

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

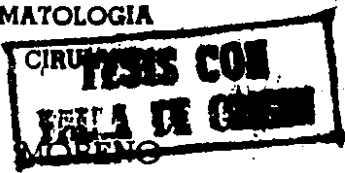
Influencia de los anticoagulantes en el Ensayo inmunorradiométrico de ferritina

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"
DIVISION DE ENSEÑANZA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGIA
PRESENTA EL MEDICO CIRUJANO

MARIO SILVA





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	No. PAGINA
1. - INTRODUCCION	1
2. - OBJETIVO	5
3. - MATERIAL Y METODO	6
4. - RESULTADOS	10
5. - DISCUSION	11
6. - CONCLUSIONES	13
7. - CURVA ESTANDAR DE FERRITINA	14
8. - TABLA 1	15
9. - TABLA 2	16
10.- TABLA 3	17
11.- BIBLIOGRAFIA	18

INFLUENCIA DE LOS ANTICOAGULANTES EN EL
ENSAYO INMUNORRADIOMETRICO DE FERRITINA

(1)

INTRODUCCION.

La ferritina es un alfa globulina hidrosoluble y termostable, su peso molecular varía principalmente por el número de átomos que contiene, pero se acepta un peso molecular promedio de 450,000 daltones para la apoproteína. Está constituida por 24 subunidades con un peso molecular entre 18,000 y 19,000 daltones cada una. Tiene forma de esfera hueca, mide aproximadamente 8 x 13 nm, tiene 6 canales por donde circula el hierro, que miden 0,9 nm en su parte interna y 1.2 nm en la externa. Esta proteína puede almacenar en su interior hasta 4,500 átomos de hierro en forma férrica. Mediante isoelectroenfoque, se han reconocido en el humano 13 isoferritinas. Estas pueden ser ácidas, básicas o intermedias, y el patrón electroforético de las isoferritinas está dado por las propias subunidades (ácidas o básicas) que conforman a la proteína. Las isoferritinas ácidas tienen menos átomos de hierro que las básicas; las primeras se localizan principalmente en el corazón y el cerebro, y las básicas en el hígado y bazo. En teoría, cualquier célula del organismo es capaz de producir ferritina cuya síntesis es postranscripcional y probablemente esté mediada por la carga de hierro (5,6,20-24).

Laufberger descubrió la ferritina en 1937, por entonces se pensó que sólo existía dentro de las células. En 1950 Mazur y Shorr (25) y años después Reissman y Dietrich (26), demostraron su existencia en el suero de ciertos enfermos. En 1972 Addison desarrolló un ensayo inmunoradiométrico muy sensible con el que demostró ferritina en el suero de sujetos normales, y sugirió una relación directa entre ferritina sérica y magnitud de la reserva de hierro (I), situación que ha sido confirmada en pacientes con deficiencia o sobrecarga de hierro (2-4, 18,19). Se ha sugerido que 1 ug/L de ferritina sérica equivale a 8 mg de hierro almacenado en sujetos normales (4), y se ha encontrado una correlación inversa entre ferritina sérica y la capacidad de fijación total de transferrina (3). Numerosos autores han dosificado ferritina en personas normales, en sujetos con deficiencia o sobrecarga de hierro así como en pacientes con infección, cáncer, enfermedades hepáticas, etc. (2-4,9, 17,19,27-29,31,32). En cada uno de estos estudios existe una amplia distribución de valores, entre sujetos normales aquéllos oscilan entre 6 y 400 ug/L en los hombres y entre 3 y 200 ug/L en las mujeres.

Existen cambios fisiológicos en la concentración de ferritina sérica en diferentes etapas de la vida humana, que reflejan cambios en los depósitos de hierro. Al nacimiento los niveles

son tan altos como en el varón adulto (100 ug/L) y continúan aumentando hasta el mes de edad en que se registran niveles hasta de 360 ug/L, después bajan hasta 30 ug/L a los 6 meses, nivel que persiste hasta la pubertad (17,29). Los niveles de ferritina sérica generalmente se encuentran elevados en las anemias que se asocian a infección, inflamación y cáncer. Cuando existe remisión de la enfermedad primaria, se observa disminución del nivel de ferritina sérica. En las neoplasias, es posible que exista un aumento adicional de ferritina sérica sin un incremento correspondiente en los depósitos de hierro, lo cual se explica por síntesis y liberación de grandes cantidades de ferritina en las células malignas (31,32). Uno de los campos en que la dosificación de ferritina sérica ha demostrado una enorme utilidad es el de las anemias nutricionales. Dentro de este grupo en la anemia por deficiencia de hierro, que por su frecuencia constituye un problema de salud pública, la dosificación de ferritina sérica ha permitido detectar con mayor precisión, el estado de las reservas de hierro en diferentes poblaciones, y por ende, establecer la incidencia y prevalencia de la deficiencia prelatente de hierro (7,8). Es por esto que la dosificación de ferritina representa uno de los métodos fundamentales, que permite obtener información para la planeación racional de estrategias profilácticas, en el mejoramiento nu--

tricional de una comunidad.

Existen varios métodos para cuantificar ferritina (9-12), que pueden clasificarse en 2 categorías: análisis inmunoradiométrico (IRA) y radioinmunoanálisis (RIA). En el IRA se utiliza un anticuerpo contra ferritina marcado con iodo radiactivo y en el RIA lo que está marcado con este isótopo es el antígeno ferritina. Cualquiera que sea el método utilizado, es importante conocer la variabilidad, la precisión y la reproducibilidad del ensayo, así como la influencia de las distintas variables que pueden afectar a la muestra como son la hemólisis, presencia del alcohol, anticoagulantes y el almacenamiento. (12,14;20). Toda esta gama de factores hace necesario que cada laboratorio conozca su ensayo de tal forma que le permita interpretar los resultados con apego a la realidad. En este contexto, se ha estudiado la influencia de los anticoagulantes en la cuantificación de ferritina, siendo el suero el material biológico de referencia y comparándose con las dosificaciones efectuadas en plasma heparinizado y plasma-EDTA. Al respecto, Birgergard (14), utilizando un RIA encuentra que la dosificación en plasma-EDTA resulta en valores que en promedio son 23% menores que cuando la dosificación de ferritina se hace en suero. Kubasik (33), por el contrario, utilizando el RIA de un estuche comercial, no encuentra diferencias en las determinaciones efectuadas en los 3 materia-

les biológicos antes mencionados. Solamente existe un trabajo, el de Miles (12), que utiliza un ensayo inmunorradiométrico, y compara las dosificaciones de ferritina sérica con las efectuadas en plasma anticoagulado con heparina y con EDTA; desgraciadamente no muestra los resultados, pero afirma que no existen diferencia significativas.

OBJETIVO.

Conocer el efecto de la heparina y el EDTA utilizados en la toma de la muestra de sangre, sobre la cuantificación de ferritina,

MATERIAL Y METODO.

Se estudiaron 19 sujetos aparentemente sanos de acuerdo con un interrogatorio, quienes después de informárseles los propósitos del estudio, aceptaron donar una muestra de sangre. Las muestras estudiadas correspondieron a 7 mujeres y 12 hombres, con edades entre los 18 y 45 años (promedio 27). La muestra de sangre se tomó con el sujeto en ayuno, de una vena del antebrazo, entre las 8 y las 11 horas; las 19 muestras fueron reunidas en el transcurso de una semana. La muestra de sangre se dividió en cuatro alícuotas, una para la citología hemática y tres para obtener suero, plasma heparinizado y plasma-EDTA. La concentración de heparina fue de 48 UI/ml y la de EDTA de 1.2 mg/ml de sangre. Las muestras se dejaron en reposo aproximadamente una hora, se centrifugaron a 3,000 rpm por 10 minutos, y los sueros y plasmas fueron colectados con pipeta Pasteur; si éstos aún tenían elementos formes de la sangre visibles, se centrifugaban nuevamente a la misma velocidad por 5 minutos. Las muestras fueron tapadas y almacenadas a -20°C hasta el día de su procesamiento. La citología hemática se realizó el mismo día de la obtención de la muestra de sangre en un contador electrónico de partículas.

Las dosificaciones de ferritina de los 19 sujetos, en suero, -

plasma heparinizado y plasma-EDTA se efectuaron en un solo ensayo para eliminar la variación interensayo. En 43 muestras la dosificación se practicó por octuplicado y en las 14 restantes se hizo en 6 ó 7 replicados.

La cuantificación de ferritina se realizó con el método de Miles (12) modificado por Alvarez y Loria (15). Tanto el anticuerpo frío como el marcado con ^{125}I , se obtuvieron inmunizando conejos con ferritina hepática humana. A continuación se describe el procedimiento seguido:

DIA 1

- 1.- Seleccionar tubos de poliestireno de fondo plano de 10 x 25 mm eliminando el polvo mediante aire.
- 2.- Colocar 200 ul de anticuerpo frío diluido 1:400 en amortiguador de carbonatos 0.05 M, pH 9.2
- 3.- Incubar a 4°C por 24 horas.

DIA 2

- 1.- Aspirar el anticuerpo en exceso de los tubos.
- 2.- Colocar 400 ul de amortiguador de fosfato salino O.I.M, pH 7.4 (AFS) en cada uno de los tubos. Este AFS debe contener albúmina sérica bobina al 0.5%.
- 3.- Incubar a 4°C por 24 horas.

DIA 3

- 1.- Lavar los tubos 3 veces con 400 ul de AFS en cada ocasión.

- 2.- Diluir el suero o plasma problema 1:7 con AFS, y colocar 200 ul de la dilución en cada uno de 8 tubos.
- 3.- Colocar 200 ul del estándar respectivo de ferritina (0,5, 10,15,20,50,100 y 500 ug/L) diluido en AFS, en cada uno de los 8 tubos de cada estándar previamente preparados.
- 4.- Incubar a 4°C por 24 horas.

DIA 4

- 1.- Lavar los tubos 3 veces con 400 ul de AFS en cada ocasión.
- 2.- Poner 200 ul de antiferritina marcada con ^{125}I a una dilución de 1:400 (25,000 cpm) en cada uno de los 8 tubos correspondientes a cada uno de los estándares y problemas.
- 3.- Incubar a 4°C por 24 horas.

DIA 5

- 1.- Lavar los tubos 3 veces con 400 ul de AFS en cada ocasión.
- 2.- Contar la radiactividad unida en un contador de radiaciones gama durante 1 minuto.

CALCULOS.

- 1.- Obtener el promedio y el coeficiente de variación de las cuentas por minuto (cpm) de los 8 tubos de cada uno de los estándares y problemas.
- 2.- Si el coeficiente de variación es mayor del 7% es necesario eliminar el o los tubos que tienen las cpm más discor-

dantes con respecto al promedio, para que dicho coeficiente sea igual o menor del 7%.

- 3.- Con los promedios de las cpm de los estándares, se traza una curva en papel milimétrico, poniendo en las ordenadas las cpm, y en las abscisas la concentración de ferritina en ug/L. La curva estándar obtenida se muestra en la figura 1.
- 4.- A partir de esta curva se calculan las concentraciones de los problemas, multiplicándose por el factor de dilución inicial.

Los resultados se analizaron mediante la prueba de t pareada de 2 colas. La interpretación clínica se realizó de acuerdo con los valores normales de nuestro laboratorio (16) que en mujeres son de 20 a 203 y en varones de 37 a 317 ug/L.

RESULTADOS.

Los resultados de la citología hemática de los 19 sujetos se muestran en la tabla I y las concentraciones de ferritina medidas en suero, plasma heparinizado y plasma-EDTA se -- anotan en la tabla 2. La cifra promedio de ferritina es mayor en el plasma-EDTA que en el plasma heparinizado y en éste a su vez es mayor que en el suero. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre las cuantificaciones efectuadas en suero y los plasmas; en cambio, las diferencias entre -- ambos plasmas sí son estadísticamente significativas (p menor de 0.05) sin embargo, aquí debe enfatizarse que el material -- biológico de referencia es el suero. En la misma tabla 2 se -- muestran las diferencias entre los 3 sistemas expresadas en -- forma porcentual. Como puede observarse, existen diferencias -- positivas, negativas y resultados idénticos. El promedio de diferencias porcentuales entre suero y plasma-EDTA es mayor que el de suero versus plasma heparinizado. En la tabla 3 se interpretan las dosificaciones de ferritina efectuadas en suero, -- plasma heparinizado y plasma-EDTA, de acuerdo con los valores de referencia obtenidos en nuestro laboratorio. Nótese la presencia de incongruencias respecto al criterio de normalidad. La frecuencia de resultados incongruentes es igual (10.5%), cuando

se compararon suero y plasma heparinizado que cuando se compa
raron suero y plasma-EDTA.

DISCUSION.

Nuestros resultados demuestran que no existen diferen
cias estadísticamente significativas, cuando se comparan las -
dosificaciones de ferritina en suero con las efectuadas en --
plasma heparinizado y plasma-EDTA, lo cual está de acuerdo con
lo encontrado por Miles (12). Sin embargo, las concentraciones
de ferritina muestran una discreta tendencia a ser mayores en
plasma heparinizado, que se hace más aparente en plasma-EDTA,-
al considerar el suero como el material biológico de referen--
cia; y esta tendencia, tiene significancia estadística cuando
se comparan ambos plasmas; si bien, esto no invalida la afirma
ción inicial, ante tales tendencias, es importante considerar
la posibilidad de estar frente a un error estadístico de tipo
beta, en ese caso podría ser interesante estudiar una muestra
mayor de sujetos que incluya algunos con niveles supranormales
de ferritina. Por otra parte, esta propensión a valores más al
tos, puede tener significado cuando a la cifra obtenida se le
de una interpretación clínica. Cuando nuestros resultados se -
interpretan de acuerdo con los niveles normales de ferritina -
realizados en nuestro laboratorio (16), muestran que la cuanti
ficación de ferritina en una misma persona utilizando suero,--

plasma heparinizado, o plasma-EDTA, tiene riesgo de incongruencia con respecto a la normalidad en un cierto porcentaje. Esto podría explicarse porque nuestros valores de referencia son relativamente más altos. Muchos autores fijan el límite inferior normal entre 10 y 12 ug/l. (1,5,9,27,28) y Jacobs (2) en estudios con flebotomía encontró que 10 ug/l. de ferritina sérica, representa el límite inferior de hierro de depósito, que aún es adecuado para cubrir las demandas de la eritropoyesis. Si nuestros resultados se interpretan con esos límites inferiores no se observan incongruencias. Por lo anterior, se deduce que habrá error de interpretación en la dosificación de ferritina solamente cuando a un mismo individuo se le practiquen dosificaciones seriadas y se utilice indistintamente suero y plasma.

CONCLUSIONES.

- 1.- La cuantificación de ferritina no se ve afectada de manera significativa cuando la muestra es aticoagulada con heparina o EDTA.
- 2.- Es necesario confirmar esta afirmación ampliando el número de observaciones.
- 3.- Por lo anterior, es recomendable que las dosificaciones de ferritina efectuadas en forma longitudinal, se realicen -- siempre en un mismo material, ya sea suero, plasma heparinizado o plasma-EDTA.

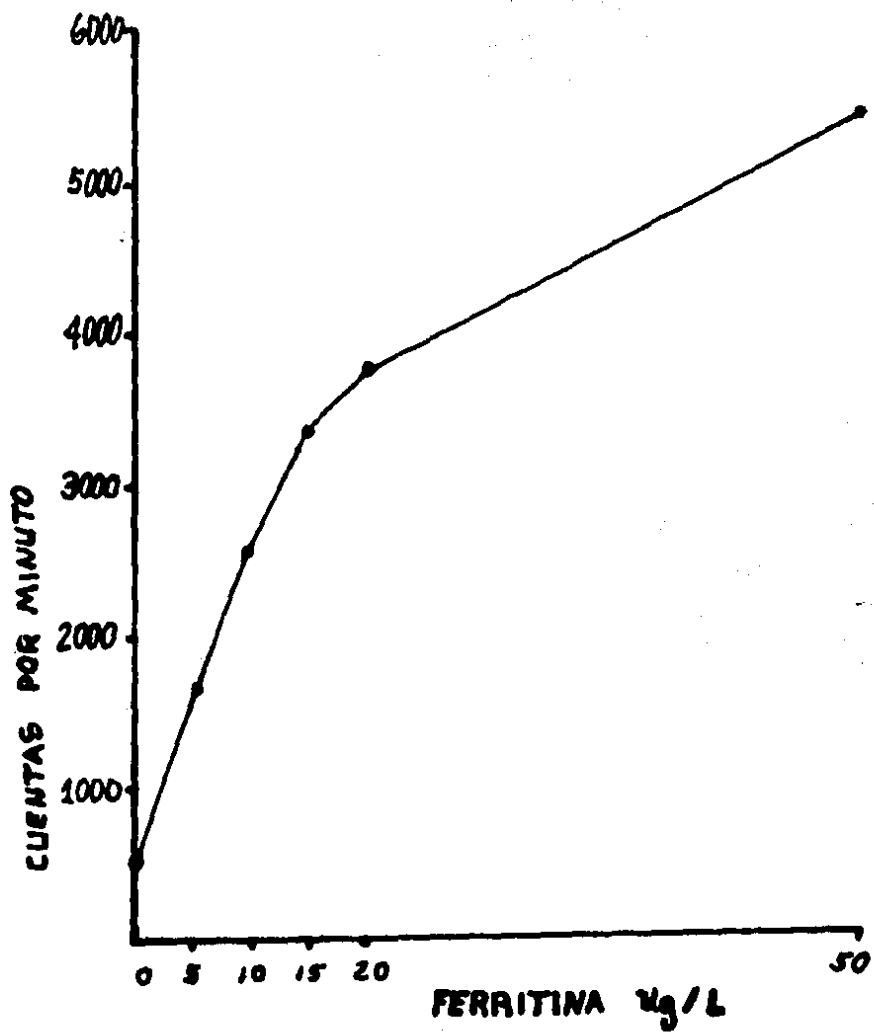


FIGURA 1

TABLA I

DATOS HEMATOLOGICOS DE LOS 19 SUJETOS

SUJETO Nº.	SEXO	EDAD	Hb (g/dl)	Ht (%)	VGM (fl)	HCM (pg)	LEUCOCITOS (x 10 ⁹ /L)
1	F	45	14.5	44	87	29	8.4
2	F	23	13.9	41	88	30	6.1
3	F	23	15.1	45	84	29	6.8
4	F	25	14.8	44	81	28	7.4
5	F	21	15.5	47	90	31	6.9
6	F	38	14.9	44	90	31	7.2
7	F	20	14.5	43	91	30	5.0
8	M	26	16.3	50	82	27	5.7
9	M	30	15.6	47	90	31	6.8
10	M	19	16.2	49	90	31	5.8
11	M	38	17.1	51	91	32	4.8
12	M	23	18.1	54	91	32	6.2
13	M	27	15.1	44	83	29	6.5
14	N	22	16.1	48	81	28	7.2
15	M	20	16.3	48	82	28	9.1
16	M	18	16.4	47	86	30	4.3
17	M	36	16.0	47	83	29	7.0
18	M	24	16.0	47	86	29	6.8
19	M	28	16.6	50	86	29	6.2

TABLA 2

(16)

COMPARACION ENTRE LOS NIVELES DE FERRITINA DOSIFICADOS
EN SUERO, PLASMA HEPARINIZADO Y PLASMA-EDTA

FERRITINA (ug/L)		DIFERENCIA %			
SUJETO	SUERO	PLASMA	PLASMA	SUERO VS PLASMA	SUERO VS PLASMA
. N ^o .		HEPARINIZADO	EDTA	HEPARINIZADO	EDTA
1	95 (5)	86 (6)	92 (7)	- 9,5	- 3,1
2	34 (4)	26 (4)	36 (6)	- 23,5	+ 5,9
3	24 (4)	22 (6)	17 (8)	- 8,3	- 29,1
4	15 (5)	22 (4)	17 (8)	+ 46,7	+ 13,1
5	12 (7)	10 (7)	12 (6)	- 16,7	0,0
6	11 (8)	12 (4)	7 (7)	+ 9,1	- 36,4
7	11 (7)	11 (7)	17 (6)	0,0	+ 54,5
8	95 (7)	187 (8)	122 (7)	+ 96,8	+ 28,4
9	93 (5)	113 (5)	145 (7)	+ 21,5	+ 55,9
10	87 (6)	96 (7)	183 (8)	+ 10,3	+110,3
11	78 (4)	78 (6)	85 (7)	0,0	+ 8,9
12	72 (8)	72 (4)	74 (5)	0,0	+ 2,8
13	52 (6)	47 (5)	44 (8)	- 9,6	- 15,4
14	40 (7)	37 (6)	41 (7)	- 7,5	+ 2,5
15	34 (5)	42 (6)	41 (7)	+ 23,5	+ 20,6
16	34 (7)	28 (8)	28 (5)	- 17,6	- 17,6
17	29 (5)	24 (6)	31 (7)	- 17,2	+ 6,9
18	23 (6)	25 (6)	25 (8)	+ 8,7	+ 8,7
19	19 (6)	18 (7)	19 (5)	- 5,3	0,0
PROHEDIO	45,1	50,3	54,5	+ 5,3	+ 11,4
PRUEBA t				0,0644	1,62907
VALOR DE p				mayor de 0,4	mayor de 0,05

Los números entre paréntesis indican el número de muestras incluidas para obtener el dato de ferritina. Los primeros 7 sujetos son mujeres y el resto son varones.

TABLA 3

(17)

INTERPRETACION CLINICA DE LAS DOSIFICACIONES DE FERRITINA
EFECTUADAS EN SUERO, PLASMA HEPARINIZADO Y PLASMA-EDTA; DE
ACUERDO CON VALORES NORMALES DE NUESTRO LABORATORIO.

SUJETO Nº.	SEXO	SUERO	PLASMA HEPARINIZADO	PLASMA-EDTA
1	F	N	N	N
2	F	N	N	N
3	F	N	N	DEFICIENTE
4	F	DEFICIENTE	N	DEFICIENTE
5	F	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
6	F	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
7	F	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
8	M	N	N	N
9	M	N	N	N
10	M	N	N	N
11	M	N	N	N
12	M	N	N	N
13	M	N	N	N
14	M	N	N	N
15	M	DEFICIENTE	N	N
16	M	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
17	M	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
18	M	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE
19	M	DEFICIENTE	DEFICIENTE	DEFICIENTE

N= Normal

1. - Addison G.M., Beamish M.R., Hales C. N., Hodgkins M., Jacobs A. and P. Llewellyn.: An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients -- with iron deficiency and overload. *J.Clin. Pathol.* 25:326-329,1972.
2. - Jacobs A., Miller F., Worwood M., Beamish M.R. and War---drop C.A.: Ferritin in the serum of normal subjects and - patients with iron deficiency and iron overload. *Brit.Med. J.* 4:206-208,1972.
3. - Lipschitz D.A., Cook J.D. and Finch C.A.: Clinical evaluation of serum ferritina as an index of iron stores. *N. Engl.J.Med.* 290:1213-1216-1974.
4. - Walters G.O., Miller F.M. and Worwood M.: Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. *J.Clin.Pathol.* 26:770-772,1973.
5. - Jacobs A. and Worwood M.: Ferritin in serum. Clinical and biochemical implications. *N.Engl. J.Med.*292:951-956,1975.
6. - Jacobs A and Worwood M.: The biochemistry of ferritin and its clinical implications. *Progr.Hematol.* 9:1-24,1975.
7. - Cook J.D., Finch C.A. and Smith N.J.: Evaluation of iron-status of a population. *Blood* 48:449-455,1976.
8. - Valberg L.S., Sorbie J., Ludwig J and Pelletier O.: Serum ferritin and the iron status of canadians. *Can.Med.Assoc. J.* 114:417-421,1976.
9. - Marcus D.M. and Zinberg N.: Measurement of serum ferritin by radioimmunoassay. Results in normal individuals and patients with breast cancer. *J.Natl.Cancer Inst.* 55:791-795, 1975.
- 10.- Halliday J.W., Gera K.L. and Powell L.W.: Solid phase radioimmunoassay for serum ferritin.*Clin.Chim.Acta* 58:207-214,1975.

- 11.- Wide L. and Birgergard G.: A solid phase radioimmunoassay for ferritin and using ¹²⁵I-Labelled ferritin. Uppsala - J. Med. Sci. 82:15-19, 1977.
- 12.- Miles L.E.M., Lipschitz D.A., Bierber C.P. and Cook J.D.: - Measurement of serum ferritin by 2-site immunoradiometric assay. Anal. Biochem. 61:209-224, 1974.
- 13.- Ryan S., Watson I.R., Tavassoli M., Green R. and Crosby W.H.: Methods for establishing a working immunoradiometric assay for serum ferritin. Amer. J. Hematol. 4:375-386, 1978.
- 14.- Birgergard G.: Serum ferritin. Physiological and methodological studies. Clin. Chim. Acta. 103:227-285, 1980.
- 15.- Alvarez H.X., and Loria A.A.: Iodination of antiferritin - by the method of Bolton and Hunter. Clin. Chem. 27:643, 1981.
- 16.- Alvarez H.X., Piedras R.J., Córdova M.S., López K.X. y Cano R.: Ferritina sérica en mujeres y varones. Valores de referencia. Rev. Inv. Clín. (Mex) 33:13-16, 1981.
- 17.- Siimes M.A., Addiego J.E. Jr. and Dallman P.R.: Ferritin in serum. Diagnosis of iron deficiency and iron overload in - infants and children. Blood 43:581-589, 1974.
- 18.- Letsky E.A., Miller F., Worwood M. and Flynn D.M.: Serum - ferritin in children with thalassemia regularly transfused. J. Clin. Pathol. 27:652-655, 1974.
- 19.- Bentley D.P. and Williams P.: Serum ferritin concentration as an index of storage iron in rheumatoid arthritis. J. Clin. Pathol. 27:786-788, 1974.
- 20.- Munro H.N. and Linder M.C.: Ferritin. Structure biosynthesis and role in iron metabolism. Physiol. Revs. 58:317-387, 1978.
- 21.- Crichton R.R.: Structure and function of ferritin. Angew Chem. Internat. Edit. 12:57-65, 1973.
- 22.- Granick S.: Ferritin its properties and significance for iron metabolism. Chemical Revs. 38:379, 1946.

- 23.- Harrison P.M., Hoare R.J., Hoy T.G. and Macara I.G.: Ferritin and haemosiderin. Structure and function. In Iron in Biochemistry and Medicine. Eds. Jacobs A. and Worwood M. London, -- New York, Academic. pp 73-114, 1974.
- 24.- Harrison P.M.: Ferritin. An Iron storage molecule. Sem. Hematol. 14:55-70, 1977.
- 25.- Mazur A. and Shorr E.: A quantitative immunochemical study of ferritin and its relation to the vasodepressor material. J. Biol. Chem. 182:607-627, 1950.
- 26.- Reissman K.R. and Dietrich M.R.: On the presence of ferritin in peripheral blood of patients with hepatocellular disease. J. Clin. Inv. 35:588-595, 1956.
- 27.- Cook J.D., Lipschitz D.A., Miles E.M. and Finch C.A.: Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. Am. J. Clin. Nutr. 27:681-687, 1974.
- 28.- Wands J.R., Rowe S.E., Mezey L.A., Waterbury J.R., Wrigth J.W., Halliday K., Isselbacher J. and Powell L.W.: Normal serum ferritin concentrations in precirrhotic hemochromatosis. New. Engl. J. Med. 294:302-305, 1976.
- 29.- Jacobs A.: Serum ferritin and iron stores. Federation Proc 36:2024-2027, 1977.
- 30.- Sorbie J.L., Valberg S., Cabett W.F.N. and Ludwig J.: Serum ferritin cobalt excretion and body iron status. Can. Med. Assoc. J. 112:1173-1178, 1975.
- 31.- Jones P.A.E., Miller F.M., Wowood M. and Jacobs A.: Ferritinaemia in leukaemia and Hodgkin's disease. Brit. J. Cancer 27:212-217, 1973.
- 32.- Parry D.L., Worwood M. and Jacobs A.: Serum ferritin in acute leukaemia at presentation and during remission. Brit. Med. J. 1:245-247, 1975.
- 33.- Kubasik N.F., Ricotta M., Hunter T. and Sine L.F.: Evaluation of a new radioimmunoassay kit. Clin. Chem. 27:505, 1981.