la literatura. Un método rápido para la medida del hierro sérico, tanto en suero como en plasma, ha sido recientemente propuesto y se basa en la reacción del hierro liberado de la transferrina con un cromógeno (2,4,6-tripiridil). El compuesto coloreado obtenido es concentrado en la superficie de una resina de intercambio iónico y la estimación del hierro sérico se obtiene mediante una comparación visual con patrones previamente establecidos (31).

5. Prácticamente en todos los métodos colorimétricos que hasta ahora se han usado para la determinación de la sideremia, los principales factores que pueden alterar los resultados son: hemólisis, hiperlipemia, ferritinemia, hiperbilirrubinemia y presencia de complejos de hierro medicinales (25).

6. En nuestro trabajo hemos utilizado para la determinación cuantitativa de hierro en suero, el método propuesto por PETERS et al. (14), en el cual plasma o suero es tratado con ácido clorhídrico para separar el hierro de su combinación con la transferrina. Inmediatamente se agrega ácido tioglicólico como agente reductor y las proteínas son precipitadas por el ácido tricloroacético. El hierro

presente en el filtrado libre de proteínas así obtenido, se determina colorimétricamente al agregarse acetato de sodio y una solución alcohólica de batofenantrolina. Algunas de las ventajas de este método son su reproductibilidad, la ausencia de calentamientos o extracciones con solventes orgánicos, la innecesaria preparación de reactivos frescos y de múltiples centrifugaciones. Asimismo tiene el mérito de que es aplicable tanto a suero como a plasma, bien sean lipémicos, claros o ictericos.

7. En algunos métodos el procedimiento suele ser tal que sueros que contengan indicios de hemoglobina permiten que se libere su hierro con lo cual aparecen valores falsamente elevados de hierro en suero. Si existe un 1 % de hemólisis (16 mg de hemoglobina contienen 53,6 mcg de hierro), los valores de hierro sérico pueden aumentarse hasta un 50 % sobre el verdadero valor (27). Se ha demostrado que el tratamiento con ácido clorhídrico y ácido tricloroacético no libera el hierro de la hemoglobina aún cuando exista una gran hemólisis (27).

8. El procedimiento que hemos seguido para la determinación de la capacidad libre de fijación de hierro al suero es la descrita por RATH y FINCH (20). El fundamento del método estriba en apreciar colorimétricamente los cambios de color del suero original luego de añadirsele pequeñas cantidades de sales simples de hierro. De esta manera, y por un mecanismo indirecto, se obtiene una medida de la transferrina libre; la adición de los iones de hierro provocará una mayor formación del complejo hierro-transferrina, lo cual repercutirá en un aumento de la densidad óptica de la muestra. Cuando toda la transferrina presente está unida al hierro la densidad óptica de la muestra no aumentará con nuevas adiciones del metal.

9. La suma del hierro del suero y de la capacidad libre de fijación del hierro sérico se llama capacidad total de fijación del hierro, la cual de un modo indirecto también nos señala el nivel de transferrina que hay en el suero.

10. Los fundamentos de los métodos usados son los siguientes:

Debido a que el hierro presente en el suero se encuentra normalmente unido a la transferrina (globulina β_1), su determinación se realiza en 3 pasos:

- 1) Liberación del hierro de la transferrina.
- 2) Precipitación de las proteínas séricas.
- 3) Lectura fotométrica del complejo coloreado formado con el hierro liberado y un reactivo adecuado (batofenantrolina).

11. El suero contiene una beta globulina, llamada transferrina o siderofilina, que se caracteriza por su poder de formar quelatos con iones de hierro en soluciones neutras o ligeramente alcalinas. En contraste con la transferrina que es incolora, el complejo hierro-transferrina posee un color rosa salmón. El cambio en el color del suero, al añadir sales simples de hierro, puede ser entonces utilizado como una medida de contenido sérico de la transferrina no unida al hierro.

En la técnica descrita una vez determinada la densidad óptica del suero, se comienzan a añadir cantidades conocidas de hierro. Mientras exista transferrina libre, la adición de los iones metálicos provocará la formación del complejo, lo cual repercutirá en un aumento de la densidad óptica de la muestra; cuando toda la transferrina presente esté unida al hierro, la densidad óptica de la muestra no aumentará con nuevas adiciones del metal.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 figuran los valores obtenidos en hierro sérico (FeS) sobre 237 hombres y 125 mujeres. Los datos corresponden a mcg % de hierro sérico determinado por el método de PETERS et al. (14), observándose para hombres un promedio aritmético de 121 mcg %, una desviación estandar de 38 mcg % y los valores margen de 49 a 198 mcg %. En las mujeres el promedio aritmético fue de 97 mcg %, la desviación estandar de 26 mcg % y los valores margen de 46 a 159 mcg %.

(El valor margen se refiere a los percentiles 2,5 % y 97,5 %, los cuales incluyen el 95 % aproximadamente de los casos).

En el Cuadro 2 se indican los resultados para capacidad de fijación de hierro al suero (CFFe) obtenidos en 51 hombres y 30 mujeres, de acuerdo con el método de RATH y FINCH (20). El promedio aritmético en hombres fue de 193 mcg %, con una desviación estandar de 58 mcg % y valores margen de 105 mcg % a 334 mcg %. En mujeres el valor medio fue de 225 mcg %, con una desviación estandar de 56 mcg % y valores margen de 120 a 341 mcg %.

Para hierro sérico se observa que el promedio aritmético fue ligeramente superior en hombres, encontrándose, asimismo, una ligera diferencia en los valores margen para ambos sexos. Por otro lado, el valor medio para CFFe fue ligeramente más alto en mujeres aunque en los valores margen no se destacan diferencias significativas para ambos sexos.

El índice de saturación de la transferrina fue para mujeres de 34,8% como promedio aritmético y de 42,3 % para hombres, con una desviación estandar de 3,92% para las mujeres y 8,76 % para los hombres. De estos resultados se deduce que el índice de saturación de la transferrina fue ligeramente más bajo en las mujeres, de lo que se desprende que no se encontró ninguna diferencia significativa en ambos sexos en cuanto al porcentaje de saturación de esa proteína específica.

CUADRO 1

Distribución de frecuencias
Hierro sérico determinado por el método de PETERS et al. (14)

Hierro sérico (microgramos/100 ml)	Frecuencias	
	Hombres	Mujeres
de 40 a menos de 60	13	10
de 60 a menos de 80	20	18
de 80 a menos de 100	42	47
de 100 a menos de 120	44	31
de 120 a menos de 140	42	13
de 140 a menos de 160	35	3
de 160 a menos de 180	28	2
de 180 a menos de 200	8	1
de 200 a menos de 220	3	—
de 220 a menos de 240	2	—
TOTAL	237	125

Hombres

$\bar{x} = 121 \text{ mcg } \%$

$s = 38$

margen = 49 — 198 mcg %

Mujeres

$\bar{x} = 97 \text{ mcg } \%$

$s = 26$

margen = 46 — 159 mcg %

Simbología:

\bar{x} = promedio aritmético

s = desviación estandar

CUADRO 2

Distribución de frecuencias
Capacidad libre de fijación de hierro al suero
por el método de RATH y FINCH (20)

CFEs (microgramos/100 ml)	Frecuencias	
	Hombres	Mujeres
de 100 a menos de 150	14	2
de 150 a menos de 200	15	8
de 200 a menos de 250	16	12
de 250 a menos de 300	2	4
de 300 a menos de 350	4	4
TOTAL	51	30

Hombres

$\bar{x} = 193 \text{ mcg } \%$

$s = 58$

margen = 105 — 334 mcg %

Mujeres

$\bar{x} = 225 \text{ mcg } \%$

$s = 56$

margen = 120 — 341 mcg %

Simbología:

\bar{x} = promedio aritmético

s = desviación estandar

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Para las determinaciones del hierro sérico y de la capacidad libre de fijación de hierro al suero, se utilizó, invariablemente, suero y no plasma, por cuanto se han comprobado interferencias en estas determinaciones cuando se utilizan ciertos anticoagulantes, especialmente los oxalatos y el fluoruro de sodio (16).

En la literatura, desde hace muchos años, se establecieron valores muy diversos para el hierro sérico, obtenidos por muy diferentes métodos, existiendo, sin embargo, bastante concordancia en cuanto a que en los hombres los valores resultan ser un poco más elevados que en las mujeres. En ocasiones se han señalado valores normales mucho mayores que los indicados por la mayoría de los investigadores; sin embargo, estos valores eran falsos y se debieron o bien a que el material de vidrio y los reactivos estaban contaminados, o a que fueron utilizados métodos que, como el de incineración, liberan el hierro de la hemoglobina sérica, con lo cual pueden aumentarse dichos valores hasta un 50 % sobre el verdadero valor (27).

Una de las ventajas precisamente del método de PETERS *et al.* (14), que nosotros utilizamos en este trabajo, es la de que el suero tratado con ácido clorhídrico y ácido tricloroacético no libera el hierro de la hemoglobina aún cuando exista abundante hemólisis. SAENZ (22) logró observar que sueros ligeros o moderadamente hemolíticos, analizados el mismo día de la obtención de la muestra, no presentan ninguna interferencia en las determinaciones de hierro sérico. Sin embargo, sueros con el mismo grado de hemólisis mantenidos en congelación por varios días, para ser luego utilizados en las mediciones de hierro, acusaron valores falsamente elevados. Similares observaciones ha reportado RAMSAY (18).

En poblaciones adultas y mixtas en cuanto a sexo, se reportan valores de hierro sérico entre 65 y 160 mcg % con un promedio de 100 mcg % (27), haciéndose énfasis en que el valor promedio es ligeramente más bajo en mujeres que en hombres (27).

MOORE *et al.* citados en SCHALES (27), dan para hombres un valor medio de 122 mcg % y para mujeres de 98 mcg %. Asimismo POWELL (17), en hombres indica un valor de 143 mcg % y en mujeres 117 mcg %. RATH y FINCH (20), reportan un valor medio de 100 mcg % en ambos sexos.

PETERS *et al.* (14), en 43 hombres adultos, encuentran un valor margen de 56 a 185 mcg %, con un promedio de 119,7 mcg %, y una desviación estandar de 35,6. Estos resultados son muy semejantes a los encontrados por nosotros.

Asimismo, los autores anteriormente citados encuentran en pacientes con deficiencia de hierro, valores de hierro sérico entre 10 y 26 mcg %, y en otros que sufrían de hemocromatosis, entre 235 y 246 mcg %.

RAMSAY (18), en un modo muy general, considera que las mujeres usualmente tienen valores de hierro sérico menores de 100 mcg % y los hombres más de esa cifra.

CHALOUKKA y LEVERTON (4), en mujeres con un régimen dietético

individual y con edades comprendidas entre los 17 y 25 años, citan valores promedios de hierro sérico de 125 mcg %. Por otra parte, los mismos autores encontraron en mujeres entre los 30 y 40 años, un valor promedio de 119 mcg %, mostrando ambos reportes una franca concordancia con nuestros hallazgos.

Por otra parte FOWLER y BARER (6), en ambos sexos, encuentran un valor promedio de 106,2 mcg %, el cual es bastante semejante al valor medio que podría esperarse de acuerdo con nuestros resultados para ambos sexos. CARTWRIGHT et al. (2), en 20 hombres jóvenes saludables, encontraron un valor medio de hierro sérico de 120 mcg %, con valores margen de 60 a 180 mcg %.

De la revisión citada se desprende que nuestros valores encontrados tanto en mujeres como en hombres se corresponden con la mayoría de los resultados reportados. Sin embargo es necesario indicar la falta de información que existe en la literatura en relación al número de casos estudiados e inclusive al sexo utilizado en las investigaciones. De hecho, nuestros valores en hombres, para hierro sérico son de 49 a 198 mcg %, con un valor medio de 121 mcg %, y para mujeres, de 46 a 159 mcg %, con un valor medio de 97 mcg %, se ajustan a varios de los reportes que hemos consultado.

Se ha comprobado que la concentración de hierro en sangre normalmente muestra variaciones horarias en los individuos. Este hecho es importante por cuanto muchos autores no citan la hora en que fueron tomadas las muestras para el respectivo estudio, y en el caso nuestro, los hallazgos se refieren a personas de ambos sexos que fueron sangradas en ayunas. CHALOUKKA y LEVERTON (4), observaron durante el día variaciones de la magnitud de los 20 a 30 mcg %.

A partir del descubrimiento de SCHADE y CAROLINE (26), por el que caracterizaron a la globulina del plasma que fija el hierro, muchas técnicas han sido sugeridas para evaluar la propiedad que tiene el suero de combinarse con este metal (15 - 19 - 20 - 25 - 30). RATH & FINCH (20), han propuesto una técnica muy sencilla para medir esa propiedad del suero y adaptable prácticamente a todo aparato fotocolorimétrico y que se aparta muy ligeramente de la técnica originalmente descrita por SCHADE y CAROLINE. Con dicho procedimiento nosotros encontramos en hombres, valores margen de capacidad libre de fijación del hierro al suero, entre 105 y 334 mcg % con un valor promedio de 193 mcg %; en mujeres, los valores fueron, respectivamente, 120 — 341 mcg % y 225 mcg %.

HOLMBERG y LAURELL (10), encontraron que el suero normal puede fijar un total de 300 mcg % de hierro, o sea que el suero normal, que contiene aproximadamente unos 100 mcg %, puede fijar un suplemento de 200 mcg %, estando saturado, por lo que se refiere al hierro, sólo en su tercera parte.

RAMSAY (19), en unos pocos casos de hombres adultos encontró valores de capacidad libre de fijación de hierro al suero entre 281 y 316 mcg %, con un índice de saturación de la transferrina entre 38 y 48 %.

RATH y FINCH (20), en 15 hombres adultos normales encontraron una capacidad libre de fijación del hierro al suero de 205 mcg % como promedio aritmético

y un índice promedio de saturación de la transferrina de 34 %; en mujeres, el promedio fue de 194 mcg %, con un índice medio de saturación de la transferrina de 33 %.

PETERS et al. (15), encontraron un valor medio de capacidad total de fijación de hierro al suero cerca de 333 mcg %, con valores extremos entre 248 y 422 mcg %; las dos terceras partes de la población estudiada por los autores presentó valores margen entre 277 y 379 mcg % para capacidad total de fijación. Si se sumaran los valores medios que nosotros obtuvimos para hierro sérico y capacidad libre de fijación de hierro al suero, en ambos sexos, se notaría que para los hombres el valor medio de capacidad total de fijación de hierro al suero sería 314 mcg %, y para mujeres de 322 mcg %, aproximadamente.

Otros métodos más laboriosos, como los que utilizan hierro radioactivo, han podido confirmar las relaciones normales entre hierro sérico, capacidad libre de fijación del hierro al suero, capacidad total de hierro al suero y, como consecuencia, el índice de saturación de la siderofilina.

Como se podrá observar, nuestros hallazgos, en hombres y mujeres de la capacidad de fijación del hierro al suero se ajustan en mucho a los citados por los autores de la técnica que se empleó en este trabajo.

RESUMEN

Se hicieron determinaciones de hierro sérico y de capacidad libre de fijación en personas adultas (personal y donadores de sangre del Hospital Nacional de Niños y estudiantes universitarios), de uno y otro sexo, con edades comprendidas entre los 18 y 35 años.

Para la determinación cuantitativa de hierro en suero se usó el método de PETERS et al. (14), y para la capacidad libre de fijación el método de RATH y FINCH (20).

En 237 hombres, los valores de hierro sérico hallados fueron de 49 a 198 mcg %, con un valor medio de 121 mcg % y una desviación estandar de 38. En 125 mujeres, se encontró un valor medio de 97 mcg % con una desviación estandar de 26 y valores margen de 46 a 159 mcg %.

En 51 hombres los valores de capacidad libre de fijación fueron de 105 a 334 mcg %, con un valor promedio de 193 mcg % y una desviación estandar de 58. El índice de saturación de la transferrina fue de 42,3 como promedio aritmético.

En 30 mujeres los valores de capacidad libre de fijación oscilaron entre 120 y 341 mcg % con una desviación estandar de 56 y un promedio aritmético de 225 mcg %. El índice de saturación de la transferrina fue de 34,8 como valor promedio.

No se encuentran diferencias significativas entre hombres y mujeres en cuanto a los valores de hierro sérico, capacidad libre de fijación e índice de saturación de la globulina transportadora de hierro.

SUMMARY

Quantitative determinations of serum-iron and serum iron-binding capacity were done in adults (personel and donors from the Blood Bank of National Childrens Hospital and students of the University of Costa Rica), both sexes and from 18 to 35 years old.

For the serum iron we used the method of Peters et al. (14) and for the serum iron-binding capacity the method recomended by Rath and Finch (20).

Among 237 men, we found a range from 49 to 198 mcg% with an average of 121 mcg%. Among 125 women we found values ranging from 46 to 159 mcg% with 97 mcg% of average.

In 51 men the serum iron-binding capacity range was from 105 to 234 mcg% with an average of 193 mcg%. In 30 women the average was 225 mcg% ranging from 120 to 341 mcg%.

We did not find a significative difference between the values obtained from men and women.

AGRADECIMIENTO

Deseo dejar constancia de mi agradecimiento a la Jefatura y compañeros del Laboratorio del Hospital Nacional de Niños, por la colaboración que me brindaron para llevar a cabo este trabajo.

BIBLIOGRAFIA.

1. CARTWRIGHT, G. E. & M. M. WINTROBE
1949. Chemical, clinical, and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XXXIX. The anemia of infection. Studies on the ironbinding capacity of serum. *J. Clin. Invest.*, 28:86-98.
2. CARTWRIGHT, G. E., M. A. LAURITSEN, P. J. JONES, I. M. MERRIL & M. M. WINTROBE
1946 The anemia of infection. I. Hypoferremia, hypercupremia, and alterations in porphyrin metabolism in patients. *J. Clin. Invest.* 25:65-79.
3. COLLINS, P. F. & G. F. SMITH
1959. 2, 4, 6-Tripyridyl-s-triazine as a reagent for iron determination in limestone, silicates, and refractories. *Ann. Chem.* 31:1962-1967.
4. CHALOUKKA, & LEVERTON
1965. Cit. en tablas científicas (*Documenta Geigy*, sexta Ed.) J. R. Geigy S. A., Basilea, Suiza. 783 pp.
5. FORMAN, D. T.
1964. Determination of iron in serum using solvent extraction. *Am. J. Clin. Path.* 52:103-108.
6. FOWLER & BARER
1963. Cit. en tablas científicas (*Documenta Geigy*, sexta Ed.). J. R. Geigy S. A., Basilea, Suiza. 783 pp.

7. GRANICK, S. & R. D. LEVERE
1964. Heme synthesis in erythroid cells. Progress in hematology, Vol. IV, IX + 309 pp., Grune & Stratton, N. Y.
8. HAURANI F. I & L. M. TOCANTIS
1964. Diseases of iron metabolism with emphasis on effective reutilization. (Sec. II, Cap. 17). 144-150 pp. En Sunderman, F. W & Sunderman, F. W. Jr.: Hemoglobin. Its precursors and metabolites. XII + 360 pp., J. B. Lippincott Co., Philadelphia, U.S.A.
9. HIVESY, VON G.
1962. El metabolismo del hierro en el plasma y su significado clínico. *Triángulo*, V(6): 262-266
10. HOLMBERG, C. G. & C. B. LAURELL
1945. Studies on the capacity of serum to bind iron. *Acta Physiol. Scand.* 10:307-319.
11. JAYLE, M. F. & J. MORETTI
1962. Haptoglobin: biochemical, genetic and physiopathologic aspects. 342-359 pp. En Tocantis, L. M.: Progress in hematology. Vol. III, IX + 384 pp. Grune & Stratton, N. Y.
12. LEAVELL, B. S. & O. A. TRORUP
1960. *Hematología Clínica*. Ia. Ed., XV + 479 pp. Interamericana, S. A., México.
13. MIALE, J. B.
1962. *Laboratory Medicine-laboratory*. 2ª Ed., 918 pp. C. V. Mosby, Co. U.S.A.
14. PETERS, T.; T. J. GIOVANNIELLO; L. APT & J. F. ROSS
1956. A simple improved method for determination of serum iron. *J. Lab. Clin. Med.* 48:280-288.
15. PETERS, T.; T. J. GIOVANNIELLO; L. APT & J. F. ROSS
1956. Cita en Rice, E. W.: Principles and methods of clinical chemistry for medical technologist. Ia. Ed., XVII + 286 pp., Charles C. Thomas, Springfield, Ill., U.S.A.
16. PLANAS, J.
1963. Los anticoagulantes y la valoración del hierro sérico. *Rev. Esp. Fisiol.* 19:73-82.
17. POWELL, J. F.
1944. Serum iron in health and disease. *Quart. J. Med.* 13:19-26.
18. RAMSAY, W. N.
1957. The determination of iron in blood plasma or serum. *Clin. Chim. Acta* 2: 214-220.
19. RAMSAY, W. N.
1957. The determination of the total iron-binding capacity of serum. *Clin. Chim. Acta* 2:221-226.
20. RATH, C. E. & C. A. FINCH
1948. Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XXXVIII. Serum iron transport. Measurement of iron-binding capacity of serum in man. *J. Clin. Invest.* 28:79-85.

21. RICE, E. W.
1960. *Principles and methods of clinical chemistry for medical technologist*. 1a. Ed., XVII + 286 pp., Charles C. Thomas, Springfield, Ill. U.S.A.
22. SÁENZ, G. F.
1967. Comunicación personal.
23. SÁENZ, G. F. & G. ARROYO
1965. Valores normales de hemoglobina y hematocrito en adultos sanos de la población universitaria. *Libro de Resúmenes del Primer Congreso Centroamericano y Segundo Nacional de Microbiología*. San José, Costa Rica.
24. SCHADE, A. L.
1964. Serum iron and iron-binding capacity in relation to the tissue utilization of iron (Sec. II, cap. 16). 135-144 pp. En Sunderman, F.W. & Sunderman F.W. Jr.: *Hemoglobin. Its precursors and metabolites*, XII + 360 pp., J. B. Lippincott Co., Philadelphia, U.S.A.
25. SCHADE, A. L.
1964. Methods for measurement of serum iron and iron-binding capacity (Sec. II., cap. 16). 140-143 pp. En Sunderman, F.W. & Sunderman, F.W. Jr.: *Hemoglobin. Its precursors and metabolites*, XII + 360 pp. J. B. Lippincott Co., Philadelphia, U.S.A.
26. SCHADE, A. L. & L. CAROLINE
1964. An iron binding component in human blood plasma. *Science* 104:340-341.
27. SCHALES, O.
1960. Hierro en suero. (IX) 95-107 pp. En Siligson, D.: *Métodos seleccionados de Análisis Clínicos*. Vol. II, XX + 296 pp. Edit. Aguilar, Madrid.
28. SCHIFFER, L. M., D. C. PRICE & EUGENE F. GRONKITE.
1965. Iron absorption and anemia. *Jour. Clin. Med.* 65:316-321.
29. SCHWARTZ, S. O.
1964. Iron Overload: Hemosiderosis and hemochromatosis (Sec. II, cap. 18). 151-158 pp. En Sunderman F.W. & Sunderman, F.W. Jr.: *Hemoglobin. Its precursors and metabolites*. XII + 360 pp., J. B. Lippincott Co., Philadelphia, U.S.A.
30. WILLIAMS H. L. & M. E. CONRAD.
1965. A one-tube method for measuring the serum iron concentration and unsaturated iron-binding capacity. *J. Lab. Clin. Med.* 67:171-176.
31. WILLIAMS, H. L., P. R. ANDERSON, M. E. CONRAD, & W. H. CROSBY.
1964. A rapid method of measuring the iron concentration in serum or plasma. *J. Lab. & Clin. Med.* 63:703-707.