

MINISTERIO DE EDUCACION

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

"ESTUDIO DE LAS REACCIONES DIAGNOSTICAS DEL EMBARAZO"

"VARIACIONES DEL HIERRO NO HEMINICO, EN EL ESTADO DE GRAVIDEZ"

Trabajo de Tesis para optar  
al grado de  
Doctor en Bioquímica y Farmacia  
por

GERMANA C. A. HEINKEN

1 2 5 0

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

"ESTUDIO DE LAS REACCIONES DIAGNOSTICAS DEL EMBARAZO"

"VARIACIONES DEL HIERRO EN UTERINO, EN EL ESTADO DE GRAVIDEZ"

Trabajo de Tesis para optar  
al grado de  
Doctor en Bioquímica y Farmacia  
por

GERMANA C. A. HEINKEN



(0432) T<sup>3</sup>  
HEI  
58817

21/09/1

1252

A mis padres

A mis hermanos

A el novio

**Señor Decano**

**Señores Consejeros**

**Señores Profesores**

De acuerdo con las disposiciones reglamentarias de la Facultad, entrego a vuestra consideración el presente trabajo de Tesis, titulado: "Estudio de las reacciones diagnósticas del embarazo" - "Variaciones del hierro no hemínico, en el estado de gravidez", para optar al grado de Doctor en Bioquímica y Farmacia.

A la profesora Doctora Carmen Inda, quien ha tenido la amabilidad de guiarme en este trabajo, mis más sinceros sentimientos de gratitud, que hago extensivos al profesor Doctor Jorge Gascon, por el valioso aporte prestado.

Sea también mi agradecimiento al Doctor Vigilio Oliva, y a todos los que en alguna forma contribuyeron al mejor desenvolvimiento de mis tareas.

## **Estudio de las reacciones clorométricas del embarazo**

### **Variaciones del hierro no hemínico en el estado de gravidez.**

- 1º) - Estudio del método y la determinación de su sensibilidad con distintas concentraciones de sal férrica.**
- 2º) - Sensibilidad del método para una solución determinada de hierro.**
- 3º) - Sensibilidad del método con un suero.**
- 4º) - Variaciones fisiológicas del hierro no hemínico en mujeres no embarazadas.**
- 5º) - Variaciones del hierro en suero de mujeres embarazadas.**
- 6º) - Estudio comparativo.**
- 7º) - Conclusiones.**
- 8º) - Bibliografía.**

## El hierro en el organismo

De acuerdo con los trabajos realizados por Hahn P.F. (1), el total del hierro en el organismo del hombre estaría distribuido en la siguiente forma: en la sangre, casi en su totalidad, formando parte de la molécula de hemoglobina, el 87 %; en la médula ósea, hígado y bazo, órganos que algunos autores consideran como verdaderos depósitos del mismo elemento químico, el 20 %; en otros órganos (hierro parenquimatoso), que interviene en la constitución de fermentos de gran significación biológica, el 16 % y en los músculos, como constituyente de la miohemoglobina, el 7 %.

Según la discriminación precedente, si sumamos al de la hemoglobina, todo el hierro existente en la médula ósea, hígado y bazo, observamos que, aproximadamente las tres cuartas partes del hierro funcional interviene en la hematopoyesis (formación de eritrocitos) (2).

Se ha tratado de clasificar el hierro hemático teniendo en cuenta las diversas formas en las que pareciera existir, aceptamos con varios autores (3) la siguiente clasificación general:

a) Hierro hemínico, de la hemoglobina, catalasas, peroxidases, citocromos, etc.

b) Hierro no hemínico, denominándose así al hierro inorgánico y además al hierro combinado con las proteínas del plasma, designado "hierro fácilmente separable", o hierro lábil. Como todavía no se conocen bien sus verdaderas formas de combinación, se habla en general de: hierro inorgánico, hierro sérico, hierro plasmático o hierro utilizable.

Autores como Josephs y Winocour (4); More, Dg

an y Arrowsmith (5), al realizar estudios más detallados consideran, que en la sangre el hierro existe por lo menos en cuatro formas, a saber:

- 1) Como hierro integrante de la hemoglobina.
- 2) Como hierro sérico (0,05 a 0,2 mg/100 ml).
- 3) Como hierro fácilmente separable, que como la hemoglobina es intraglobular.
- 4) Como hierro orgánico intraglobular escaso en la sangre normal, pero que puede llegar a 20 mg/100 ml durante los dos primeros meses de vida, y en la anemia perniciosa, así como también en las personas a las cuales se les administra hierro.

Como podemos apreciar, en condiciones fisiológicas el contenido de hierro sérico es normalmente bajo, pero su tenor trasunta o refleja el equilibrio existente entre el hierro absorbido por el intestino, el proveniente de la destrucción constante de hematíes y el circulante entre médula ósea y tejidos.

Es innecesario realizar un examen crítico, sobre las pruebas clínicas y experimentales que demuestran que el hierro, es un elemento químico indispensable para el organismo; necesidad que es revelada por el análisis químico de la hemoglobina, en la anemia hipocrómica establecida como consecuencia de una insuficiente ingestión de hierro, o también, en las grandes pérdidas determinadas por una prolongada hemorragia.

Acorde con lo expresado por Whitby y Britton (6) los factores indispensables que aseguran y regulan la continua producción y renovación de eritrocitos son: el hierro, indicios de cobre, de cobalto, de manganeso o de otros metales; el principio hematopoyético; pigmentos, vitaminas, sustancias provenientes de los organismos de secreción interna y proteínas de primera clase.

**En el proceso de síntesis de la hemoglobina, el factor esencial: hierro, es transportado principalmente como hierro plasmático o hierro sérico.**

## Relación entre absorción, transporte de hierro y excreción.

Con la ingestión diaria del hierro alimenticio o del hierro medicamentoso -si fuera necesario- el organismo asegura el requerimiento dietético mínimo de hierro; mejor dicho esto solo no es suficiente, puesto que el contenido de hierro de tales productos carecerá de valor para el cumplimiento funcional del sistema hematopoyético, si el hierro no se absorbe a nivel del intestino.

Al estudiar el metabolismo del hierro, Lintzel (7) en su teoría sostiene, que la absorción de este metal, proveniente de los alimentos, es muy pequeña y que la misma se realiza a nivel del duodeno y parte superior del yeyuno.

Un intestino con normal funcionamiento, absorbe adecuadamente esos productos y permite a su vez, su almacenamiento por el organismo. El último tiene lugar particularmente en el hígado y también en el bazo y en la médula ósea.

Hahn y sus colaboradores (8-9) con sus experiencias y trabajos en que emplearon hierro radiactivo, lograron demostrar su absorción y posteriormente, su presencia en la hemoglobina de los hemáties circulantes, dentro de un período de tiempo de cuatro horas subsiguientes a su ingestión.

El hierro contenido en los alimentos de la ingesta diaria, no es totalmente absorbido ni completamente utilizado. La asimilación y utilización del hierro esta condicionada por numerosos factores; entre los de capital importancia merece citarse un eficiente funcionalismo gástrico. El hierro alimenticio puede ser inutilizable (10) si se presenta en combinaciones químicas complejas, puesto que para ser absorbido debe presentarse en forma ionizable. El ácido clorhídrico existente en el jugo gástrico ioniza el hierro que puede ser aprovechado y a su vez lo mantiene solubilizado en medio ácido.

La absorción tiene lugar, como ya señalamos

más arriba, en el intestino delgado, principalmente en el duodeno, donde el medio intestinal tiende a reducir todo el hierro trivalente, al estado ferroso (bivalente), que constituye la forma indispensable para su absorción por el intestino del hombre.

Tal como lo señala Wintrobe (11) está aún en discusión si el intestino, por sí solo, puede regular la cantidad de hierro a absorberse. En la mucosa intestinal, parece existir un "Aceptor de hierro", compuesto cuya saturación y consiguiente capacidad para la absorción del elemento, dependería del tenor de hierro plasmático. Un descenso en la concentración del hierro plasmático, puede provocar la salida de hierro ferroso desde las células de la mucosa hacia el plasma y como consecuencia, producir "in situ", una disminución de iones ferrosos.

Estaría de acuerdo este último enunciado con la teoría de Mc Cance y Widdowson (12) quienes en su estudio sobre el metabolismo del hierro, sostienen que: "La absorción del hierro en el intestino, es gobernada por la concentración relativa de iones libres en la luz del intestino y en el plasma".

En el hombre normal y adulto, la absorción de hierro por la mucosa intestinal es pequeña, porque el organismo posee una extraordinaria capacidad de retención y de almacenamiento de este elemento, evitando así la excreción del hierro liberado, en el catabolismo cotidiano de los glóbulos rojos. Pequeñísimas cantidades de hierro se excretan por vía renal y por vía intestinal.

Todos los resultados de las modernas investigaciones sobre el metabolismo del hierro nos llevan a la conclusión de que el organismo conserva casi en forma total su caudal de hierro (13), utilizando repetidas veces el mismo hierro procedente de la desintegración de los hematíes viejos (metabolismo en dógeno)8

merced a la barrera propia que impide la eliminación de este metal, el organismo del hombre normal en estado fisiológico, está protegido contra las pérdidas de dicho elemento. Pero todo lo contrario acontece en la mujer, quien al llegar a la madurez sexual rebasa reiteradamente tal barrera; que esto sucede se prueba porque en la mujer cada cuatro semanas se producen pérdidas de hierro, cuya magnitud depende de la intensidad de la hemorragia menstrual, calculándose las mismas entre 25 y 100 mg; también en la lactancia y el embarazo, de acuerdo con cálculos cuidadosos se considera que la pérdida de hierro se eleva de 400 a 500 mg. (14)

Los niños debido a los requerimientos de su continuo desarrollo, tienen necesidades semejantes a las de la mujer. En consecuencia, ambos deben reparar las pérdidas sufridas con un aumento compensador de la absorción a nivel del tracto intestinal, se explica así que la regulación sea función importante de los órganos de absorción y que ella esté a su vez condicionada en parte por la riqueza en contenido de hierro de la dieta alimenticia.

Una adecuada alimentación puede asegurar un balance de absorción positivo en los niños y en las mujeres, aunque en estas últimas puede tornarse fácilmente negativo, contribuyendo así, a la frecuencia con que las mujeres padecen de anemia por carencia de hierro.

Las mujeres y los niños sanos al tratar de alcanzar y mantener el nivel fisiológico, absorben fácil y rápidamente el hierro, ya que este es sub-normal porque utilizan el hierro libremente para asegurar las necesidades de reserva y la continua producción de hemoglobina. Nuevamente aquí debemos citar los importantes trabajos de Hahn y sus colaboradores con el empleo de hierro radioactivo. (15)

Por eso si recordamos la situación fisiológica especial de la mujer, a causa de la rotura repetida de su barrera de eliminación, que la hace más predispuesta que el hombre a padecer enfermedades por carencia de hierro, nos apercibimos de la

importancia capital que tiene todo trastorno del poder de absorción, o de las ofertas exógenas insuficientes.

Resumiendo, en el varón adulto y sano, las pérdidas de hierro son muy pequeñas, mientras que en la mujer en su madurez sexual, ellas son mayores y la regulación del tenor del hierro siempre depende del ofrecimiento exógeno. La casi totalidad del hierro de la sangre se encuentra formando parte del pigmento respiratorio, pero existe en el plasma una pequeña cantidad, designada "hierro de transporte", de suma importancia en el metabolismo del citado elemento.

Recién llegó a conocerse mas profundamente el proceso metabólico del hierro, desde que se realizara la determinación del hierro contenido en el plasma circulante. Han contribuido a ello autores como Barkan (16); Mani, Locke y Rosbach (17); C. V. Moore y colaboradores (18); Heilmeyer y Plötner (19); etc, quienes aplicaron distintos métodos al análisis biológico de rutina.

La valoración del hierro sérico ha revelado el hecho significativo, de que la cantidad de hierro de transporte existente en la mujer es inferior a la del varón, con diferencias de un 30%. En general varían los datos obtenidos de acuerdo con el método empleado, así: Heilmeyer y Plötner (loc. cit.) dan para el varón, término medio de hierro en suero 125 g/ 100 ml y para la mujer 90 /100 ml; C. V. Moore (20) 122 / 100 ml y 93 / 100 ml término medio para el varón y la mujer respectivamente; Goidsenhover, Hoet y Lederer (21) 141 /100 ml para el varón y 118 /100 ml para la mujer; Barkan y Walker (22) de 80 a 175 /100 ml, o sea - 138 /100 ml término medio para el varón, y de 70 a 150 /100 ml, o sea - 100 /100 ml término medio para la mujer. En nuestro país, en Tucumán, la Dra. Gil (23) ha obtenido en sus determinaciones, resultados que oscilan entre 90 y 230 /100 ml, sin hacer distinción de sexo.

Si aceptamos con Heilmeyer (loc.cit.), que la concentración del hierro plasmático representa un índice de la ri

queza, total del hierro en el organismo, debemos admitir entonces, que cada vez que en la mujer se produce un descenso del hierro de la sangre, veríamos expresadas las pérdidas fisiológicas de hierro que repetida y constantemente se producen en ella. También reflejaría su gran predisposición a enfermar por falta de tal elemento.

A su vez, el nivel fisiológicamente bajo que ofrece el hierro plasmático de la mujer, requiere especial mecanismo regulador, y es así como gracias a las investigaciones ya citadas, sobre el hierro sérico, se ha llegado a conocer la forma efectiva como se producen los intercambios fisiológicos y patofisiológicos del hierro intermediario.

El hierro del plasma circulante, como ya dijimos, es "hierro de transporte", entonces este hierro iónico debe estar unido lábilmente a los coloides del plasma. El nivel constante del hierro plasmático revela el equilibrio existente entre el hierro que ingresa y el que se elimina.

Al hierro exógeno que ingresa al organismo a través de la pared gastrointestinal (absorción alimenticia), se suma en ciertos casos el hierro procedente de los depósitos.

El hierro plasmático, circulante, se orienta hacia los órganos hematopoyéticos, aportando el material necesario para la génesis de la hemoglobina, y condiciona en consecuencia la actividad de estos órganos, el tenor y sentido de los desplazamientos del hierro de transporte. Así cuando en el organismo se origina una hiperactivación eritropoyética, hay un inmediato pasaje del hierro plasmático hacia la médula ósea, con la consiguiente disminución en el tenor del hierro intermediario. En condiciones fisiológicas, el nivel normal del hierro plasmático, se restablece rápidamente gracias al aporte del hierro de los depósitos y por aumento de la absorción de este catión a nivel del intestino.

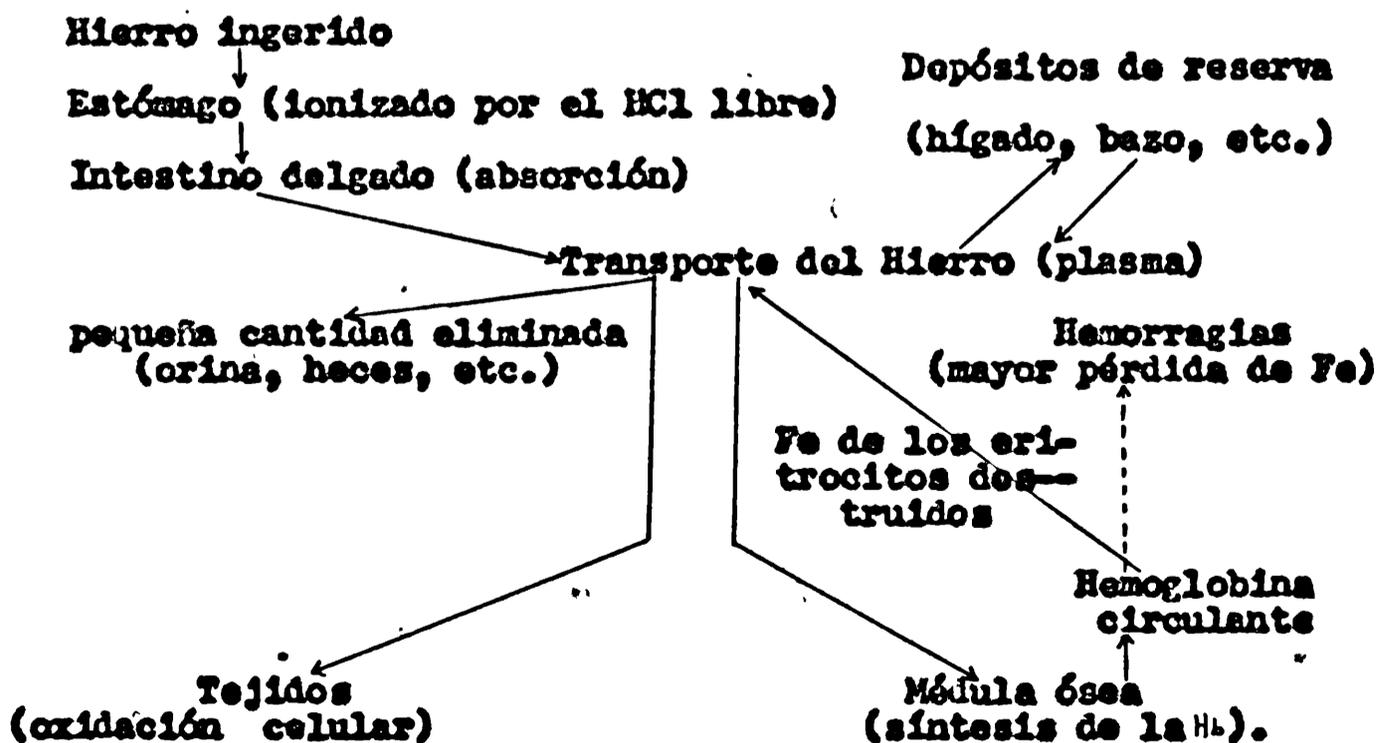
Sólo con el agotamiento del hierro de los depósitos, puede producirse un descenso constante del hierro hemá-

tico; contrariamente, por excesiva destrucción de hemáticas, libé-  
 ranse grandes cantidades de hierro que determinan un aumento con-  
 siderable del nivel del hierro plasmático, cuya duración depende  
 del tiempo en que se mantenga la hiperdestrucción de hemoglobina.

Con estas consideraciones, llegamos a pensar que el nivel del hierro de transporte en la sangre, es de impor-  
 tancia capital, para conocer la forma en que el hierro se desplaza,  
 de acuerdo con su concentración: si el tenor del hierro en el plas-  
 ma descendiera, ello determinaría el pasaje del elemento hierro  
 hacia la sangre por aumento de la absorción a través del tubo di-  
 gestivo, pero también a su vez sería favorecida la salida del hier-  
 ro de los depósitos; en cambio si la cantidad de hierro plasmá-  
 tico fuera elevada, es posible que el hierro sanguíneo se diri-  
 giera hacia los depósitos hísticos.

Hipótesis semejante a esta de Heilmeyer (loc. cit.) (con respecto a la absorción del hierro) han elaborado inves-  
 tigadores como Mc Cance y Widdowson (loc. cit.). No es solamente  
 la cantidad de hierro ofrecido la que condiciona su almacenamien-  
 to, sino que el mismo háyase influido por el grado de actividad  
 celular.

Resumen esquemático del metabolismo del hierro - (C.V. Moore en  
 Wohl, M. Dietotherapy, o Clinical Application of Modern Nutrition-  
 W.B. Sanders Co., 1945).



## Hierro no Hemínico Métodos de valoración

Se conocen diversos métodos para valorar la fracción de hierro contenido en la sangre que no forma parte de la hemoglobina, pero que se encuentra en el suero o plasma.

Las técnicas más usadas para evaluar el tenor de hierro sérico comienzan por separar las proteínas del suero, y el catión hierro que pasa en solución se determina colorimétricamente, aprovechando las reacciones que presenta el hierro con el ion sulfocianuro, con el  $\alpha$ -dipiridilo, con el ácido tioglicólico, con la o-ferrantrolina, etc.

Después de realizar el estudio de los métodos resumimos algunas de las técnicas que utilizan reactivos distintos para efectuar la reacción colorimétrica, métodos que van expresados a continuación.

## Método de Heilmeyer y Floetner (24)

A 2 ml de suero, (una ligera hemólisis no interfiere la reacción) en un tubo de ensayo, se le agrega 1 ml de ácido clorhídrico 6 N y se deja durante diez minutos. Transcurrido este tiempo se añaden 2 ml de ácido tricloroacético al 20 % y se deja otra vez por espacio de diez minutos; se pasa dicha mezcla a un tubo de centrifuga y se filtra después de centrifugar, la parte líquida superior en un tubo de ensayo graduado de 10 ml.

El filtrado que se obtiene varía entre 3,2 y 3,5 ml. Se adiciona entonces 0,05 ml de solución de o-fenantrolina al 1 %, 0,1 ml de solución de hidroquinona al 2 % y 0,05 ml de nitrofenol al 1 %, y por último después de haber mezclado todo el contenido del tubo, se deja caer gota a gota amoníaco al 20 %, hasta que desaparezca el compuesto rojo de la fenantrolina y el color amarillo que se forma en su lugar estable. En ese momento se comienza el agregado también por gotas de ácido sulfúrico 0,5 N hasta que vuelve a aparecer el rojo de la anterior fenantrolina.

Falta agregar entonces 2 ml de solución reguladora a pH 4 - 4,2 y se lleva todo a volumen de 5 ml con agua bi-distilada. Después de cinco minutos se puede hacer la lectura, el color permanece constante por espacio de varias horas.

En forma simultánea se opera igual con otro tubo en el cual se reemplazan los 2 ml de suero por una solución tipo de hierro ( 1 % de hierro por ml).

Se hacen lecturas colorimétricas o mejor aún fotocolorimétricas. Valores hallados con este método oscilan entre 90 y 125 % /100 ml término medio.

### **Método de Barkan y Walker (26)**

En un tubo de ensayo se miden 2 ml de suero o plasma no hemolizado, se le agrega 1 ml de ácido clorhídrico al 1,2 % y se mantiene tapado y a 37° C durante una hora.

Después de llevar a temperatura ambiente y añadir 1 ml de ácido tricloroacético al 20 %, se mezcla y vuelve a dejar por espacio de otra hora. Transcurrido este tiempo se centrifuga o filtra.

Al líquido así obtenido se le agrega: 0,5 ml de solución saturada de acetato de sodio, 0,5 ml de solución de sulfato de hidrazina al 1 % y 0,5 ml de solución acuosa al 0,1 % de o-fenantrolina monohidratada.

Se opera de igual modo y en forma simultánea con un segundo tubo que lleva en vez de suero, una solución tipo de sal de hierro, y, un tercer tubo en blanco que sirve de control.

Se hacen lecturas colorimétricas o mejor fotocolorimétricas.

Los autores dan valores hallados con este método que oscilan entre 70 y 175 %/100 ml.

**Método propuesto por Gerhard Fuhrman y Hans**

**Narkemeyer (26)**

Preparan todos los reactivos con agua bidestilada y todo el material se limpia previamente con mezcla sulfocrómica.

Extraída la sangre de la vena directamente con una cánula V<sub>2</sub>A - Stahl, pasa a un tubo de centrifuga, donde previa coagulación se centrifuga.

En un tubo de ensayo de 10 cm<sup>3</sup> se miden 2 ml de suero y 1 ml de ácido clorhídrico al 10 % (2,74 N).

Después de agitar energicamente se deja reposar por espacio de 20 minutos y se añade entonces 1 ml de ácido tricloroacético al 40 % (2,4445 N), a los 10 minutos se procede al filtrado, teniendo sumo cuidado de que el papel de filtro no contenga hierro, de lo contrario se efectúa un tratamiento previo del mismo con ácido clorhídrico al 10 %, una serie de lavados con agua bidestilada y secado durante 12 horas a temperatura inferior a 40° C.

Se utiliza 1 ml del filtrado que se mide en un tubo de ensayo de 4 cm<sup>3</sup> de capacidad, donde ya se ha medido 0,035 ml de solución de ácido sulfosalicílico (20 g de dihidrato por 100 ml). Agitar energicamente y agregar 0,5 ml de amoníaco al 10 %, mezclar y enfriar la solución a 20° C.

El color permanece constante una-s 24 horas y se efectúan las lecturas con el fotómetro de Pulfrich.

Con este método los valores de hierro no hemínico varían entre 75 y 144 %/100 ml.

## Valoración del hierro sérico.

### Método de Walker (27)

El suero no hemolizado se digiere mediante ácido sulfúrico concentrado y calor en baño de arena. Se emplean 2 ml de suero y 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Cuando se ha carbonizado totalmente se le agrega peróxido de hidrógeno al 30 % en cantidad suficiente y por fracciones de 0,5 ml, calentando hasta obtener una solución clara y transparente.

Luego de enfriar se completa a 20 ml con agua destilada. Simultáneamente se efectúa lo mismo con otros dos tubos, uno que servirá de testigo, lleva en lugar de suero una solución tipo de hierro en la que 1 ml = 0,01 mg de hierro y el tercer tubo que se aconseja es en blanco.

Tenemos así los tres tubos, a los cuales se agrega una solución saturada de persulfato de potasio, y solución de tiocianato de potasio aproximadamente 3 N.

Se mezcla bien y se compara al colorímetro, o mejor aún se hace lectura fotocolorimétrico.

Los valores hallados con este método oscilan entre 40 y 230  $\gamma$ /100 ml.

## **Un nuevo método de determinación de Hierro inorgánico en plasma:**

**Julia Gil (loc. cit.)**

### **Parte experimental**

**Principio del método:** El suero o plasma no hemolizado, se desalbumina con ácido tricloroacético.

El desalbuminado se trata con un exceso de ácido sulfúrico y previa dilución, se añade un exceso de sulfocianuro de potasio. El sulfocianuro férrico formado se extrae con éter acético y la coloración se compara al fotómetro, utilizando como líquido de compensación un blanco tratado con los mismo reactivos.

**Reactivos necesarios:** 1º) Ácido tricloroacético, solución al 20% en agua destilada.

2º) Ácido sulfúrico puro libre de hierro.

3º) Sulfocianuro de potasio, solución al 20 % en agua bidestilada.

4º) Eter acético puro.

5º) **Solución tipo de hierro:** Esta solución se preparó de acuerdo a la técnica descrita en el método de Wong para la determinación de hierro total en sangre. El procedimiento es el siguiente: "Se pesan exactamente 0,5 g de alumbre de hierro purísimo y se disuelven en 10 o 20 ml de ácido sulfúrico al 10 %. Se agregan 3 ml de ácido nítrico concentrado para oxidar las trazas de sal ferrosa que pudiera haberse formado. Se diluye con agua bidestilada exactamente hasta 500 ml. Esta solución contiene 1 mg de hierro por ml. Se toma 1 ml de esta solución y se diluye a 100 ml, obteniéndose así una solución que contiene 0,01 mg por ml; esta a su vez se diluye al décimo para obtener la solución tipo que contiene 0,001 ml de hierro por ml.

**Técnica:** A una parte de suero o plasma se le adiciona una parte de ácido tricloroacético al 20 %. Se deja en contacto 20 a 30 minutos y se centrifuga o se filtra.

En un tubo graduado de 20 ml se colocan 3 a

6 ml de filtrado que corresponden a 1,5 ó 3 ml de plasma respectivamente; se agrega 1 ml de ácido sulfúrico puro. Se agita bien y se enfría bajo corriente de agua. Se completa con agua bidestilada a 10 ml (o más si es necesario) y se agregan 5 ml de sulfocianuro de potasio al 20 % y 5 ml de éter acético. Se agita suave y continuamente durante 2 a 3 minutos, se deja reposar unos instantes.

El éter acético extrae el sulfocianuro férrico formado y se separa en la parte superior. La coloración del éter acético se compara al fotómetro utilizando como líquido de compensación una cantidad equivalente de éter acético que se ha utilizado en el ensayo en blanco, donde se emplean todos los mismos reactivos en idénticas cantidades, habiendo reemplazado en el filtrado el suero o plasma por una cantidad igual de agua bidestilada".

## Parte experimental

### Estudio del método - Determinación de su sensibilidad.

De las varias técnicas propuestas para la determinación del hierro en suero sanguíneo elegimos la que utilizó Gil en su trabajo ya citado.

Todo el material de vidrio empleado en muestras experiencias, fué de la calidad denominada Pyrex, y aseguramos su limpieza, de acuerdo a lo recomendado por Gil, tratándolo previamente con mezcla sulfocrómica y lavándolo luego con agua destilada y bidestilada. Las drogas utilizadas fueron proanálisis y preparadas todas las soluciones con agua bidestilada.

Para las determinaciones colorimétricas empleamos el fotocolorímetro de Klett-Summerson, (23).

Como operación inicial, ensayamos los filtros de Klett-Summerson disponibles en el laboratorio, habiendo comprobado que el n° 54 (color verde) era el más apropiado. Con el filtro adecuado, colocamos en el recipiente ad-hoc el disolvente (éter acético), que se interpone al paso de la luz que incide sobre una de las dos fotocélulas. Estas células están conectadas en un circuito potenciométrico de modo, que la corriente de una de las células se opone a la de la otra a través de un indicador de cero. (galvanómetro)

Con la escala del fotómetro puesta en cero (densidad óptica cero), ajustamos la corriente que sale de la segunda fotocélula, de modo que quede exactamente equilibrada con la corriente que proviene de la fotocélula sometida a la luz que emerge del líquido disolvente. Apreciamos este equilibrio por una lectura de cero en el galvanómetro, luego reemplazamos el disolvente por la solución a determinar, la que tiene un poder de absorción distinto al disolvente y que se pone de manifiesto por un desequilibrio eléctrico que se restablece, mediante modificaciones, girando el dial del potenciómetro. La lectura que efectuamos en ese momento en la escala potenciométrica nos da la medida

de la absorción de luz de la solución. Sabemos que la lectura de la escala es directamente proporcional a la concentración de la sustancia coloreada, y para comprobar si se cumple en esta reacción la ley de Beer, y determinar la sensibilidad del aparato para las diversas concentraciones de las soluciones a determinar, realizamos las siguientes experiencias: Preparamos una serie de concentraciones a partir de la solución patrón de hierro, de tal forma que cubran todas las variaciones de lecturas en la escala potenciométrica. Esta serie comienza por una solución de 2 de hierro, siendo la de mayor concentración de 30 de hierro.

Las soluciones diluidas de hierro son de difícil conservación, por lo que las preparamos en el momento de usar, a partir de una solución madre que contiene 1 mg de hierro/ml (Gil, loc.cit.), operando de la siguiente forma:

<u>a</u>	<u>b</u>
Solución madre:                    1 ml	Solución <u>a</u> 10ml
Agua bidestilada esp. : 100 ml	Agua bidestilada esp. : 100 ml
1 ml = 0,01 mg de hierro	1 ml = 0,001 mg de hierro

#### Técnica de la reacción

No- bos	Conc.de Fe en %	Solución ml	tipo	Adición de H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ml	Agua bidestilada ml	Solución KCN 20% ml	Etor acético ml
1	2	2	sol. b	1	7	5	5
2	2,5	2,5	" "	1	6,5	5	5
3	5	5	" "	1	6	5	5
4	7,5	7,5	" "	1	5,5	5	5
5	10	1	" a	1	8	5	5
6	12,5	1,25	" "	1	7,75	5	5
7	15	1,5	" "	1	7,5	5	5
8	17,5	1,75	" "	1	7,25	5	5
9	20	2	" "	1	7	5	5
10	22,5	2,25	" "	1	6,75	5	5
11	25	2,5	" "	1	6,5	5	5
12	27,5	2,75	" "	1	6,25	5	5
13	30	3	" "	1	6	5	5

A cada uno de los trece tubos que contienen las soluciones de hierro agregamos el ácido sulfúrico concentrado, enfriando convenientemente bajo canilla, y la cantidad suficiente de agua bidestilada para llevar al volumen de 10 ml. Adicionamos enseguida el sulfocianuro de potasio y finalmente el éter acético puro, agitando uno por uno los tubos por espacio de dos o tres minutos, hasta completa extracción del sulfocianuro de hierro formado por el acetato de etilo. Dejamos reposar y decantamos el líquido sobrenadante para realizar las lecturas fotocolorimétricas.

Los ensayos correspondientes a esta escala de concentraciones fueron repetidas seis veces. Experiencias: A, B, C, D, E, F.

Al hacer la representación gráfica de la función sobre papel milimetrado, la función queda representada por una recta puesto que la escala del potenciómetro es semilogarítmica. Gráficos nº 1 y nº 2.

### Experiencia A

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fe en %</u>	<u>Leet. fotocolorimétricas</u>	<u>Leet. Promedio</u>
1	2	57 - 58 - 55	56,6
2	2,5	63 - 64 - 65	64,6
3	5	121 - 119 - 119	119,6
4	7,5	173 - 173 - 174	173,6
5	10	236 - 234 - 234	234,6
6	12,5	299 - 298 - 299	298,6
7	15	353 - 353 - 350	354
8	17,5	410 - 403 - 405	406,6
9	20	490 - 480 - 430	433,6
10	22,5	532 - 530 - 534	532
11	25	590 - 600 - 595	595
12	27,5	635 - 635 - 630	636,6
13	30	750 - 760 - 750	753

### Experiencia B

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fe en <math>\gamma</math></u>	<u>Lect. fotocolorimétricas</u>	<u>Lect. Promedio</u>
1	2	64 - 64 - 64	64
2	2,5	69 - 70 - 71	70
3	5	118 - 118 - 118	118
4	7,5	171 - 169 - 170	170
5	10	224 - 224 - 224	224
6	12,5	290 - 290 - 291	290
7	15	351 - 352 - 353	352
8	17,5	412 - 412 - 412	412
9	20	435 - 435 - 435	435
10	22,5	535 - 535 - 535	535
11	25	599 - 600 - 602	600
12	27,5	680 - 680 - 680	680
13	30	730 - 730 - 730	730

Experiencia G

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fe en <math>\delta</math></u>	<u>Lect. fotocolorimétricas</u>	<u>Lect. Promedio</u>
1	2	60 - 53 - 58	58,6
2	2,5	63 - 60 - 68	63,3
3	5	122 - 121 - 121	121,3
4	7,5	176 - 177 - 176	176,3
5	10	240 - 236 - 237	237,6
6	12,5	300 - 293 - 29 6	298
7	15	345 - 348 - 345	346
8	17,5	425 - 415 - 410	416,6
9	20	460 - 465 - 460	461,6
10	22,5	510 - 515 - 515	513,3
11	25	590 - 600 - 590	593,3
12	27,5	630 - 650 - 650	643,3
13	30	740 - 750 - 740	743,3

### Experiencia D

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fe en /</u>	<u>Lect. fotocolorimétricas</u>	<u>Lect. Promedio</u>
1	3	59 - 60 - 59	59,3
2	3,5	71 - 72 - 73	72,6
3	5	121 - 124 - 121	123,3
4	7,5	179 - 173 - 180	178,3
5	10	240 - 242 - 240	240,6
6	12,5	296 - 298 - 298	297,3
7	15	365 - 363 - 363	363,3
8	17,5	423 - 415 - 410	416,6
9	20	470 - 470 - 475	471,6
10	22,5	540 - 530 - 535	535
11	25	580 - 590 - 590	586,6
12	27,5	670 - 650 - 650	656,6
13	30	740 - 750 - 740	743,3

Experiencia E

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fe en <math>\gamma</math></u>	<u>Lect. fotocolorimétricas</u>	<u>Lect. Promedio</u>
1	2	60 - 59 - 57	58,6
2	2,5	71 - 72 - 70	71
3	5	125 - 127 - 125	125,6
4	7,5	181 - 179 - 180	180
5	10	240 - 242 - 241	241
6	12,5	305 - 300 - 302	302,3
7	15	360 - 356 - 354	356,6
8	17,5	428 - 423 - 425	425,3
9	20	480 - 475 - 475	476,6
10	22,5	586 - 552 - 570	569,3
11	25	610 - 600 - 610	606,6
12	27,5	690 - 670 - 660	676,6
13	30	780 - 750 - 760	763,3

### Experiencia I

<u>Nº de tubo</u>	<u>Fo en <math>\gamma</math></u>	<u>Lect. fotocolorimétricas</u>	<u>Lect. Promedio</u>
1	2	61 - 59 - 60	60
2	2,5	73 - 73 - 73	73,3
3	5	123 - 124 - 125	124
4	7,5	134 - 131 - 132,5	132,5
5	10	239 - 240 - 239,5	239,5
6	12,5	298 - 296 - 298	296,3
7	15	368 - 354 - 355	354,6
8	17,5	430 - 422 - 421	421
9	20	480 - 476 - 480	478,6
10	22,5	560 - 553 - 553	553,6
11	25	615 - 610 - 608	611
12	27,5	680 - 670 - 675	675
13	30	760 - 740 - 750	750

CUADRO N° I

N° de Tubos	Fe en	Lecturas Promedios Experiencias							T.N.	d (diferencia)						d <sup>2</sup>						d <sup>2</sup>	$\sqrt{\frac{d^2}{n-1}}$	v
		A	B	C	D	E	F	A		B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F				
1	2	56,6	64	58,6	59,3	58,6	60	59,51	-2,91	+4,49	-0,91	-0,21	-0,91	+0,49	8,4681	20,1601	0,8281	0,0441	0,8281	-0,2401	30,5686	2,4725	4,5	
2	2,5	64,6	70	68,3	72,6	71	73,3	69,96	-5,36	+0,04	-1,66	+2,64	+1,04	+3,34	28,7386	0,0016	2,7556	6,9696	1,0816	11,1556	50,7026	3,1844	4,55	
3	5	119,6	118	121,3	123,3	125,6	124	121,96	-2,36	-3,96	-0,66	+1,34	+3,64	+2,04	5,5696	15,6816	0,4356	1,7956	12,2496	4,1616	39,8936	2,8247	2,32	
4	7,5	173,6	170	176,3	178,3	180	182,5	176,78	-3,18	-6,78	-0,48	+1,52	+3,22	+5,72	10,1124	45,9684	0,2304	2,3104	10,3684	32,6184	101,6084	4,5079	2,54	
5	10	234,6	224	237,6	240,6	241	239	236,21	-1,61	-12,21	+1,39	+4,39	+4,79	+3,29	2,5951	149,0841	1,9321	19,2721	22,9441	10,8241	206,6486	6,4288	2,72	
6	12,5	298,6	290	298	297,3	302,3	296,3	297,08	+1,52	-7,08	+1,08	+0,22	+5,22	-0,78	2,3104	50,1264	1,1664	0,0484	27,2484	0,6084	81,5084	4,0385	1,02	
7	15	354	352	346	363,3	354,6	354,6	354,41	-0,41	-2,41	-8,41	+8,89	+2,19	+0,19	0,1681	5,8081	70,7281	79,0321	4,7961	0,0361	160,5686	5,6668	1,59	
8	17,5	406,6	412	416,6	416,6	425,3	421	416,35	-9,65	-4,35	+0,25	+0,25	+8,95	+4,65	93,1225	18,9225	0,0625	0,0625	80,1025	21,6225	213,8950	6,5045	1,56	
9	20	483,6	485	461,6	471,6	476,6	478,6	476,16	+7,44	+8,84	-14,56	-4,56	+0,44	+2,44	55,3536	78,456	211,9936	20,7936	0,1936	5,9536	372,4336	8,6305	1,81	
10	22,5	532	535	543,3	535	569,3	558,6	545,53	-13,53	-10,53	-2,23	-10,53	+23,77	+13,07	183,0609	110,8809	4,9729	110,8809	565,0129	170,8949	1145,7034	15,1373	2,77	
11	25	595	600	593,3	586,6	606,6	611	598,75	-3,75	+1,25	-5,45	-12,15	+7,85	+12,25	14,0625	1,5625	29,7025	147,6225	61,6225	150,0625	404,6350	8,9959	1,50	
12	27,5	686,6	680	643,3	656,6	676,6	675	669,68	+16,92	+10,32	-26,38	-13,08	+6,92	+5,32	286,2864	106,5024	675,9044	171,0864	47,8864	28,3024	1315,9684	16,2232	2,42	
13	30	753	780	743,3	743,3	763,3	750	755,48	-2,48	+24,52	-12,18	-12,18	+7,82	-5,48	6,1504	601,2304	148,3524	148,3524	61,1524	30,0304	995,2684	14,1086	1,88	

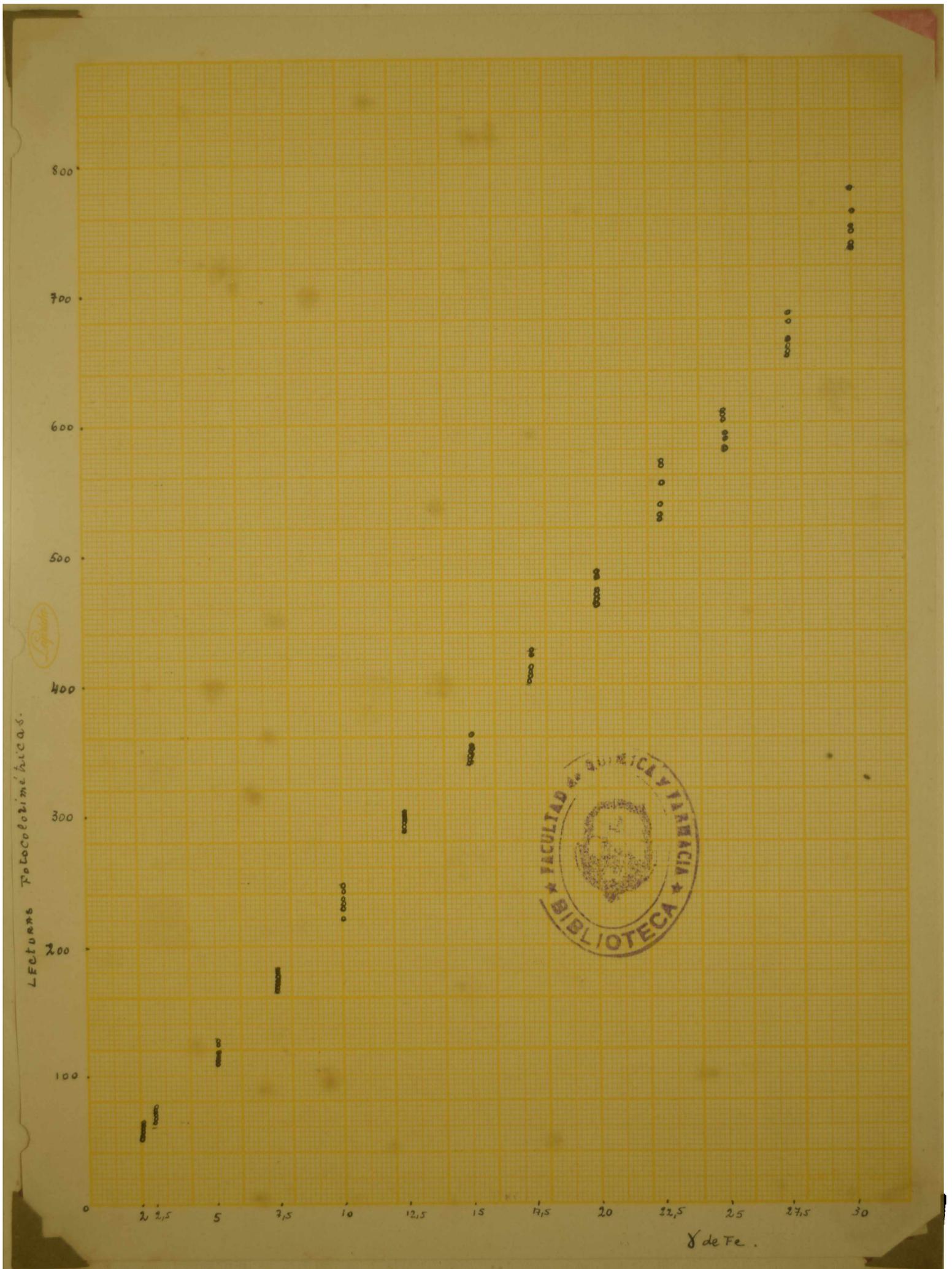
En el Cuadro nº I resumimos los resultados de todas las experiencias señaladas y destacamos también los valores promedio de las lecturas de las determinaciones efectuadas para cada concentración de hierro. Cada uno de estos valores nos proporciona un punto que puede ser gráficamente representado en un sistema de coordenadas, puntos que unidos nos darán la "curva de calibración del aparato". Los valores promedio nos permitirán obtener el "factor de calibración" respectivo.

Lo que acabamos de señalar, se puede apreciar en los gráficos nº 1 y nº 2.

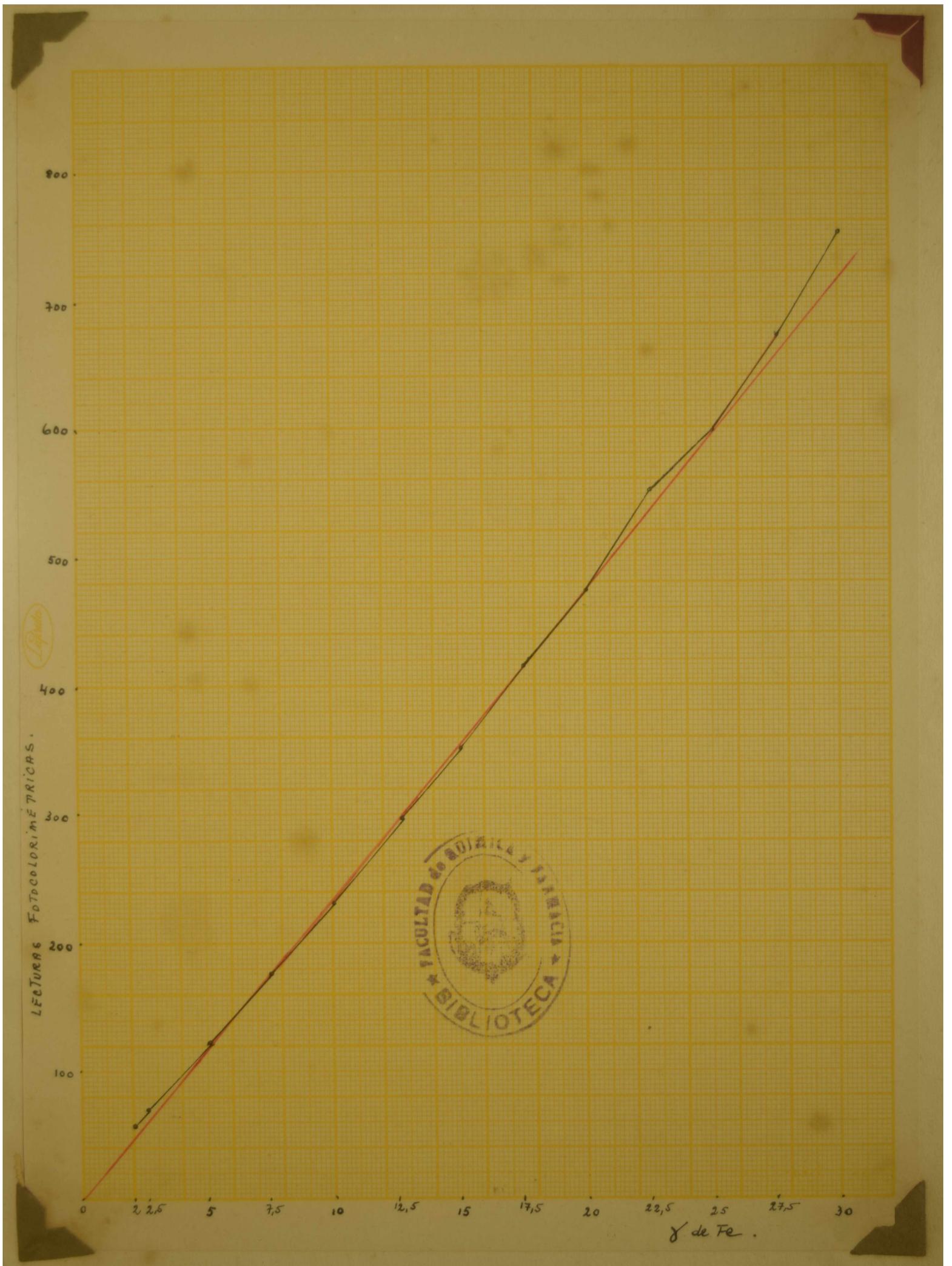
En virtud de la existencia de errores experimentales que inciden sobre la desviación de las mediciones individuales con referencia al término medio aritmético, resolvimos aplicar el cálculo estadístico, a efectos de apreciar debidamente la magnitud de los errores cometidos y tratar de aproximarnos en lo posible al valor real.

Los datos del cálculo estadístico correspondiente a las experiencias hasta ahora realizadas figuran también en el Cuadro nº I.

# Gráfico Nº 3



# Gráfica N° 2



Cálculo efectuado para hallar  
el factor medio o factor de Calibración

de Fe		T M.	Factores	Factor medio
				Factor de Calibración
2	%	59,51	0,0351 ■	
2,5	%	69,96	0,0357 ■	
5	%	121,96	0,0409	
7,5	%	176,78	0,0424	
10	%	236,21	0,0423	
12,5	%	297,08	0,0420	
15	%	354,41	0,0422	0,04217
17,5	%	416,35	0,0420	
20	%	476,35	0,0460	
22,5	%	543,53	0,0412	
25	%	598,75	0,0417	
27,5	%	669,68	0,0410	
30	%	755,48	0,0397 ■	

### Comentario

Existen determinaciones que han sido desechadas en el cálculo del factor de calibración y del trazado de la curva, dado lo elevado de los valores de los coeficientes de variación por ciento.

Estos datos han sido señalados con un asterisco.

## **Sensibilidad del método para una solución determinada de hierro.**

A continuación consignamos en los cuadros:

$\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \xi, \eta, \theta, \iota, \kappa, \lambda, \mu, \nu$ , la serie de valores obtenidos experimentalmente, con el propósito de establecer el coeficiente de variación, que nos permite definir numéricamente la desviación por ciento para cada concentración.

Obtenidos los valores de los coeficientes de variación por ciento vamos a tener una idea de la zona de concentraciones que está sujeta a menores errores y que puede ser utilizada en estas determinaciones.

Los valores elevados de los coeficientes de variación por ciento observados con soluciones muy diluidas y soluciones muy concentradas se interpretan teniendo en cuenta el carácter logarítmico de la curva.

Se eligen los valores de menor coeficiente de variación por ciento para hallar al factor de calibración.

En el gráfico nº 3, pueden apreciarse las desviaciones hacia uno y otro lado del valor 100.

Q U A R R O ~

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	2	57 58 55	56,6		-2,91	8,4681
2	2	64 64 64	64		+ 4,49	20,1601
3	2	60 58 58	58,6	59,51	-0,91	0,8281
4	2	59 60 59	59,3		-0,21	0,0441
5	2	60 59 57	58,6		-0,91	0,8281
6	2	61 59 60	60		+0,49	0,2401
$\sum L P = 357,1$  $\frac{\sum L P}{n} = 59,61$						$\sum d^2 =$ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">= 30,5686</span>
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 2,4725$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 1,66$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{2,47}{2,2} = 1,12$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 4,15$$

**Resultado:**

**59,61 ± 2,47**

CUADRO 3

Ensayo No	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	2,5	65 64 65	64,6		-,5,36	28,7386
2	2,5	69 70 71	70		+ 0,04	0,0016
3	2,5	68 69 68	68,3	69,96	-1,66	2,7556
4	2,5	74 72 72	72,6		+ 2,64	6,9696
5	2,5	72 72 70	71		+1,04	1,0816
6	2,5	73 73 75	73,3		+ 3,34	11,1556
$\sum LP = 419,8$ $\frac{\sum LP}{n} = 69,96$						$\sum d^2 =$ $= 50,7026$
$n = 6$ ; $n - 1 = 5$ ; $\sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 3,1844$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 2,14$$

**Resultado:**

$$69,96 \pm 3,18$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{3,18}{2,2} = 1,44$$

$$V = \frac{\sigma}{n - 1} \times 100 = 4,55$$

**CUADRO Y**

Ensayo Nº	Hierro en gamas	Lecturas fotocolo- rimétricos	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	5	121 119 119	119,6		-2,36	5,5696
2	5	118 118 118	118		-3,96	15,6816
3	5	122 121 121	121,3	121,96	-0,66	0,4356
4	5	124 124 123	123,3		+1,34	1,7956
5	5	125 127 125	125,6		+3,64	12,2496
6	5	123 124 125	124		+2,04	4,1616
$\sum L P = 731,8$  $\frac{\sum L P}{n} = 121,96$						$\sum d^2 =$ $= 39,8936$
$n = 6$ ; $n - 1 = 5$ ; $\sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 2,8247$$

$$K P = 1,90$$

Resultado:

$$121,96 \pm 2,82$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{2,82}{2,2} = 1,27$$

$$V = \frac{\sigma}{TM} \times 100 = 2,32$$

**C U A D R O 5**

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	7,5	173 173 174	173,6		-3,18	10,1124
2	7,5	171 170 169	170		-6,78	45,9684
3	7,5	176 177 176	176,3	176,78	-0,48	0,2304
4	7,5	179 176 180	178,3		+1,52	2,3104
5	7,5	181 179 180	180		+3,22	10,3684
6	7,5	184 181 182,5	182,5		+5,72	32,6184
$\sum L P = 1060,7$  $\frac{\sum L P}{n} = 176,78$						$\sum d^2 =$ 101,6034
$n = 6$ ; $n - 1 = 5$ ; $\sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma \cdot \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 4,5079$$

$$E P = 3,04$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{4,50}{2,2} = 2,04$$

$$V = \frac{\sigma}{TM} \times 100 = 2,54$$

Resultados

$$176,78 \pm 4,50$$

## C H A R R O e

Ensayo Nº	Hierro en gamas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	10	233 234 234	234,6		-1,61	2,5921
2	10	224 224 224	224		-12,21	149,0841
3	10	240 236 237	237,6	236,21	+ 1,39	1,9321
4	10	240 242 240	240,6		+ 4,39	19,2721
5	10	240 242 241	241		+ 4,79	22,9441
6	10	239 240 239,5	239,5		+ 3,29	10,8241
$\sum L P = 1417,3$ $\frac{\sum L P}{n} = 236,21$						$\sum d^2 =$ $= 206,6486$
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 6,4288$$

$$E P = 4,33$$

$$C_n = \frac{G}{\sqrt{n - 1}} = \frac{6,42}{2,2} = 2,9$$

$$V = \frac{C}{TM} \times 100 = 2,72$$

**Resultado:**

$$236,21 \pm 6,42$$

CUADRO 5

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	12,5	299 298 299	298,6		+1,52	2,3104
2	12,5	289 290 291	290		-7,08	50,1264
3	12,5	300 298 296	298	297,08	+1,08	1,1664
4	12,5	296 298 298	297,3		+0,22	0,0484
5	12,5	305 300 302	302,3		+ 5,22	27,2484
6	12,5	295 296 298	296,3		-0,78	0,6084
$\sum L P = 1782,5$  $\frac{\sum L P}{n} = 297,08$						$\sum d^2 =$ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">81,5084</span>
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n-1}} = 4,0385$$

$$E P = 2,72$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \frac{4,03}{2,2} = 1,82$$

$$V. \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 1,02$$

Resultado:

$$297,08 \pm 4,03$$

C U A D R O 7

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	15	356 356 350	354		-0,41	0,1681
2	15	351 352 353	352		-2,41	5,8081
3	15	348 348 345	346	354,41	-8,41	70,7281
4	15	363 362 365	363,3		+8,89	79,0321
5	15	360 356 354	356,6		+2,19	4,7961
6	15	355 354 355	354,6		+0,19	0,0361
$\sum L P = 2126,5$ $\frac{\sum L P}{n} = 254,41$						$\sum d^2 =$ $= 160,5686$
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 5,6668$$

$$E P = 3,82$$

$$G_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{5,66}{2,2} = 2,57$$

$$V = \frac{\sigma}{TM} \times 100 = 1,59$$

**Resultado:**

$$354,41 \pm 5,66$$

**CUADRO 0**

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	17,5	410 406 406	406,6		-9,65	93,1225
2	17,5	412 412 412	412		-4,35	18,9225
3	17,5	425 415 410	416,6	416,35	+ 0,25	0,0625
4	17,5	425 415 410	416,6		+ 0,25	0,0625
5	17,5	428 423 425	425,3		+8,95	80,1025
6	17,5	420 422 421	421		+ 4,65	21,6225
$\sum L P = 2498,1$  $\frac{\sum L P}{n} = 416,35$						$\sum d^2 =$ $= 213,8950$
$n = 6$ ; $n - 1 = 5$ ; $\sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 6,5045$$

$$E P = 4,38$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{6,5}{2,2} = 2,95$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 1,56$$

**Resultado:**

$$416,35 \pm 6,5$$

CUADRO 1

Ensayo No	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	20	490 480 480	483,6		+ 7,44	55,3536
2	20	485 485 485	485		+ 8,84	78,1456
3	20	460 465 465	461,6	476,16	-14,56	211,9936
4	20	470 470 475	471,6		-4,56	20,7936
5	20	480 473 475	476,6		+ 0,44	0,1936
6	20	480 480 476	478,6		+ 2,44	5,9536
						∑ d <sup>2</sup> = = 372,4336
		∑ L P. 2857				
		$\frac{\sum L P}{n} = 476,16$				
n = 6 ; n - 1 = 5 ; $\sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 8,6305$$

$$E P = 5,82$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{8,63}{2,2} = 3,92$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 1,81$$

Resultado:

$$476,16 \pm 8,63$$

## C H A R R O x

Ensayo Nº	Hierro en gamas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	22,5	532 530 534	532		-13,53	183,0600
2	22,5	535 535 535	535		-10,53	110,8809
3	22,5	540 540 545	543,3	545,53	-2,23	4,9729
4	22,5	540 530 535	535		-10,53	110,8809
5	22,5	566 552 570	569,3		+ 23,77	565,0129
6	22,5	560 558 558	558,6		+ 13,07	170,8949
$\sum L P = 3273,2$  $\frac{\sum L P}{n} = 545,53$						$\sum d^2 =$ <u>1145,7034</u>
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 15,1373$$

$$E P = 10,21$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{15,13}{2,2} = 6,87$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 2,77$$

**Resultado:**

$$545,53 \pm 15,13$$

**CUADRO 1**

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedio	T M	d	d <sup>2</sup>
1	25	590 600 595	595		-3,75	14,0625
2	25	599 600 602	600		+1,25	1,5625
3	25	590 600 590	593,3	598,75	-5,45	29,7025
4	25	590 580 590	586,6		-12,15	147,6225
5	25	610 600 608	606,6		+ 7,85	61,6225
6	25	615 610 608	611		- 12,25	150,0625
				$\sum L P = 3592,5$  $\frac{\sum L P}{n} = 598,75$		$\sum d^2 =$ $= 404,6350$
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 8,9959$$

$$E P = 6,06$$

**Resultado:**

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{8,99}{2,2} = 4,08$$

$$598,75 \pm 8,99$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 1,50$$

## CAPÍTULO 4

Ensayo Nº	Hierro en gramas	Lecturas fotocoloq rimétricas	Lecturas Promedios	T.M	d	d <sup>2</sup>
1	27,5	685 698 680	686,6		+ 16,92	286,2864
2	27,5	680 680 680	680		+ 10,32	106,5024
3	27,5	630 650 650	643,3	669,68	-26,38	675,9044
4	27,5	670 650 650	656,6		-13,08	171,0864
5 5	27,5	690 670 660	676,6		+ 6,92	47,8864
6	27,5	680 670 675	675		+ 5,32	28,3024
$\sum d^2 =$ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">= 1315,9684</span>						
			$\sum L P = 4018,1$			
			$\frac{\sum L P}{n} = 669,68$			
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 16,2232$$

$$E P = 10,94$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{16,22}{2,2}$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 2,42$$

Resultado:

$$669,68 \pm 16,22$$

## CUADRO λ

Ensayo Nº	Hierro en gamas	Lecturas fotocolo- rimétricas	Lecturas Promedios	T M	d	d <sup>2</sup>
1	30	750 760 750	753		-2,48	6,1504
2	30	780 780 780	780		+24,52	601,2304
3	30	740 750 740	743,3	755,48	-12,18	148,3524
4	30	740 750 740	743,3		-12,18	148,3524
5	30	780 750 760	763,3		+7,82	61,1524
6	30	760 740 750	750		-5,48	30,0304
				$\sum L P = 4532,9$		$\sum d^2 =$ 995,2684
				$\frac{\sum L P}{n} = 755,48$		
$n = 6 \quad ; \quad n - 1 = 5 \quad ; \quad \sqrt{n - 1} = 2,2$						

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n - 1}} = 14,1036$$

$$R P = 9,51$$

**Resultado:**

$$755,48 \pm 14,10$$

$$\sigma_n = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{14,10}{2,2} = 6,4$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = 1,88$$

**CUADRO N° II**

**Resumen de los Ensayos anteriores**

Ensayo N°	T M.	$\sigma$	E P.	$\sigma_A$	V	$\sqrt{n-1}$	Resultado
1	59,51	2,4725	1,66	1,12	4,15	2,2	59,61 ± 2,47
2	69,06	3,1814	2,14	1,44	4,55	2,2	69,96 ± 3,18
3	121,96	2,8347	1,90	1,27	2,32	2,2	121,96 ± 2,82
4	176,78	4,5079	3,04	2,04	2,54	2,2	176,73 ± 4,50
5	236,21	6,4288	4,33	2,90	2,72	2,2	236,21 ± 6,42
6	297,08	4,0385	2,72	1,82	1,02	2,2	297,08 ± 4,03
7	354,41	5,6668	3,83	2,57	1,59	2,2	354,41 ± 5,66
8	416,35	6,5045	4,38	2,95	1,53	2,2	416,35 ± 6,50
9	476,16	8,6305	5,82	3,92	1,81	2,2	476,16 ± 8,63
10	545,53	15,1373	10,21	6,87	2,77	2,2	545,53 ± 15,13
11	398,75	8,9959	6,06	4,08	1,50	2,2	398,75 ± 8,99
12	669,68	16,2232	10,94	7,37	2,42	2,2	669,68 ± 16,22
13	755,48	14,1086	9,51	6,40	1,83	2,2	755,48 ± 14,10

# Gráfico Nº 3



## Sensibilidad del método

### Ensayos realizados con un suero

Una vez que se ha obtenido la curva de calibración del fotocolorímetro de Klett-Summerson con la solución tipo de hierro, estamos en condiciones de aplicar el método de Gil, empleando el suero, cuya cantidad de hierro no hemos nos proponemos valorar. Hemos establecido también, en que zona de las lecturas potenciométricas de dicho aparato podemos trabajar y por lo tanto para ajustar muestras determinaciones dentro de dicha zona como las cantidades de hierro que hay en el suero humano y equino son pequeñas, hemos introducido una ligera modificación al método de Gil: en vez de trabajar con 3 ó 6 ml de suero como indica la técnica, hemos trabajado con cantidades que oscilan entre 7 y 8 ml de suero, en esta forma el volumen del líquido obtenido por desproteinización fué de 8 ml.

Para llegar a determinar los errores imputables al método, al aparato y al experimentador, trabajando con un suero, para una misma concentración de hierro; fué necesario tener una gran cantidad de suero para realizar un número de determinaciones suficientes como para poder aplicar el cálculo estadístico.

Si para cada valoración necesitamos un volumen de suero de 8 ml, para una serie de determinaciones las exigencias aumentaron de tal modo que resultó difícil conseguir material humano. Surgió entonces la idea de utilizar suero de caballo, que conseguimos fácilmente gracias a la gentileza del señor Ingeniero Grattoui, Director del Jardín Zoológico de La Plata, a quien agradecemos su atención.

Previo al faenamiento de los caballos destinados a la alimentación de los animales del zoológico practicamos

la sangre necesaria para obtener las muestras que requirió muestra experimentación.

Obtenido el suero, realizamos enseguida las determinaciones del hierro no hemínico.

Haciendo las lecturas con el fotocolorímetro tenemos para cada determinación un número (lectura promedio), que multiplicado por el factor de calibración (0,04217) y por 100, todo dividido por la cantidad de suero que entre en la reacción (4 ml) nos permite saber la cantidad de hierro en gamas por 100 ml de suero.

$$\frac{\text{Lectura promedio} \times 0,04217 \times 100}{4} = \gamma \text{ de Fe/100}$$

## Experiencia N° 1

### Determinaciones con un mismo suero

<u>N° Ensayo</u>	<u>Lecturas fotocolorimétricas</u>	<u>Lectura Promedio</u>
1	110 - 110 - 109	109,6
2	106 - 108 - 107	107
3	98 - 100 - 98	98,6
4	98 - 95 - 98	97
5	95 - 98 - 98	97
6	102 - 100 - 102	101,3
7	106 - 106 - 106	106
8	102 - 101 - 102	101,6
9	96 - 95 - 96	95,6
10	100 - 101 - 100	100,3
11	105 - 104 - 105	104,6
12	98 - 100 - 98	98,6
13	103 - 103 - 103	103
14	96 - 98 - 97	97
15	109 - 108 - 110	109
16	98 - 100 - 100	99,3
17	100 - 98 - 98	98,6
18	97 - 98 - 99	98
19	103 - 103 - 103	103
20	112 - 110 - 112	111,3
21	99 - 98 - 99	98,6
22	101 - 102 - 101	101,3

**CUADRO Nº 1**

Determinaciones con un mismo suero

Ensayo Nº	Procedio lec- turas fotocolorimétricas	Y $\bar{X}$ ml suero	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	109,6	115,54	107,02	+8,72	76,0384
2	107	112,8		+5,78	33,4064
3	98,6	103,94		-3,08	9,4864
4	97	102,28		-4,76	22,6576
5	97	102,26		-4,76	22,6576
6	101,3	106,79		-0,23	0,0529
7	106	115,75		+4,73	22,3729
8	101,6	107,11		+0,09	0,0081
9	95,6	100,78		-6,34	38,9376
10	100,3	105,74		-1,28	1,6384
11	104,6	110,02		+3	9
12	98,6	102,94		-4,08	16,6464
13	103	108,78		+1,74	3,0276
14	97	102,23		-4,76	22,6576
15	100	114,91		+7,83	62,2521
16	99,3	104,63		-2,34	5,4756
17	98,6	102,94		-4,08	16,6464
18	96	103,31		-3,71	13,7641
19	103	103,76		+1,74	3,0276
20	111,3	117,33		+10,31	106,2971
21	98,6	102,94		-4,08	16,6464
22	101,3	106,79		-0,23	0,0529
		$\sum Y Fe = 2354,61$			$\sum d^2 = 502,7491$
		$\frac{\sum Y Fe}{n} = 107,02$			
n 22 ;		n - 1 21 ;		$\sqrt{n - 1} = 4,58$	

$$\sigma \cdot \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}} = 4,9$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 3,30$$

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}} = \frac{4,9}{21} = 1,70$$

$$V = \frac{\sigma}{TM} \times 100 = 4,57$$

Resultado:

$$107,02 \pm 4,9$$

**Experiencia N° 2**  
Determinaciones con un mismo suero

<b>N° Ensayo</b>	<b>Lecturas fotocolorimétricas</b>	<b>Lectura Promedio</b>
1	132, - 133 - 132	132,3
2	132 - 131 - 132	131,6
3	115 - 115 - 115	115
4	124 - 125 - 125	124,6
5	126 - 125 - 125	125,3
6	122 - 121 - 122	121,6
7	120 - 120 - 120	120
8	114 - 115 - 114	114,3
9	125 - 124 - 125	124,3
10	132 - 134 - 132	132,6
11	119 - 120 - 119	119,3
12	118 - 119 - 120	119
13	116 - 115 - 115	115,3
14	114 - 114 - 114	114
15	122 - 123 - 121	121,6
16	119 - 120 - 119	119,3
17	126 - 125 - 125	125,3
18	126 - 126 - 128	126,6
19	119 - 118 - 119	118,6
20	118 - 120 - 120	119,3
21	122 - 122 - 122	122
22	123 - 121 - 121	121,6

**CUADRO Nº 2**

**Determinaciones con un mismo suero**

Ensayo Nº	Promedio lecturas fotocolorimétricas	$\gamma_{Fe}$ $\Sigma$ ml suero	T M.	d	$d^2$	
1	132,3	139,47		+10,89	118,59	
2	131,6	139,73		+10,16	103,02	
3	115	121,23		-7,35	54,02	
4	124,6	131,35		+2,97	8,82	
5	125,3	132,09		+3,51	12,32	
6	121,6	128,19		-0,39	0,15	
7	120	126,50		-2,08	4,32	
8	114,3	120,49		-8,09	65,44	
9	124,3	131,03		+2,45	6,00	
10	132,6	139,78		+11,20	125,44	
11	119,3	125,76	128,53	-2,32	5,33	
12	119	125,44		-3,14	9,85	
13	115,3	121,50		-7,08	50,12	
14	114	120,17		-8,41	70,72	
15	121,6	128,19		-0,39	0,15	
16	119,3	125,76		-2,32	5,33	
17	125,3	132,09		+3,51	12,32	
18	126,6	133,46		+4,68	23,81	
19	118,6	125,02		-3,56	12,67	
20	119,3	125,76		-2,82	7,95	
21	122	128,61		+0,03	0,00	
22	121,6	128,19		-0,39	0,15	
		$\Sigma \gamma_{Fe} = 2829,81$			$\Sigma d^2 = 696,62$	
		$\frac{\Sigma \gamma_{Fe}}{n} = 128,53$				
$n = 22$		$n - 1 = 21$		$\sqrt{n - 1} = 4,58$		

$$\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{n-1}} = 5,75$$

$$E P = 0,6746 \times \sigma = 3,87$$

$$\sigma_{TM} = \frac{\sigma}{n-1} = \frac{5,75}{21} = 1,25$$

$$V = \frac{\sigma}{TM} \times 100 = 4,47$$

**Resultado:**

$$128,53 \pm 5,75$$

## CUADRO Nº III

### Resumen de las Experiencias 1 y 2

Exp.	T M.	$\sigma$	E P	$\sigma_m$	V	$\sqrt{n - 1}$	Resultado
Nº1	107,02	4,9	3,30	1,70	4,57	4,58	107,02 $\pm$ 4,9
Nº2	128,58	6,76	3,87	1,26	4,47	4,58	128,58 $\pm$ 6,76

### Comentario

Al aplicar el cálculo estadístico a cada uno de los dos grupos de experiencias realizadas con sueros diferentes (cada experiencia con suero de un caballo), obtuvimos los siguientes resultados:

En ambas experiencias los términos medios ( $\bar{M}$ ) son distintos: 107,03 y 128,58; los valores de la desviación standard ( $\sigma$ ), son proporcionales a éstos términos medios, lo que se pone de manifiesto en los coeficientes de variación por ciento ( $V$ ), que son practicamente iguales, de acuerdo con lo que trasunta en las cifras del cuadro n° III.

Además en estas experiencias los coeficientes de variación por ciento son elevados si los relacionamos a los datos obtenidos con las soluciones de hierro, fenómeno explicable, dado que la desproteínización de los sueros es un paso añadido a la técnica, que interfiere en los resultados finales.

Lo que acabamos de explicar se puede apreciar con la comparación de los cuadros n° II y III.

## **Valoración del hierro no hemínico en suero de mujeres grávidas y no grávidas.**

El propósito del presente trabajo fué realizar el estudio de las oscilaciones del hierro no hemínico de las mujeres en el transcurso del embarazo. Para ello realizamos determinaciones de dicho elemento en sueros de mujeres en distintos períodos de la gestación.

Nuestra decisión surgió de la lectura del trabajo realizado por los doctores: Palacios Costa, Cioe e Iraysoz (29). El citado estudio trata del metabolismo del hierro no hemínico en la mujer, durante el transcurso del embarazo, en el parto y en el puerperio.

A raíz de las investigaciones de H. Albers (30), quien trabajó sobre el tema, y utilizó el método propuesto por Heilmeyer y Plötner (loc.cit.), cuyo reactivo indicador, el hidrato de o-fenantrolina, fué imposible de obtener por los autores arriba citados, resolvieron para cumplir tal fin, emplear entonces un método de valoración simple, preciso y que no presentaba inconvenientes por los reactivos que exige: el método de Gil (loc.cit.) Hicieron estos autores determinaciones en sueros de mujeres no embarazadas y embarazadas a término, hallando para las primeras valores que oscilaron entre 25 y 80 gamas de hierro por 100 ml de suero; y para las segundas, las cifras que obtuvieron fueron siempre superiores a 100 gamas. Datos que les permitieron emitir las siguientes opiniones:

"Hasta ahora podemos afirmar con certeza que cifras por encima de 105 gamas por ciento corresponden a embarazadas y cifras por debajo de 80 gamas por ciento corresponden a no embarazadas, o como veremos enseguida a embarazadas con feto muerto" sic.

Aclararon entonces que para un embarazo de tres meses, que había sido diagnosticado clínicamente, al hacer

la determinación del hierro no hemínico, obtuvieron un valor bajo, es decir de 35 gamas de hierro por 100 ml de suero.

Comprobaron al día siguiente que la enferma en cuestión, había expulsado en esa fecha un feto de tres meses.

Queriendo hacer más amplio su estudio, realizaron valoraciones de hierro en tres mujeres con amenorrea de 15, 20 y 30 días, obteniendo valores de 188, 131 y 142 gamas de hierro/ 100ml, respectivamente.

Presentaron también cinco casos de enfermas púrpuras de algunas horas, logrando en todos ellos, cifras por debajo de 80 gamas/ 100 ml, y llegaron a establecer con esto, que la cantidad de hierro presente en el suero sanguíneo, sufre una caída brusca dentro de las cuatro horas que siguen al parto, y supusieron que es lo mismo que debe suceder después de la muerte fetal intrauterina.

Varios de los casos que expusieron fueron controlados con la reacción biológica de Galli Mainini (31), efectuando las reacciones en forma paralela.

Por el escaso número de casos presentados hasta ahora, el trabajo no trasunta, que se haya establecido la técnica como diagnóstico precoz del embarazo, puesto que no figuran en él, valores experimentales que certifiquen tal afirmación.

En el año 1942, M. Renouar (32), destaca, al estudiar las variaciones del hierro sérico en mujeres embarazadas, parturientas y púrpuras, la siguiente conclusión: durante el embarazo, los resultados fueron variables; en la segunda mitad, la cantidad de hierro del suero disminuye; para decaer totalmente después del parto, como consecuencia de la interrupción de la circulación a través de la placenta.

Por otra parte Hoch H.; Marrack J.P.; Ruse R.H. y Hoch R. (33), sostienen que durante el embarazo la concentración media del hierro sérico no cambia, y tampoco guarda relación con la concentración del hierro de la hemoglobina.

Fueron en consecuencia estos resultados contradictorios, los que nos incitaron a tratar de verificar la existencia o no, de variaciones en el tenor de hierro no hemínico, en las mujeres durante el embarazo.

Para cumplir tal propósito comenzamos por determinar el hierro sérico en mujeres adultas ciertamente no embarazadas y en algunas, obteniendo el valor promedio de la cantidad de hierro no hemínico en un total de 74 mujeres en las condiciones expresadas.

Todos los valores obtenidos están consignados en el cuadro n° 3.

Valores del Hierro no Hemínico en suero de mujeres no grávidas

Ensayo Nº	Promedio Lec- turas fotocó- lorimétricas	µ Fe/100 ml	T.M.	d	d <sup>2</sup>
1	142,2	150,33		+34,96	1.366,0416
2	109,3	116,28		+1,86	3,5344
3	85,0	90,66		-21,71	471,3241
4	100,0	105,42		-7,96	63,2025
5	108,3	114,45		+1,8	1,6644
6	121,0	127,56		+14,19	201,3561
7	122,0	128,61		+15,24	232,2576
8	98,6	103,94		-9,43	88,9249
9	109,6	116,54		+2,17	4,7089
10	139,0	146,54		+33,17	1,100,2489
11	97,3	102,57		-10,80	116,6400
12	129,3	136,31		+22,94	596,2436
13	161,6	174,90		+61,53	3.785,9409
14	96,6	101,84		-11,53	132,9409
15	100,0	105,42		-7,96	63,2025
16	84,0	88,50		-24,87	618,5169
17	77,0	81,17	113,37	-32,20	1,036,8400
18	102,0	107,50		-5,87	34,4569
19	75,1	79,17		-34,20	1.169,6400
20	129,1	135,99		+22,62	511,4644
21	59,3	62,51		-50,66	2,586,7396
22	96,0	101,20		-12,17	148,1089
23	114,0	120,18		+6,81	46,3761
24	120,0	128,51		+12,84	164,8656
25	140,6	148,22		+34,85	1.214,5225
26	95,3	100,47		-12,90	166,4100
27	92,0	96,99		-16,38	268,3044
28	111,3	117,33		+3,96	15,6816
29	134,0	141,26		+27,89	777,8221
30	99,0	104,37		-9,00	81,0000
31	110,6	116,60		+3,23	10,4329
32	82,0	86,46		-26,92	724,6864
33	111,3	117,33		+3,96	15,6816
34	98,6	103,94		-9,43	88,9249
35	110,0	115,96		+2,59	6,7081
36	138,6	146,11		+32,74	1.072,9076
37	114,0	120,18		+6,81	46,3761
38	101,3	106,79		-6,58	43,3964
39	95,0	100,15		-13,22	175,7684
40	104,3	115,22		+1,85	3,4225
41	98,0	103,06		-10,31	106,2961
42	114,0	120,18		+6,81	46,3761
43	122,6	129,20		+15,83	250,5889
44	71,0	74,77		-38,60	1.489,9600
45	99,0	104,37		-9,00	81,0000
46	110,0	115,96		+2,59	6,7081
47	147,0	154,97		+41,60	1.730,5600
48	84,3	89,41		-13,96	194,8816
49	101,3	106,79		-6,58	43,2964
50	101,3	106,79		-6,58	43,2964
51	104,3	109,96		-3,42	11,6964
52	86,6	91,29		-22,08	487,5264
53	106,6	112,38		-0,84	0,9801
54	127,3	134,20		+20,83	433,8889
55	135,3	142,64		+29,27	856,7329
56	93,0	98,04		-15,33	239,0089
57	85,0	89,61		-23,76	564,5376
58	114,6	120,32		+7,44	55,3536
59	85,0	89,61		-23,76	564,5376
60	103,6	104,22		-4,15	17,2225
61	126,3	133,15		+19,78	391,2484
62	150,0	158,13		+44,76	2.003,4576
63	94,3	99,41		-13,96	194,8816
64	100,6	106,05		-7,32	53,5824
65	100,3	105,76		-7,61	57,9121
66	109,6	115,54	113,37	+2,17	4,7089
67	115,6	121,87		+8,50	72,2500
68	102,3	107,84		-6,53	30,5809
69	102,3	115,22		+1,85	3,4225
70	100,6	106,05		-7,32	53,5824
71	87,6	92,35		-21,02	441,8404
72	122,3	128,93		+15,56	242,1136
73	115,3	121,55		+8,18	66,9124
74	100,0	105,42		-7,96	63,2025

$$\sum d^2 = 30089,8314$$

$$n - 1 = 73$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{30089,8314}{73}} = 20,30$$

Resultado:

$$113,37 \pm 20,30$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 13,69$$

$$V = \frac{\sigma}{T.M.} \times 100 = \frac{20,30}{113,37} \times 100 = 17,90$$

$$\sigma_{M.} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{20,30}{\sqrt{74}} = 2,36$$

## Comentarios

El término medio hallado (TM): 113,37  $\gamma$  de hierro/100 ml de suero para mujeres no embarazadas, está dentro del margen de valores fisiológicos obtenidos por Gil, autor del método que hemos elegido (92 a 110  $\gamma$ /100 ml).

La desviación "standard" muy elevada ( $\sigma = 20,30$ ) nos está indicando una gran dispersión de los valores individuales, lo que se aprecia claramente por el elevado coeficiente de variación por ciento (v) que es de 17,90.

Si comparamos los valores hallados en esta serie, en la que se ha trabajado con distintos sueros, con los datos obtenidos con un solo suero, expresados en los cuadros III y 3, notamos que la dispersión de los valores individuales es mayor en la experiencia nº 3; con una desviación específica de 20,30 y un coeficiente de variación por ciento de 17,90. Esto es debido a las variaciones fisiológicas del tenor de hierro sérico.

Continuando luego con muestras experiencias, hemos estudiado las variaciones del mismo catión en mujeres embarazadas, presentando en el cuadro n° 4, los resultados correspondientes a 53 casos.

Las pacientes en cuestión no fueron elegidas, sino simplemente aprovechamos en algunos casos la circunstancia de poder hacer las determinaciones de hierro en suero de embarazadas a término que se internaron en el "Instituto de Maternidad de La Plata", otras veces en mujeres con distintos tiempos de amenorrea, efectuando siempre simultáneamente la reacción biológica de Galli Mainini.

A continuación se expresan los resultados logrados en esta nueva experiencia.

CUADRO Nº 4

Valores del Hierro no Ferrúico en suero de mujeres grávidas

Ensayo Nº	Promedio Lec- turas fotocolorimétricas	µg/ml	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	136	142,30	118,95	+23,35	536,9225
2	125	131,78		+12,83	164,6089
3	106	110,69		-8,26	68,2276
4	118,6	125,03		+6,08	36,9664
5	152,6	160,87		+41,92	1.757,2864
6	86,6	92,29		-27,66	765,0756
7	115,0	121,23		+2,28	5,1984
8	102,0	107,53		-11,42	130,6164
9	100,0	105,42		-13,53	183,0609
10	114,3	128,53		+9,58	91,7764
11	103,0	108,58		-10,37	107,5369
12	119,3	125,77		+6,82	46,5124
13	74,3	78,33		-40,62	1.649,9844
14	111,3	117,33		-1,62	2,6244
15	165,0	173,70		+54,75	2.997,5625
16	103,3	108,90		-10,06	101,0025
17	112,6	118,70		-0,25	0,0625
18	92,6	97,62		-21,33	454,9689
19	104,3	102,67		+43,72	1.911,4384
20	80,0	84,36		-34,50	1.196,4681
21	85,3	89,92		-25,03	626,7409
22	96,6	101,84		-17,11	292,7521
23	121,0	127,56		+8,61	74,1321
24	87,3	92,03		-26,92	724,6864
25	101,3	107,29		-11,66	135,9556
26	97,3	102,57		-16,38	268,3044
27	89,3	94,14		-24,81	615,5361
28	136,3	143,69		+24,74	612,0676
29	95,3	100,47		-18,48	341,5104
30	126,3	133,15		+14,20	201,6400
31	110,6	116,60		-2,35	5,5225
32	111,3	117,33		-1,62	2,6244
33	135,0	142,32		+23,37	546,1569
34	101,6	107,11		-11,84	140,1856
35	129,6	136,63		+17,68	312,5824
36	115,0	121,23		+2,28	5,1984
37	123,0	129,67		+10,72	114,9184
38	94,0	99,09		-19,80	392,4196
39	132,3	139,47		+20,52	421,0704
40	106,3	112,06		-6,89	47,4721
41	98,6	102,05		-16,90	285,6100
42	117,0	123,34		+4,39	19,2721
43	139,0	146,54		+27,59	761,2081
44	104,6	110,27		-3,63	13,1769
45	152,0	160,57		+47,62	2.267,6644
46	137,0	144,43		+25,48	649,2304
47	107,0	112,80		-6,15	37,8225
48	81,3	86,25		-22,70	515,2900
49	109,3	115,22		-3,73	13,9129
50	114,6	120,81		+1,66	2,7556
51	92,6	97,62		-21,33	454,9689
52	85,6	90,24		-38,71	1.500,2641
53	155,3	163,72		+44,77	1.995,8329
54					

$$\sum d^2 = 26210,3051$$

$$n - 1 = 53$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{26210,3051}{53}} = 22,45$$

$$E P = 0,0745 \times \sigma = 1,64$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = \frac{22,45}{118,95} \times 100 = 18,87 \%$$

Resultado:

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{22,45}{\sqrt{53}} = \frac{22,45}{7,28} = 3,08$$

$$118,95 \pm 22,45$$

Relación significativa entre las experiencias Nº3

7 N=4

$$D = \frac{T M_4 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_4)^2 + (\sigma_3)^2}} = 0,18$$

Observación: la diferencia no es significativa

### Comentario

Para el caso de las mujeres embarazadas, el término medio aritmético de los valores individuales, fué  $TM = 118,08$  y de hierro/ 100 ml de suero, valor que cae dentro de la zona de influencia de los términos medios posibles de las no embarazadas.

La desviación "standard" de los valores individuales es elevado:  $\sigma = 22,48$ .

El coeficiente de variación por ciento, (V), es muy parecido al obtenido en las experiencias relativas a no embarazadas, es decir: 18,87.

El coeficiente de significación D, de las variaciones que apreciamos entre embarazadas y no embarazadas es muy pequeño 0,18, debido a que las curvas normales de distribución para estas dos series practicamente se superponen.

Este valor hallado, tan alejado de tres, nos demuestra que la diferencia no es significativa, es decir que no existe un aumento de hierro que permita aplicar esta reacción en el diagnóstico del embarazo.

A efectos de destacar bien la modificación del tenor de hierro del suero, con el propósito de diagnosticar precozmente el embarazo, en los cuadros n° 5, 6, y 7 consignamos los valores que corresponden a embarazos recientes, es decir hasta de dos meses, de tres meses y de cuatro meses y de todos ellos los valores promedios que hemos hallado.

Aplicando en cada uno de estos grupos de casos experimentales el cálculo estadístico llegamos a obtener los datos que van involucrados en los respectivos cuadros.

**C U A D R O   N º 5**

**Hierro en hemínico en mujeres grávidas**

**Embarazo hasta de 2 meses**

Ensayo Nº	Promedio Lec- turas fotocolorimétricas	Y <sub>g</sub> m <sub>g</sub> / 100 ml	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	100,0	105,42	123,12	-17,70	313,2900
2	103,0	106,58		-14,54	211,4616
3	111,3	117,33		-5,79	33,5241
4	165,0	173,70		+50,53	2558,3364
5	112,6	118,70		-4,42	19,5364
6	85,3	89,92		-33,20	1.102,2400
7	101,3	107,29		-15,83	250,6839
8	110,6	116,60		-6,52	42,6104
9	113,3	117,33		-5,79	33,5241
10	135,0	142,32		+19,20	368,6400
11	129,6	136,63		+13,51	182,5201
12	115,0	121,23		-1,89	3,5721
13	123,0	129,67		+6,55	42,9025
14	132,3	139,47		+16,35	267,3225
15	98,6	102,06		-21,07	443,9449
16	117,0	123,34		+0,22	0,0484
17	129,0	146,54		+23,42	548,4964
18	153,0	166,57		+43,45	1887,9025
19	137,0	144,43		+21,31	454,1161
20	91,3	96,25		-26,87	721,9969
21	109,3	115,22		-7,90	62,4100
22	85,6	90,24		-32,83	1081,0944

$$\Sigma d^2 = 10629,9287$$

$$n - 1 = 21$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{10629,9287}{21}} = \sqrt{506,1870}$$

$$\sigma = 22,49$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 15,16$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = \frac{22,49}{123,12} \times 100 = 18,26 \%$$

$$GM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{22,49}{\sqrt{22}} = 4,68$$

**Resultado:**

$$132,12 \pm 22,49$$

**Relación significativa**

Con respecto a los datos de mujeres no embarazadas: Cuadro Nº 3

$$D = \frac{T M_5 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_5)^2 + (\sigma_3)^2}} = 0,32$$

## Comentario

Agrupamos en el cuadro n° 5 los valores individuales correspondientes a mujeres que se encontraban en el comienzo del embarazo, es decir durante los dos primeros meses, obteniendo un término medio de 123,12% de hierro por 100 ml. de suero.

El término medio de los tenores de hierro no hemático de mujeres en este período del embarazo, es ligeramente superior al término medio correspondiente a las no embarazadas, pero la dispersión de los valores individuales es grande, hecho que se pone de manifiesto por el elevado valor de sigma, que hace que las curvas se superpongan en una gran zona, y en consecuencia este pequeño aumento carece de significación para el diagnóstico precoz del embarazo.

Esto se demuestra por la pequeña diferencia significativa que le corresponde: 0,22.

**C H A R R O      N<sup>o</sup> 2**

**Hierro en hemínico en mujeres grávidas**

**Embarazo hasta de 3 meses**

Ensayo E <sup>o</sup>	Promedio Lec- turas fotoco- lcrimétricas	Y <sub>i</sub> % ml suero	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	115	121,23	122,49	-1,26	1,5376
2	100	106,42		-17,09	292,0631
3	103	108,58		-13,91	193,4881
4	111,3	117,33		-5,16	26,6256
5	165	173,70		51,21	2622,4641
6	112,6	113,70		-3,79	14,9641
7	85,3	89,92		-32,57	1060,8049
8	101,3	107,29		-15,20	231,0400
9	136,3	143,69		+21,20	449,4400
10	110,6	116,60		-5,89	34,6921
11	111,3	117,33		-5,16	26,6256
12	135,0	142,32		+19,83	393,2289
13	101,6	107,11		-15,38	236,5444
14	129,6	136,63		+14,14	199,9396
15	115	121,23		-1,26	1,5876
16	123	129,67		+7,18	51,5524
17	94	99,09		-23,40	547,5600
18	132,3	139,47		+16,98	288,3204
19	90,6	102,05		-20,44	417,7936
20	117	123,34		+0,85	0,7225
21	139	146,54		+24,05	578,4025
22	153	166,67		+44,08	1943,0664
23	137	144,43		+21,94	481,3636
24	107	112,30		-9,69	93,8961
25	91,3	96,25		-26,24	688,5376
26	109,3	116,22		-7,27	52,8529
27	114,6	120,81		-1,68	2,8224
28	92,6	97,62		-24,57	613,5169
29	85,6	90,24		-32,25	1040,0625
30	155,3	163,72		+41,23	1699,9129

$$\Sigma d^2 = 14290,4634$$

$$n - 1 = 29$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n - 1}} = \frac{14290,4634}{29} = \sqrt{492,7746} = 22,19$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 14,96$$

$$V = \frac{\sigma}{T M.} \times 100 = \frac{22,19}{122,49} \times 100 = 18,11 \%$$

$$\sigma_M = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{22,19}{\sqrt{30}} = \frac{22,19}{5,47} = 4,05$$

Resultado:

$$122,49 \pm 22,19$$

Relación significativa:

$$D = \frac{T M_6 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_6)^2 + (\sigma_3)^2}} = 0,30$$

Observación: la diferencia no es significativa

### Comentario

El análisis de las cifras presentadas en el cuadro nº 6, nos permite emitir comentarios y conclusiones análogas a las formadas para la serie de experiencias realizadas con embarazadas hasta de dos meses.

**CUADRO N° 2**

**Hierro no hemínico en mujeres grávidas**

**Embarazo hasta de 4 meses**

Ensayo N°	Lecturas foto- colorimétricas Promedio	% $\Sigma$ $\bar{X}$ $\bar{X}$	T M.	d	d <sup>2</sup>
1	135	142,30		+17,46	304,8516
2	125	131,78		+6,94	48,1636
3	105	110,69		-14,15	200,2225
4	152,6	160,87		+36,03	1.298,1609
5	115	121,23		-3,61	13,0321
6	102	107,53		-17,31	299,6361
7	100	106,42		-19,42	377,1364
8	114,3	123,53	124,84	+3,69	13,6161
9	103	103,58		-16,26	264,3376
10	111,3	117,33		-7,51	56,4001
11	165	173,70		+43,86	2.387,2996
12	112,6	118,70		-6,14	37,6996
13	151,3	162,67		+37,83	1.431,1089
14	85,3	89,92		-34,92	1.219,4064
15	101,3	107,29		-17,55	308,0025
16	135,3	143,69		+18,35	355,3225
17	110,6	116,60		-8,24	67,8976
18	111,3	117,33		-7,51	56,4001
19	135	142,32		+17,43	306,5504
20	101,6	107,11		-17,73	314,3529
21	129,6	136,63		+11,79	139,0041
22	115	121,23		-3,61	13,0321
23	123	129,67		+4,83	23,3289
24	94	99,09		-25,75	663,0625
25	132,3	139,47		+14,63	214,0369
26	98,3	102,05		-22,79	519,3841
27	117	123,34		-1,50	2,2500
28	139	146,54		+21,70	470,8900
29	158	166,57		+41,73	1.741,3929
30	137	144,43		+19,59	383,7681
31	107	112,80		-12,04	144,9616
32	91,3	96,25		-23,59	817,3881
33	109,3	115,22		-9,62	92,5444
34	114,6	120,81		-4,03	16,2409
35	92,6	97,62		-27,22	740,9284
36	85,6	90,24		-34,60	1.197,1600
37	155,3	163,72		+32,83	1.511,6544

$$\Sigma d^2 = 13049,6749$$

$$n - 1 = 36$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{13049,6749}{36}} = \sqrt{501,3798} = 22,39$$

$$E P = 0,6745 \times \sigma = 15,10$$

$$V = \frac{\sigma}{T M} \times 100 = \frac{22,39}{124,84} \times 100 = 17,93 \%$$

$$\sigma \eta = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{22,39}{\sqrt{37}} = \frac{22,39}{6,08} = 3,68$$

Resultado:

$$124,84 \pm 22,39$$

Relación significativa

$$D \frac{T M_7 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_7)^2 + (\sigma_3)^2}} = 0,38$$

Observación: La diferencia  
no es significativa.

### Comentario

El exámen de las cifras obtenidas en el cuadro nº 7, permite comprobar que los valores del hierro sérico hallados para mujeres en la primera mitad del embarazo, son semejantes a los valores correspondientes a embarazadas hasta de dos y tres meses, y <sup>cuatro</sup>, por lo tanto son válidas las mismas conclusiones.

## Comentario General

Del estudio de las oscilaciones del hierro no hemático, efectuado sobre un total de 74 determinaciones en sueros de mujeres adultas, no embarazadas, hemos hallado para el término medio un valor de 113,37  $\gamma$ /100 ml.

Este término medio, resultado de nuestra experiencia, cae dentro del margen de valores obtenidos por el autor del método que empleamos: 011 (92 a 210  $\gamma$  Fe/100 ml suero).

Corresponde destacar que en general, la mayoría de los autores, trabajando con otras técnicas, aceptan como valor promedio del hierro sérico en la mujer, un valor alrededor de 100 gamas.

De los tenores obtenidos sobre el estudio del hierro sérico de mujeres no grávidas, permite apreciar que la dispersión de los valores individuales es elevado, correspondiéndole una desviación "Standard" de : 20,30.

Esta mayor desviación con relación a las determinaciones hechas con un mismo suero, en que hemos obtenido desviaciones "Standards", que oscilaron entre 4, 9 y 8,7, lo atribuimos a las variaciones fisiológicas propias de este estado.

En los 53 casos analizados de sueros de mujeres embarazadas, hemos encontrado una gran desviación de los valores individuales, pero comparables a los obtenidos con mujeres no embarazadas. El término medio es de 118,95 de hierro /100 ml, y la desviación "Standard" es de 22,45.

De la comparación de las dos experiencias anteriores surge, que el término medio de los datos correspondientes a mujeres embarazadas, cae dentro de la zona de influencia de los términos medios posibles de las no embarazadas y que el coeficiente de significación es : 0,18, debido a que las curvas de distribución de los valores individuales, prácticamente se superponen.

Con el objeto de poder determinar el valor de es

ta reacción al ser aplicada en el diagnóstico precoz del embarazo, hemos aplicado hemos aplicado el cálculo de probabilidades a los datos obtenidos con suero de mujeres que se hallaban en distintos tiempos del embarazo, así:

Embarazos hasta	T K	$\sigma$	D
3 meses	123,12	22,49	0,32
3 meses	122,49	22,19	0,30
4 meses	124,64	22,39	0,33

Como podemos apreciar los términos medios de hierro no hemínico obtenidos para mujeres en la primera mitad del embarazo son ligeramente mayores a los que corresponden a las mujeres ciertamente no embarazadas.

Los valores de sigma son elevados, y los coeficientes de significación pequeños, lo que induce a considerar que la reacción propuesta por los doctores: Palacios Costa, Cico e Yrayoz, en las condiciones de nuestra experiencia no es apta para el diagnóstico precoz del embarazo.

**RESUMEN**

Cuadro Nº	T M.	$\sigma$	E P.	$\sigma_M$	V	$\sqrt{n}$	Resultado
3	113,37	20,30	13,69	2,36	17,90	8,6	113,37±20,30
4	118,95	22,45	15,14	3,08	18,87	7,28	118,95±22,45
5	123,12	22,49	15,16	4,63	18,26	4,58	123,12±22,49
6	122,49	22,19	14,96	4,06	18,11	5,47	122,49±22,19
7	124,84	22,39	16,09	3,68	17,93	6,08	124,84±22,39

Relación significativa

$$D = \frac{T M_7 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_7)^2 - (\sigma_3)^2}} = 0,38$$

$$D = \frac{T M_5 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_5)^2 - (\sigma_3)^2}} = 0,32$$

$$D = \frac{T M_6 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_6)^2 - (\sigma_3)^2}} = 0,30$$

$$D = \frac{T M_4 - T M_3}{\sqrt{(\sigma_4)^2 - (\sigma_3)^2}} = 0,18$$

Observación: En los cuatro casos, la diferencia no es significativa.

$$n = \sqrt{n - 1}$$

### Conclusión

El tenor del hierro no hemínico, en el suero de la mujer grávida, con relación a las no grávidas, no acusa un aumento sensible. Por lo tanto la reacción preconizada por los Doctores Palacios Costa, Cios e Irayzoz, realizada en las condiciones de nuestra experiencia, no es apta para el diagnóstico precoz del embarazo.

## Bibliografía

- 1) - Hahn, P.F. - 1937. (ver loc. 11).
- 2) - Dogniard, R.P. y Whipple, G.H. - Journ.Exper.Med. 1932, 66-653.
- 3) - Marenzi, A., Cardini, C., Danfi, R. y Villalonga, F. - "Diq química Analítica Cuantitativa", 1947. pág. 761. Ed.El Ateneo. Buenos Aires.
- 4) - Josephs, H. W. y Winowour, P. - Bull. Johns Hopk.Hosp., 1937, 61 - 78.
- 5) - Moore, C.V., Doan, C.A. y Arrowsmith, W.R. - J.Clin.Invest., 1937, 16 - 627.
- 6) - Whitby, Lionel E.H. y Britton, C.J.C. - Alteraciones de la sangre. 1949. Salvat Editores.S.A.
- 7) - Lintzel Wolfgang - Bioch.Z. 1936, 263, 173 - 86 (Chem.Abs-tracts - XXVII, 4960).
- 8) - Hahn, P.F., Dale, W.F., Ross, Whipple G.H. - Journ. Exp. med. 1940, 71 - 731.
- 9) - Dalfour, W.M., Hahn, P.F., Dale, W.F., Pommeronke, W.T y Whipple G.H. - Journ. Expl.Med. 1942, 76 - 15 - 30.
- 10) - Elvehjon, C.A., Hart, E.B. y Eberman, W.C. - Journ. Biol. Chem. 1933, 103 - 61.
- 11) - Wintrobe, Maxwell M. - Hematología Clínica - 1948, Editorial Interamericana. S.A. México.
- 12) - Mc Cance y Widdowson - Lancet, 1937 - I - 680 (de loc.14).
- 13) - Jhonston,Frances A. - "A new theory of iron metabolism" J. Am.Dietet. Assoc. - 1943 - 19, 838 - 40.
- 14) - Heilmeyer, L. - Enfermedades de la sangre - 1946. Edit. Labor. Buenos Aires.
- 15) - Hahn, P.F., Dale, W.F., Dalfour, W.N. y Whipple, G.H.-Journ Exper. Med. 1943, 78 - 169.
- 16) - Barkan, G.Z. - Physiol. Chem. - 1927, 171 - 194.  
" " " " - 1933, 216 - 1 - 17.  
" " " " - 1936, 239 - 97.

- 17) - Locke, Mani y Rosbach - J. Clin. Invest. - 1932, 11 - 587.
- 18) - Moore, C.V., Arrowsmith, W.R., Welch, J. y Minnich, V. - Journ. Clin. Invest. 1930, 18 - 533.
- 19) - Hailmeyer, L. y Plötnar, K. - "Das Serum eisen ind die Eisenmangel Krankheit". G. Fisher - Jena - 1937.
- 20) - Moore, C.V., Doan, C.A. Arrowsmith, W.R. - Journ. Clin. Invest. 1937 - 26 - 527.
- 21) - Goldschmower, Hoot y Lederer - Rev. belge - S.Méd. 1938, 10 - 177.
- 22) - Barkan, G., Walker, S.B. - Journ. Biol. Chem. 1940, CXXXV - 37 - 42.  
Barkan, G., Walker, S.B. - Jour. Biol. Chem. 1939, CXXXI - 447 - 454.
- 23) - Gil Julia - Arch. de Farm. y Bioq. de Tucumán. - 1963. T. I, pág. 101.
- 24) - Hailmeyer, L. y Plötnar, K. (ver loc. 14).
- 25) - Barkan, G., Walker, S.B. - Journ. Biol. Chem. 1940, 135-36.
- 26) - Fuhrmann, G. y Barkemeyer, H. - Z. Ges. in Med. 2, (1947) 453 - 60. (Chem. Abstr. 1948. T. XLII - pág. 5484f).
- 27) - Walker, S.B. - del libro de Anido Froguío V. y G. - "Laboratorio Clínico". 2da. Edición T. I., pág. 180 - Ed. Cultural S.A. Habana.
- 28) - Klett, Summerson - del libro de Hawk, Oser and Summerson, 1947 - 12a. Edición - Filadelfia - The Blakiston Company - Toronto.
- 29) - Palacios Costa, M., Cios, M., e Irayroz J.F. - Sem. Méd. 1948 - Año LV - nº 2866, pág. 1235.
- 30) - Albers Herbert - "Eisen bei Mutter und Kind" 1941. Leipzig. G. Thieme.
- 31) - Galli Mainini, C. - Sem. Méd. 1947 - 54 (1) - 337.
- 32) - Rönner, M. - Verhandl - Konink. Vlaam. Acad. Geneesk. Belg. 4, 49 - 94 (1942) (Chem. Abstrs. 1948 - T. XLII pág. 5900h).
- 33) - Hoch, H., Marrack, J.R., Fuse, R.H. and Hoch R. - The Journ. Obst. and Gynec - Brit. Emp., 1948, 55 - 1 - 10.

*La Plata Octubre 31 - 1950*

*Germana Heinke*