

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**CUANTIFICACION DE HIERRO EN SANGRE TOTAL DE
EMBARAZADAS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X.**

Estudio realizado en 30 pacientes embarazadas
octubre 1992, Dirección General de Energía
Nuclear, Guatemala.

T E S I S

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la
Facultad de Ciencias Médicas de la
Universidad de San Carlos de Guatemala.

P O R

HERBERT MARTIN ALVAREZ PINEDA

En el acto de su investidura de:

MEDICO Y CIRUJANO

GUATEMALA, MAYO DE 1993.



DL
05
T(6573)

Ref.: SI-014/93

Ministerio de Energía y Minas
Dirección General de Energía Nuclear

Guatemala,
12 de mayo de 1993


DR. RAUL CASTILLO
COORDINADOR DOCENTE ADMON. DE TESIS
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS, USAC.

Doctor Castillo:

Por este medio tengo el agrado de comunicarle que en el Laboratorio Análítico Nuclear de esta Dirección se finalizó la parte analítica del trabajo de tesis del Br. Herberth Martín Álvarez Pineda, el cual lleva como título "CUANTIFICACION DE HIERRO EN SANGRE TOTAL DE EMBARAZADAS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X", utilizando la metodología conveniente para tal propósito.

Sin otro particular, me suscribo,

Atentamente,


Ing. Enrique Aguilar Sandoval
~~JEFE SECCION INDUSTRIAL~~
DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR

/ach.





FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
GUATEMALA, CENTRO AMERICA


Guatemala, 28 de abril de 1,993
DIF-058-93


Director Unidad de Tesis
Centro de Investigaciones de las Ciencias
de la Salud - Unidad de Tesis.


Se informa que el: BACHILLER: HERBERT MARTIN ALVAREZ
Título o diploma de diversificado, Nombre y apellidos
PINEDA Carnet No. 93-13986
completos

Ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:
"CUANTIFICACION DE HIERRO EN SANGRE TOTAL DE EMBARAZADAS POR FLUORESCENCIA
DE RAYOS X"

y cuyo autor, asesor(es) y revisor nos responsabilizamos de los
conceptos, metodología, confiabilidad y validez de los resultados,
pertinencia de las conclusiones y recomendaciones, así como la calidad
técnica y científica del mismo, por lo que firmamos conformes:


Dr. Golpat Guzmán
MEDICO CIRUJANO
Colegiado 9783
Firma y sello personal


Firma del estudiante


Revisor
Firma y sello
Registro Personal 9,912



EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

H A C E C O N S T A R Q U E :

El Bachiller: HERBERT MARTIN ALVAREZ PINEDA

Carnet Universitario No. 83-13986

Previo a optar al Título de Médico y Cirujano, en su Examen General Público ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:
"CUANTIFICACION DE HIERRO EN SANGRE TOTAL DE EMBARAZADAS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X"

Avalado por asesor(es) y revisor, por lo que se emite la presente

ORDEN DE IMPRESION:

Dr. Edgar R. De León Barillas
Por Unidad de Tesis

Dr. Raúl A. Castillo Rodas
Director del Centro de Investigaciones
de las Ciencias de la Salud

I M P R I M A S E :

Dr. Jafeth Ernesto Cabrera Franco
D E C A N O

INDICE

CAPITULO	PAGINA
I.	INTRODUCCION 1
II.	DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA 2
III.	JUSTIFICACION 4
IV.	OBJETIVOS 5
V.	MARCO TEORICO 6
	a. Definición 6
	b. Etiología 6
	c. Manifestaciones clínicas 7
	d. Diagnóstico 8
	e. Pronóstico 12
	f. Tratamiento 13
VI.	MATERIAL Y METODO 14
	a. Tipo de estudio 14
	b. Materiales y sujeto de estudio 14
	c. Marco muestral 14
	d. Variables 14
	e. Recursos 14
	f. Técnicas y procedimientos 15
	g. Método de Fluorescencia de Rayos X 15
	h. Técnica Sigma 16
	i. Cronograma de actividades 17
VII.	PRESENTACION DE RESULTADOS 18
VIII.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS 22
IX.	CONCLUSIONES 26
X.	RECOMENDACIONES 27
XI.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 28
XII.	ANEXO (FLUORESCENCIA DE RAYOS X,) 30-33

INTRODUCCION

La anemia por deficiencia de hierro es la más común en todo el mundo. Esta deficiencia hace que sean inadecuadas las reservas corporales de hierro, las cuales deben agotarse antes de que se limite la producción de eritrocitos, que pueden caracterizarse por ser hipocrómicos y microcíticos ante la baja concentración de hierro disponible.

Actualmente la comunidad científica dispone de múltiples pruebas de laboratorio para el análisis cuantitativo de hierro. Sin embargo dichas técnicas, no aportan valores del elemento en forma global que permita evaluar los diferentes compartimientos, intracelular, extracelular y depósito.

Considerando lo anterior, se realizó el presente estudio utilizando una metodología relativamente nueva, que determina los niveles de hierro sérico e intracelular y extracelular total, parámetro difícil de evaluar por otra metodología. Para el análisis de las muestras se utilizó la técnica de Fluorescencia de Rayos X (FRX) en 45° , dispersiva en energía.

Además se hizo una correlación de los datos obtenidos para determinar si un contenido alto de hierro intracelular y extracelular total circulante coincide con un valor de hierro sérico elevado, según las técnicas Sigma y fluorescencia de Rayos, tomando como muestra la sangre de 30 pacientes con control pre-natal.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

La deficiencia de hierro es la causa más común de anemia en todo el mundo, y es difícil cuantificar su prevalencia con precisión a causa de diferencias en los criterios usados para identificar a la población estudiada en términos de edad, sexo, nivel económico y factor ambiental local. Sin embargo en poblaciones estudiadas en forma longitudinal la deficiencia es aproximadamente de 3% en los varones 20% en las mujeres y más del 50% en mujeres embarazadas (2,3,12).

Ocurre anemia por deficiencia de hierro cuando las reservas corporales de hierro se hacen inadecuadas para cubrir las necesidades de la eritropoyesis normal, las reservas corporales deben agotarse antes que se vea limitada la producción de eritrocitos, que pueden caracterizarse por ser hipocrómicos y microcíticos ante la baja concentración plasmática de hierro y ferritina, y saturación de transferrina de aproximadamente 15% o menos. La anemia es un signo de enfermedad y no un diagnóstico (7,12).

Las necesidades de hierro están determinadas por pérdidas fisiológicas obligadas y el requerimiento impuesto por el crecimiento, este requerimiento debe considerarse en el contexto de la calidad de hierro de la dieta disponible para su absorción (3).

Para determinar la anemia se recurre a índices sanguíneas, los más practicados en laboratorio clínico son: recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, frote sanguíneo y recuento de reticulocitos (2,3).

Las pruebas de laboratorio que determinan la concentración plasmática de hierro son; Prueba Sigma, Merk, de Wong. En el método de Fluorescencia de Rayos X para el análisis cuantitativo de hierro

la muestra de sangre completa se excita con un haz de rayos X, que permite la expulsión de un electron de los niveles internos del átomo dejando un orbital vacante el cual es ocupada por un electrón externo; cuando el átomo regresa a su estado fundamental un electrón de un nivel pasa a otro de menos energía, emitiendo el exceso de energía en forma de rayos X característicos del elemento.

La medición de las energías de las radiaciones procedentes de la muestra permite identificar y cuantificar los elementos emisores.

En el presente trabajo se pretende investigar el empleo e interpretación adecuada de las pruebas de laboratorio para determinar concentraciones sanguínea de hierro total sérico y total circulante. Para el efecto se realizará el análisis cuantitativo de hierro total empleando la técnica de Fluorescencia de Rayos X, comparando los resultados obtenidos con la técnica **Sigma** para medición de hierro total sérico. Es importante mencionar que la técnica de **FRX**, permite el análisis cuantitativo de hierro total en forma de hierro intracelular y extracelular, de los depositos circulantes (en proteínas transportadoras o formas libres y el hierro intracelular), parámetro que es difícil de evaluar por otras metodologías en las cuales no es posible determinar el hierro total.

JUSTIFICACION

La deficiencia de hierro es una entidad patológica frecuente en los seres humanos y afecta a millones de ellos. La estimación de la prevalencia depende de las situaciones económicas de las poblaciones estudiadas, y los datos en su mayoría sugieren que el 20% al 40% de las personas son particularmente propensas a un balance desfavorable de hierro.

En lactantes y mujeres embarazadas y en mujeres menstruantes se estima en un 10% a 20% la prevalencia, pero es menos del 5% en los hombres adultos y en mujeres postmenopáusicas (3,4).

En el presente trabajo se pretende investigar el empleo e interpretación adecuada de las pruebas de laboratorio, en el análisis cuantitativo de hierro, a través de las técnicas de **Fluorescencia de Rayos X (FRX), Sigma** (medición de hierro).

Es importante mencionar que la técnica de **FRX** permite el análisis cuantitativo de hierro sérico y total en forma de hierro intracelular y extracelular parámetro que es difícil de evaluar por otras metodologías, las que no cuentan con la sensibilidad necesaria.

Es necesario hacer notar que el presente trabajo pretende establecer un nuevo método para el análisis de hierro total en sangre con el objeto de que sea utilizado como método confiable y seguro, en la determinación de los casos de anemia ferropriva, permitiendo por consiguiente establecer la gravedad de los mismos.

IV

OBJETIVOS

1. Determinar valores sanguíneos de hierro total a través del método de Fluorescencia de Rayos X en una población de 30 embarazadas, para diagnosticar anemia ferropriva.
2. Determinar la relación entre el método Sigma y Fluorescencia de Rayos X, con geometría de 45° para el análisis de hierro total sérico y hierro total circulante.
3. Implementar una nueva metodología para la cuantificación de hierro en anemia ferropriva.

REVISION BIBLIOGRAFICA

A. ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO**1. DEFINICION:**

La anemia por deficiencia de hierro ocurre cuando las reservas corporales de hierro se hacen inadecuadas para cubrir las necesidades de la eritropoyesis normal. La anemia ocurre en fase tardía de la deficiencia y se caracteriza por ser hipocrómica y microcítica, con baja concentración de transferinas aproximadamente de 15% o menos (12).

2. ETIOLOGIA:

La anemia ferropénica se debe a una ingesta dietética insuficiente, a pérdida hemática, o a la falta de capacidad para utilizar las reservas existentes, o interferencia en su absorción, que le permitan satisfacer los requerimientos normales (3,7).

Un balance negativo produce ante todo una reducción de las reservas de hierro y eventualmente una disminución paralela de las enzimas relacionadas con el hierro, observándose por último producción limitada y anormal de glóbulos rojos. La depleción de las reservas puede reconocerse por una ferritina plasmática menor de 12 ug. por litro y por la ausencia de hemosiderina en el aspirado de médula osea. La eritropoyesis deficiente en hierro, definida como la provisión subóptima de hierro al eritrón, se identifica por la menor saturación de la transferina hasta menos del 16%, por un aumento por encima de los valores normales de protoporfirinas en los glóbulos rojos. La anemia por deficiencia de hierro corporal esencial se asocia con una disminución reconocible de la concentración sanguínea de hemoglobina (2,3).

La importancia de una leve deficiencia de hierro consiste más en identificar las causas subyacentes de la deficiencia que en cualquier sintoma relacionado con el estado de carencia. La pérdida de hierro del cuerpo no se debe a una excreción en sentido ordinario sino más bien a pérdidas de células intactas que lo contienen (3,12).

Las causas de pérdidas diarias basales de hierro son; la descamación de células superficiales que contiene pequeñas cantidades del hierro funcional y de depósito de la piel y los tractos gastrointestinales y urinarios; las pérdidas gastrointestinales mínimas de sangre se producen incluso en las personas sanas (10).

3. MANIFESTACIONES CLINICAS:

En algunos pacientes, la anemia se descubre por coincidencia, cuando los signos y los síntomas presentes son los de la enfermedad que condujo a la deficiencia. En otros, existen sólo los síntomas de deficiencia de hierro, y la enfermedad que condujo a la deficiencia es oculta (4,12).

Las lesiones bucales asociadas con deficiencia de hierro incluyen estomatitis angular (ulceraciones o fisuras en las esquinas de la boca), atrofia de las papilas linguales, la ocrea (atrofia crónica de las mucosas nasales asociadas al flujo maloliente), las cuales ocurren en algunos pacientes con deficiencia de hierro. El adelgazamiento y aplastamiento de las uñas en cuchara se ha descrito en pacientes con deficiencia de hierro (12).

Las molestias gastrointestinales como anorexia, pirosis, flatulencia, náuseas, estreñimiento y erupción son comunes en asociación con deficiencia de hierro. El bazo aumenta un poco de tamaño alrededor del 10% de los pacientes con anemia por deficiencia de hierro. No hay cambios patológicos específicos en el órgano, y la esplenomegalia cede al corregir la deficiencia de hierro. Además del 15 a 30% de los pacientes refieren dolores neurálgicos,

entumecimientos y hormigueo, sin que haya anomalías neurológicas objetivas, y en raras ocasiones la anemia por deficiencia de hierro provoca aumento de la presión intracraneal, papiledema y cuadro clínico de pseudo-tumor cerebral (12).

4. DIAGNOSTICO:

Para investigar anemia se debe partir de la historia clínica; en este caso el interrogatorio debe considerarse y relacionarlo con los síntomas, que nos permita descartar los problemas respiratorios y circulatorios (1,11).

La rapidez del inicio de anemia, la intensidad, la edad del paciente y la capacidad del sistema cardiovascular de ajustarse a los diferentes cambios, deben evaluarse adecuadamente a fin de establecer y corregir la severidad del proceso. Los signos cardíacos de anemia más comunes son usualmente sístoles audibles de intensidad moderada y el ritmo de galope. Se ha descrito cambios electrocardiográficos el más común es la unión ST, aplanamiento o inversión de la onda T, y anormalidad de conducción AV. Estos signos desaparecen cuando la anemia es corregida (8,11).

Los síntomas de anemia en la piel, la palidez puede ser detectada en las membranas mucosas de la boca, laringe, las conjuntivas y los labios, con disminución de la elasticidad normal y tono de la piel (8).

El diagnóstico de las anemias incluye en primer lugar establecer la magnitud de la misma y luego explica su causa. Para la confirmación de laboratorio la prueba más práctica es el hematocrito, la medición de la concentración de la hemoglobina y recuento de glóbulos rojos. Una vez documentada la anemia, la investigación prosige con pruebas básicas de laboratorio; frotis de sangre; recuento de reticulocitos; recuento de glóbulos blancos, plaquetas y aspiración de médula ósea (2,12).

Son de mucha utilidad las clasificaciones morfológicas de la anemia, los índices eritrocíticos como el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media; los cálculos de volumen corpuscular media (VCM) y de hemoglobina corpuscular media (HCM) requieren un recuento de glóbulos rojos; el más seguro de los índices es la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), ya que depende de los valores de hematocrito y hemoglobina, que se obtienen con poco error (2,3).

La concentración plasmática de hierro en general no es menos de 50 $\mu\text{g/dl}$, y la capacidad plasmática total de captación de transferrina es del orden del 15%. La concentración de transporte de ferritina plásmática es en general menor de 10 ng/ml . (12)

Los procedimientos más utilizados para la cuantificación de hierro en la sangre son: 1. Sigma. es una técnica colorimétrica de punto final en el que se mide el hierro sérico total. Se basa en un agente reductor en presencia de un pH ácido, el hierro unido a la transferrina se disocia y reacciona con ferrozina formando un complejo color magenta. Efectuándose las lecturas a una longitud de onda de 560nm. La capacidad insaturada de fijación del hierro (UIBC) se determina a un pH alcalino agregándole una cantidad de standard ferroso al suero que se une a la transferrina para llenar todos los sitios disponible de unión en la proteína. El hierro remanente no unido se mide coloremétricamente utilizando ferrozina. la diferencia entre la cantidad de hierro no unido y la cantidad de hierro añadido es la capacidad total de fijación del hierro (UIBC). La capacidad de fijación del hierro (TIBC) es la suma del hierro total sérico y el (UIBC). Los valores de referencia indican para el hierro total una cantidad de 35-140 $\mu\text{g/dl}$ y para TIBC 245-420 $\mu\text{g/dl}$. 2. MERK. se basa en la asociación del hierro a la proteína transferrina en un tampón débilmente ácido, el hierro es separado quedando las proteínas

séricas en solución. Tras la reducción con ascorbato de sodio, el hierro se transforma con un reactivo específico (ácido baxofenentrolidisulfónico, sal disódica y fosfato de sodio) en un compuesto de color rojo y se determina fotométricamente estimando los valores aproximados entre 526 ug/dl a una longitud de onda de 546 nm.

3. DE WONG. El hierro es liberado por la digestión de la sangre con ácido sulfúrico y persulfato de potasio. Después de precipitar las proteínas con el ácido túngstico, el hierro del filtrado sin proteínas reacciona con tiocianato formándose el tiocianato férrico pardo rojizo. La absorbancia del color resultante se compara en el espectrofotómetro con la de una solución patrón de hierro. La cantidad de hemoglobina que corresponde a este hierro puede calcularse empleando la cifra 0.338g de hierro por 100g. de hemoglobina. Se leen las absorbancias del testigo y del patrón a 540 nm, estableciendo la absorbancia cero con el blanco.

* Los cálculos se efectúan de la siguiente manera:

absorbancia del problema * 50 = hierro por 100 ml. de sangre,
absorbancia del patrón * 3.38 mg de hierro por 100 ml de sangre.

4. MÉTODOS PRIMARIOS DE MEDICIÓN DE HEMOGLOBINA: La hemoglobina (Hb) es una proteína conjugada formada por una globina y un grupo prostético denominado hemo. Es un pigmento de color rojo que contiene hierro al estado ferroso y al que corresponde la función fisiológica del transporte de oxígeno y del anhídrido carbónico, Entre los parámetros considerados como normales para la hemoglobina se puede destacar :

- La capacidad de oxigenación de la hemoglobina = 1.34 cc. por gramo (factor de hlufner).
- La hemoglobina constituye aproximadamente el 34 % de un eritrocito normal.
- La Hb constituye aproximadamente 85% del peso de un eritrocito

desechado. Existen dos métodos primarios para medir la hemoglobina:

CONTENIDO DE HIERRO EN LA SANGRE: CIANOMETAHEMOGLOBINA:

Se diluye la sangre en una solución de ferricianuro potásico. El ferricianuro potásico oxida las hemoglobinas a hemiglobina (Hi metahemoglobina) y el cianuro potásico proporciona los iones cianuro para formar hemiglobincianuro (HiHCN) que tiene una absorción máxima amplia a una longitud de onda de 540 nm. La capacidad de absorción de la solución se mide en un fotómetro o espectrofotómetro a 540 nm y se compara con la de una solución de HiCN standard.

El disolvente es el reactivo de Drabkin modificado con detergente: ferrocianuro potásico (0.20g) cianuro potásico (0.05 g); fosfato potásicodihidrogeno anhidrido (0.14 g) y un detergente no iónico, por ejemplo, serox S.E (0.5ml). La solución es de color amarillo claro y pálido con un pH entre 7.0 - 7.4 y debe dar una lectura de cero cuando se mide en el fotómetro a 540 mn. frente a un patrón de agua. El disolvente se conserva en frasco oscuro a temperatura ambiente por período de un mes.

Se añaden 20 ul de sangre a 5 ml. del disolvente diluido (1:25) bien mezclados y se mantiene a temperatura ambiente durante al menos 3 minutos. Se determina la capacidad de absorción frente al blanco en el espectrómetro a 540nm, o con un filtro apropiado. Se mide la capacidad de absorción a temperatura ambiente y en forma similar la muestra del HiCN standard. Los valores de Hb se calcula para cada

solución mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Hb(g/dl)} = \frac{\text{muestra prueba}_{A540} * \text{standard}_{(mg/dl)} * 251}{100 \text{ mg/g}} \text{ standard } A540$$

La ventaja del método del HiCN es que se mide la mayoría de las formas de hemoglobina (Hb, HbO₂, Hi y HbCO). La prueba se puede comparar directamente con el standard, HiCN, y las lecturas pueden

hacerse a conveniencia debido a la estabilidad de las muestras diluidas.

La Fluorescencia de Rayos X; por este método se logra análisis cuantativo de uno o varios elementos de una muestra mediante las mediciones de intensidades de las correspondientes radiaciones características de los elementos.

El empleo de un conjunto de muestras patrón, permite construir una curva de calibración, o bien deducirse una función que relacione la intensidad de la radiación seleccionada con la concentración del elemento.

La Fluorescencia de Rayos X, por su rapidez, caracter no destructivo del material analizado y amplia aplicabilidad, es una técnica muy adecuada para el análisis cuantitativo, permitiendo la identificación de todos los elementos de número atómico superior a 8.

El dispositivo de salida de los datos para análisis cuantitativo en los espectrómetros dispersivos en energía suele ser un sistema de video, en él aparece la intensidad como función de la energía de los fotones, con lo que se logra la identificación de uno o de los elementos presentes en la muestra.

En los equipos modernos se suele acoplar un pequeño computador que aparte de otras funciones posibilita la automatización del análisis.

5. PRONOSTICO:

El pronóstico de la deficiencia de hierro sólo se relaciona con el trastorno subyacente que causó la anemia. Los pacientes rara vez o nunca mueren debido a la anemia por deficiencia de hierro, pero pueden morir por complicaciones o causas subyacente. La recurrencia de la anemia por deficiencia de hierro después del tratamiento es común, lo que se trata es de señalar la importancia de identificar y tratar eficazmente la causa de la deficiencia. (12)

6. TRATAMIENTO:

Debe hacerse el máximo esfuerzo por reconocer y si es posible corregir la causa subyacente. Un objetivo más simple es corregir la anemia y restaurar las reservas corporales de hierro. El sulfato ferroso es el preparado standar para uso oral, la dosis diaria de aproximadamente 200 mg de hierro elemental, produce una reacción óptima.

Cuando se administran dosis adecuadas de hierro a menudo hay mejoría subjetiva rápida, con reducción de fatiga, lasitud y otros síntomas inespecíficos (3,7).

El tratamiento de hierro parenteral deberá reservarse para los pacientes siguientes; 1. aquellos que son incapaces de tolerar los compuestos de hierro administrados por via oral, 2. cuando por repetidas veces no se ajusta a las instrucciones o son incapaces de cumplir, 3. Pacientes que pierden sangre a ritmo demasiado rápido para compensarlo por ingestión de hierro, 4. Sufrir de colitis ulcerosa, enteritis regional en donde los síntomas puedan agravarse por tratamiento de hierro oral, 5. Pacientes incapaces de absorber por via gastrointestinal (3,12)

El tratamiento por via parenteral de hierro en forma de complejo, de hierro y dextrán, contiene 50 mg. de hierro en forma de solución por milimetro y es el preparado de elección que puede ser administrado por via intramuscular o intravenosa. La administración intravenosa y la via intramuscular no producen efectos adversos. Despues de la prueba de hipersensibilidad, puede administrarse 10 ml. (500 mg de hierro) durante 5 minutos por via intramuscular. Suele administrarse por via intravenosa la solución 1:20 hierro-dextran en solución salina a 20 gotas por minuto (3,4).

MATERIALES Y METODO**A. TIPO DE ESTUDIO:**

- Experimental.
- Descriptivo

B. MATERIALES Y SUJETOS DE ESTUDIO:

- 5 cc. de sangre de pacientes embarazadas

MARCO MUESTRAL:

30 mujeres en estado de gravidez despues del 1er.trimestre

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

- 30 pacientes embarazadas

VARIABLES:

- Análisis del método de FRX.
- Análisis del método Sigma.
- Edad de las pacientes
- Periodo de gravidez
- Ocupación

RECURSOS**a. RECURSOS LEGALES Y ETICOS:**

Se tomó la muestra de aquellas pacientes que estuvieron anuentes a participar en el estudio, garantizando que los resultados sean confidenciales proporcionandolos solamente a los interesados.

b. RECURSOS HUMANOS:

- Asesor Dr. Goleath Gutierrez DGEN.
- Revisor Dr. Edgar de Leon U.S.A.C.
- Estudiante de la facultad de ciencias médicas.
- Especialista en Fluorescencia de Rayos X.

C. RECURSOS MATERIALES:

- Libros y textos de consulta.
- Laboratorio de la DGEN.
- Boleta de recolección de datos.
- Materiales de oficina.
- Entrevista.

TECNICA Y PROCEDIMIENTOS

1. Determinación del porcentaje de hierro en sangre por Fluorescencia de Rayos X con geometria de 45°
 - Toma de muestra (sangre humana de 5cc heparinizada en 30 pacientes).
 - Pesar las muestras de sangre.
 - Liofilizar muestras de sangre.
 - Pesar las muestras de sangre liofilizada.
 - Hacer dos pastillas de aproximadamente 0.2000 g. para cada muestra.
 - Encender el generador de rayos X y fijar las condiciones de operación en 40 Kv y 20 mA.
 - Pesar las pastillas de sangre.
 - Colocar las pastillas en el porta-pastillas en el sistema de 45 e irradiar por 1000 segundo.
 - Grabar el espectro obtenido por medio de el multicanal en el disco duro de la computadora, y obtener las áreas de fotopícos para hierro por medio del programa para computadora AXIL.
 - Colocar sobre la pastilla un blanco secundario (target) en el sistema de 45 e irradiarla por 200 segundos.
 - Anotar el área del fotopíco de hierro obtenido del multicanal.
 - Colocar la pastilla de Fe_3O_2 en el porta-pastilla en el

sistema de 45° e irradiarla por 200 segundos.

- Anotar el area para el fotopíco de hierro obtenido por medio del multicanal.
- para los cálculos se utilizara la fórmula para cada muestra:

$$a\alpha d = - \ln (I - I' / I)$$

I: pastilla + target
I: pastilla sólo
I: target sólo

$$id = I * a\alpha d / S (1 - e^{-a\alpha d})$$

$$d = \text{masa pastilla} / 4.01$$

$$\%p/P = id / d * 100$$

2. Determinación de la concentración de hierro total por el técnica de Sigma.
 - a. Designar tubos para blanco, standard y prueba y agregar 1000 ul de buffers para hierro.
 - b. Al blanco agregar 200 ul de agua libre de hierro.
Al standard agregar 200 ul de standard de hierro
A la prueba agregar 200 ul de suero.
 - c. Mezclar, leer y reportar la absorbancia de la prueba y standard contra el blanco a 560nm. * Esto es absorbancia inicial
 - d. A cada tubo agregar reactivo de color para hierro en 20 ul mezclar completamente y luego colocar en baño de agua a 37 °C para 10 min.
 - e. leer y anotar absorbancia de prueba y standard contra blanco a 560 nm. * Esto es la absorbancia final

CALCULOS: (Para hierro sérico Total) ug/dl

$$\frac{\text{Absorb. final prueba} - \text{Absorb. inicial prueba}}{\text{Absorb. final stand.} - \text{Absorb. inicial stand.}} \times 500$$

* Concentración ug/dl de hierro sérico total

- 2a. Deterninar la capacidad de fijación del hierro.

-Designar tubo para blanco, standard y prueba agregar buffers de UIBC en 1000 ul

VII
PRESENTACION DE RESULTADOS

REPUBLICA DE GUATEMALA
INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA

CUADRO # 1

% DE HIERRO EN SANGRE TOTAL LIQUIDA NO TRATADA, SEGUN
FLUORESCENCIA DE RAYOS X, CONDICIONES DE OPERACION DEL
EQUIPO. TUBO DE MOLIBDENO 40 Kv 20 mA 1000 SEG.
GUATEMALA, OCTUBRE 1992

No.	FEY en Hierro %	EDAD	GESTACION	PARIDAD	OCUPACION
1	.08516	39	14	2	AMCAS
2	.05360	18	28	1	AMCAS
3	.04795	28	16	2	AMCAS
4	.06009	22	26	1	SIN
5	.04866	26	20	2	SIN
6	.04432	33	33	3	AMCAS
7	.05914	38	26	9	ADNAV
8	.05503	31	32	3	SIN
9	.05881	19	22	0	AMCAS
10	.06448	38	14	4	AMCAS
11	.07205	18	26	0	AMCAS
12	.05940	40	19	0	AMCAS
13	.06150	36	27	4	TORTI
14	.07792	39	22	3	AMCAS
15	.07755	37	32	4	VERDU
16	.06944	34	23	5	AMCAS
17	.06439	36	19	6	AMCAS
18	.04373	19	28	0	SIN
19	.06081	35	32	1	AMCAS
20	.03008	42	38	6	AMCAS
21	.05893	40	17	5	AMCAS
22	.06281	23	18	1	AMCAS
23	.06218	21	32	0	SIN
24	.05841	28	27	3	TORTI
25	.04158	21	20	1	ALMAC
26	.07988	34	29	2	AMCAS
27	.06881	24	33	1	AMCAS
28	.06274	24	37	1	AMCAS
29	.06566	19	32	0	AMCAS
30	.06751	28	32	0	AMCAS

AMCAS= AMA DE CASA
SIN= SIN OCUPACION
TORTI= TORTILLERA
VERDU= VERDULERA

FUENTE:

5 cc. de sangre liofilizada en 24 horas, de la que
se hicieron pastillas de 2.5 cm de diametro.

CUADRO # 2

HIERRO EN SANGRE, EN ANEMIA FERROPRIVA,
SEGUN PRUEBA SIGMA, GUATEMALA, OCTUBRE 1992

N.	SIGMA $\mu\text{g/dl}$	EDAD	GESTACION	PARIDAD	OCUPACION
1	424.68	39	14	2	AMCAS
2	463.58	18	28	1	AMCAS
3	173.22	28	16	2	AMCAS
4	383.30	22	26	1	SIN
5	262.53	26	20	2	SIN
6	462.87	33	33	3	AMCAS
7	72.650	38	26	9	ADNAV
8	476.07	31	32	3	SIN
9	332.32	19	22	0	AMCAS
10	353.68	38	14	4	AMCAS
11	469.60	18	26	0	AMCAS
12	548.74	40	19	0	AMCAS
13	482.90	36	27	4	TORTI
14	384.86	39	22	3	AMCAS
15	540.21	37	32	4	VERDU
16	307.39	34	23	5	AMCAS
17	362.05	36	19	6	AMCAS
18	353.35	19	28	0	SIN
19	539.46	35	32	1	AMCAS
20	320.76	42	38	6	AMCAS
21	323.65	40	17	5	AMCAS
22	451.12	23	18	1	AMCAS
23	502.10	21	32	0	SIN
24	486.90	26	27	3	TORTI
25	487.40	21	20	1	ALMAC
26	469.53	34	29	2	AMCAS
27	479.18	24	33	1	AMCAS
28	685.33	24	37	1	AMCAS
29	642.57	19	32	0	AMCAS
30	638.30	26	32	0	AMCAS

AMCAS= AMA CASA
SIN= DESOCUPADA
TORTI= TORTILLERA
VERDU= VERDULERA

FUENTE: Boleta de datos

CUADRO # 3

HIERRO EN SANGRE TOTAL LIOFILIZADA, SEGUN FLUORESCENCIA DE RAYOS X, CONDICIONES DE OPERACION DEL EQUIPO, TUBO DE MOLIBDENO 40 Kv 20 mA, 1000 SEG. GUATEMALA, OCTUBRE 1992

No.	$\mu\text{g/g}$ Primer	$\mu\text{g/g}$ Segundo	$\mu\text{g/g}$ Media	Des/Stand	Humedad %
1	4.270	4.248	4.26	.012	80
2	2.691	2.669	2.68	.011	80
3	3.221	2.107	2.66	.557	82
4	3.751	3.009	3.38	.371	82
5	2.910	2.199	2.55	.356	81
6	2.295	2.137	2.22	.079	80
7	2.709	2.750	2.73	.020	78
8	2.685	2.818	2.75	.067	80
9	2.676	2.725	2.70	.024	78
10	3.336	3.112	3.22	.112	80
11	3.431	3.271	3.35	.080	79
12	3.128	2.548	2.84	.290	79
13	2.435	2.485	2.46	.025	75
14	3.031	3.202	3.12	.085	75
15	3.278	2.926	3.10	.176	75
16	3.317	2.238	2.78	.540	75
17	2.242	3.026	2.63	.392	76
18	2.495	2.534	2.51	.019	83
19	2.380	3.025	2.70	.323	78
20	1.852	1.958	1.91	.053	84
21	2.526	2.105	2.32	.210	76
22	3.107	2.736	2.92	.186	79
23	2.238	2.322	2.28	.042	73
24	2.736	2.845	2.79	.054	79
25	2.208	2.615	2.41	.204	83
26	3.028	3.072	3.05	.022	62
27	2.770	2.907	2.84	.069	76
28	3.270	2.594	2.93	.338	79
29	3.141	2.256	2.70	.443	76
30	3.075	2.551	2.81	.262	76

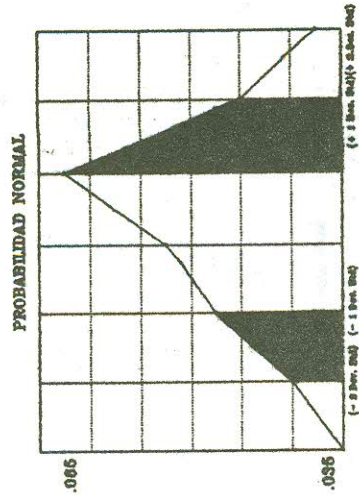
FUENTE:

5 cc. de sangre liofilizada en 24 horas, de la que se hicieron pastillas de 2.5 cm de diametro

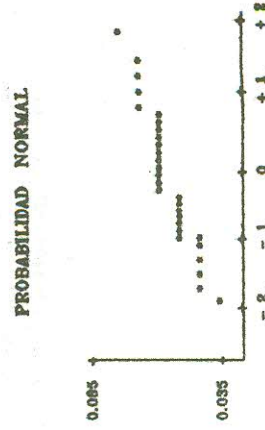
VARIABLE = HIERRO CIRCULANTE

MOMENTOS

N = 30
 MEDIA .06075
 DEV. STD. .01202
 C.V. 19.79000
 VARIANZA 1.44600
 MEDIA STD. .00219



QUANTILES	MINIMOS	MAXIMOS
100% MAX.	.03008	.07205
75% Q3	.04158	.07755
50% MED.	.04373	.07792
25% Q1	.04432	.07988
0% MIN	.04795	.08516



VARIABLE = EDAD
MOMENTOS

N = 30
 MEDIA 29.50000
 DEV. STD. 8.02030
 C.V. 27.1570
 VARIANZA 64.32644
 MEDIA STD. 1.46314

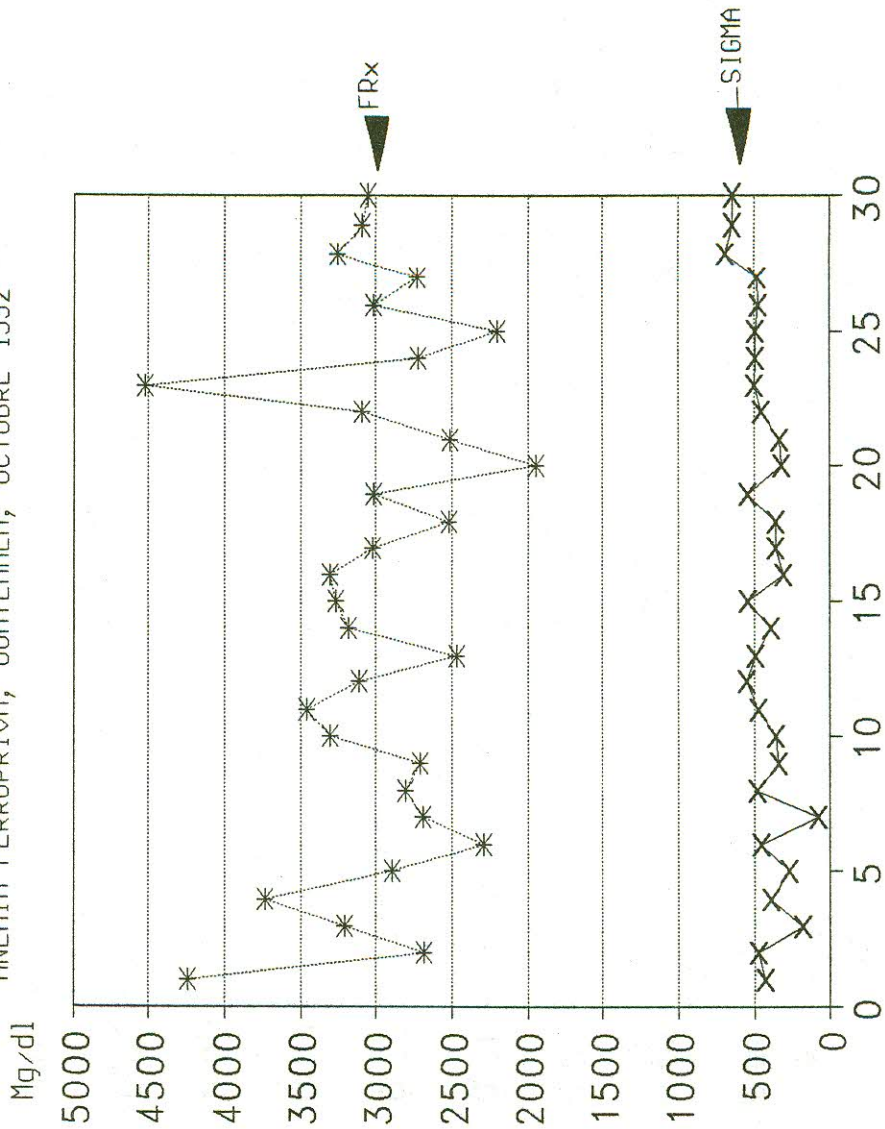
QUARTILES	EXTREMOS	
	MINIMOS	MAXIMOS
100% MAX.	42	39
75 % QS	37	39
50 % MED.	29.5	40
25 % Q1	22	40
0 % MIN	18	42

VARIABLE = PERIODO DE GESTACION
MOMENTOS

N = 30
 MEDIA 25.6
 DEV. STD. 6.88120
 C.V. 26.87990
 VARIANZA 47.55172
 MEDIA STD. 1.25634

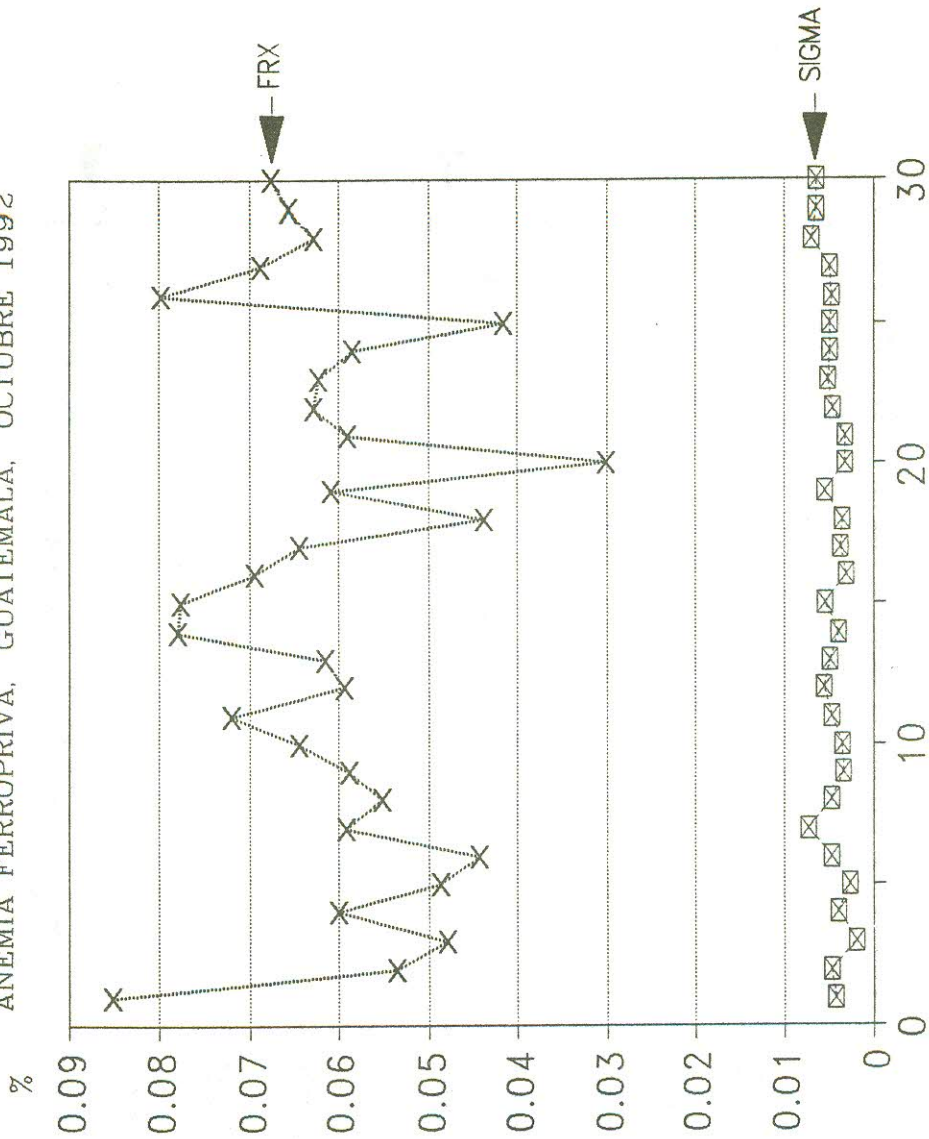
QUARTILES	EXTREMOS	
	MINIMOS	MAXIMOS
100% MAX.	38	32
75 % QS	32	33
50 % MED.	26.5	33
25 % Q1	20	37
0 % MIN	14	38

GRAFICA # 3
 TECNICA DE FLUORESCENCIA DE RX Y SIGMA EN
 ANEMIA FERROPRIVA, GUATEMALA, OCTUBRE 1992



FUENTE: CUADRO 1 Y 2

GRAFICA # 4
 TECNICA DE FLUORESCENCIA DE RX Y SIGMA, EN
 ANEMIA FERROPRIVA, GUATEMALA, OCTUBRE 1992



ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Los hematólogos al describir el hierro en sangre lo hacen basándose en la transferrina determinada, como el caso del Dr. Alberto Restrepo, en su obra de Hematología (15), también se menciona a Bernardo Houssay (Premio Nobel en Fisiología) en la obra Fisiología Humana, (16) y muchos más libros de texto de diversos autores revisados, que utilizan los valores de la técnica Sigma para medición de hierro sérico el cual sirve de comparación en este trabajo. Por lo que los resultados que se describen a continuación son un aporte al entendimiento cuantitativo del hierro total en sangre.

En general, los resultados son satisfactorios al lograr determinar el hierro circulante en la sangre de mujeres embarazadas, a través del método de Fluorescencia de Rayos X (FRX) utilizado.

Se hizo una correlación de los datos obtenidos con ambas técnicas Sigma y FRX. Se encontraron 8 pacientes con valores de hierro sérico superiores a los esperados (245 a 420 mg/dl), 19 pacientes con valores de hierro sérico entre los valores esperados y por último 2 pacientes con valores de hierro sérico bajo de lo esperado, según la técnica Sigma. Al relacionarlos con los valores de hierro total, según FRX, se determinó que no existe relación definida entre los valores de los compartimientos de hierro en suero y hierro total circulante.

Ha de entenderse que el hierro sérico según el método Sigma corresponde a la suma del hierro ligado al transportador transferrina y el hierro sérico libre.

El hierro sérico total proporciona el Fe^{+3} que es el sustrato metabólico precursor de globulos rojos, citocromos y reservas férricas circulantes, el cual en condiciones normales responde a los requerimientos fisiológicos.

Si los requerimientos se incrementan (embarazo) ha de aumentar su saturación para satisfacer las necesidades metabólicas en los compartimientos intracelulares y extracelulares, para lo que se requiere cantidades adecuadas del transportador, una reserva adecuada o una dieta que proporcione valor de hierro capaz de ser absorbido y utilizado.

En el presente trabajo se entiende que los valores de hierro intracelular y extracelular, constituyen el valor de hierro circulante total el cual se determina por FRX. El hierro intracelular es el que aporta la mayor cantidad de hierro total circulatorio.

Tanto el valor de hierro sérico como el de hierro circulatorio ha de comportarse de forma diferente, y aunque existe una relación fisiológica entre los compartimentos férricos estos se expresan cuantitativamente diferentes. Las técnicas de análisis químico utilizadas en este estudio (Sigma y FRX) proporcionan datos que permiten observar los valores del hierro en espacios los (sérico y circulatorio respectivamente). Por lo que FRX da un aporte significativo al entendimiento, detección y tratamiento de los casos con anemia, principalmente en aquellos donde las complicaciones del tratamiento férrico requieren de un análisis de hierro circulatorio.

En los casos en donde sólo se requiere la observación de las reservas séricas es posible aplicar las técnicas tradicionales de análisis de hierro (Sigma, Merk, de Wong).

Se pudo observar que el elemento analizado, presenta porcentajes que oscilan entre un valor mínimo de .03008 % y un máximo de .08516 %, obteniendo un valor medio de .06075 y, además una varianza de 1.1446, siendo el esperado de .0450 %, además 4 casos presentaron valores de hierro total circulante por debajo del valor esperado, por lo que se hace necesario la reposición de hierro fundamental e investigar la existencia de causas subyacentes que bloqueen su

utilización.

En cuanto a la distribución porcentual de hierro, se pudo observar el primer cuartil (25%) con valor de .05503 % de hierro encontrando 10 % de las concentraciones de hierro, el segundo cuartil (50 %) con valor de .06115 % teniendo hasta el 90 % de los valores determinados; el tercer cuartil (75 %) con valor de .06751 % con el 95 % y el cuarto cuartil (100 %) con valor de .08516 % con el 99 % de todas las cuantificaciones de hierro obtenidas en el estudio. Los valores de hierro circulante se obtuvieron a través del método de Fluorescencia de Rayos X, dando la concentración de hierro total en cualquiera de sus compartimientos, extracelular o intracelular, ligados a proteínas y en forma libre, valores que se obtienen de forma absoluta y general del elemento.

A diferencia de otras metodologías que son específicas para determinar hierro sérico o depósitos hemáticos de hierro de una manera individual, como el caso de la técnica Sigma, FRX permite obtener valores generales circulatorios que indican la presencia del hierro circulante en cualquiera de sus formas de biodisponibilidad.

La importancia que presenta la determinación de los niveles de hierro circulante, es el poder cuantificar la biodisponibilidad mediata y aunque no necesariamente su forma inmediata en el transportador (transferrina) o en algún depósito (ferritina o hemosiderina), y además tener una idea de niveles circulatorios, que permitan llevar una terapéutica adecuada, sin que el paciente sea sometido a riesgos de intoxicación férrica.

La edad de los 30 pacientes estudiados oscilo entre 18 años y 42 años, con una media de 29.5 años. Así mismo la distribución de las pacientes de acuerdo a la edad, fue de la siguiente manera; en el primer cuartil (25 %) antes de los 22 años, 10 % de la muestra, en el segundo cuartil (medio o 50%) con una edad de 29.5 años, 90 % de los

casos, en el tercer cuartil (75 %) no mayor de 37 años con el 95 % del total de los casos y en el cuarto cuartil (100 %) menores de 42 años y el 99 % de los casos. En las pacientes embarazadas en quienes se determinó hierro circulante, se pudo observar que la distribución se agrupó principalmente entre la 2^{da} y 3^{ra} década, de la vida.

Además la mayor cantidad de pacientes se encontraron entre las edades de 18 a 29 años, del total de las participantes y sin que en ningún caso fuera mayores de los 42 años.

Al respecto de edad gestacional se observó en la muestra de 30 casos, que el período gestacional menor era de 14 semanas y el mayor de 38 semanas, donde la media osciló alrededor de 25.6 semanas, para el período gestacional, en las que participaron voluntariamente en el estudio y posterior al primer trimestre, además conforme a su edad gestacional presentaron una distribución de la siguiente manera; en el primer cuartil (25 %) no mayor de 20 semanas, 10 % en los casos, en el segundo cuartil con 26.5 semanas, 90 % , el tercer cuartil (75 %) en la distribución 32 semanas 95 % de los casos por período y por último el cuarto cuartil (100 %) con una edad que no fue mayor de 38 semanas, 99 % de los casos.

La variable nos permite establecer el período gestacional en el que se encontraban las pacientes y las condiciones en que se tomó la muestra, y poder determinar hierro circulante a través de Fluorescencia de Rayos X a 45^o, dispersiva en energía.

CONCLUSIONES

1. Se estableció que el método de Fluorescencia de Rayos X, proporciona un parametro amplio, general y absoluto de las cantidades circulantes de hierro, cuantificación que permite observar las condiciones de uso y depositos de hierro en las pacientes y con ello poder proponer una mejor terapéutica en los casos de pacientes embarazadas.
2. Se pudo observar la forma como se comportó la muestra, en relación a las concentraciones de hierro circulatorio de la población del control prenatal.
3. Se puede mencionar que este estudio representa un avance significativo en la determinación de hierro circulante y niveles de biodisponibilidad con mayor exactitud. Sin embargo no proporciona información sobre las causas subyacentes que puedan bloquear su utilización.
4. Los resultados obtenidos por medio de Fluorescencia de Rayos X en geometria de 45° , pueden ser considerados un auxiliar de otras metodologías específicas (Sigma), al poder determinar valores de hierro circulatorio y relacionarlo con el transporte de hierro (transferrina), este último como valor específico y el primero como valor general.
5. Se determinó que no existe relación definida entre los valores de compartimientos de hierro en suero y hierro total circulante, estableciendose que únicamente existe intercambio metabólico.

RECOMENDACIONES

1. Efectuar otros estudios con metodologías que permitan la cuantificación de hierro total circulante, para determinar su sensibilidad y especificidad al compararlos a FRX.
2. Continuar realizando mayores estudios a través de Fluorescencia de Rayos X a 45°, a fin de ampliar su utilidad en la ciencia médica, para cuantificación de otros elementos en sangre.
3. Dar a conocer los resultados del presente estudio a los médicos involucrados en el diagnóstico y tratamiento de pacientes anémicas ferroprivas, especialmente para su aplicación en pacientes embarazadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. EUGENE BRAUNWALD Y Col. Principios de medicina interna. Editorial. Interamericano. 1987 Mexico.
2. FREDERIK H. MEYERS y Col. Manual de farmacología clínica. Editorial. Manual Moderno. 1980 Mexico.
3. GOODMAN GILMAN ALFRED. Bases farmacológicas para la terapéutica. Sexta edición. Editorial Panamericana. 1983 Mexico.
4. HUBURGER JEAN, PIERRE GODEAN. Tratado de medicina. Tomo # 2 Editorial. El Ateneo. Buenos Aires, 1985 Argentina.
5. MASAYO DORA MARINA. Informe de Tesis "Niveles de hierro sérico en pacientes preclánticas e hipertensivas crónicas en embarazo. USAC. 1985.
6. MORALES EDUARDO. Químico farmacéutico, informe de tesis " Determinación de eficacia del control visual del efecto producido en Cr, Mn, y Fe por Fluorescencia de Rayos X" facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. 1986
7. MURRAY, ROBERT K. Bioquímica de Harper. Editorial El Manual Moderno 1988, Mexico.
8. ROBIN STANLEY, Ramizi Cotran. Patología estructural y funcional. 3^{era} Edición. Editorial Interamericano. 1986 Mexico.
9. SUROS FORNS, JUAN. Semiología médica y técnica de exploratoria. Editorial Salvat. Barcelona 1984 España.
10. TODD Et al. Diagnóstico y Tratamiento Clínico para el Laboratorio Tomo I, Editorial Salvat 1982.
11. WILLYS J. Medicina Interna. Tomo único. Editorial Panamericana, Madrid 1984 España.

12. WYNDERGER JAIME B. LOYD H. SMITH. Tratado de medicina interna de Cecil. Decimoséptima edición. Editorial Interamericano 1987 Mexico.
13. JOHN BERNARD HERRY . Diagnóstico y Tratamiento Clínico por Laboratorio. Octava edición . Editorial Salvat 1988 Barcelona, España.
14. KAPLAN LAWRENCE A.. Química Clínica . Editorial Panamericana 1990 Madrid, España.
15. HERNAN VELEZ A. Hematología. Tercera edición Editorial Corporación para Investigaciones Biologicas. Colombia 1989 Medellín, Colombia.
16. BERNARDO A. HOUSSAY Fisiología Humana. Quinta edición Editorial El Ateneo 1985, Buenos Aires, Argentina.
17. WINTROBE et al Clinica Hematology. 7th. Ed. U.S.A. CRC PRESS inc., 1974.
18. VLADO VALKOVIC Analysis of Biological Material for Trace Elements using X-Fay Spectroscopy U.S.A. CRC press. inc., 1980.

ANEXO

FLUORESCENCIA DE RAYOS X

La primera evidencia positiva de un espectrometro de rayos X, la obtubo Barkla en los años 1920 y no fué hasta que se empezaron a utilizar ampliamente los espectrometros de rayos X, hasta los años 60 casi todos los espectrometros eran de tipo de Dispersión de Longitud de Onda en los que las longitudes de onda se separan por difracción a través de un cristal, más recientemente se han desarrollado espectrometros de **DISPERSION ENERGETICA** en los que se usa un detector semiconductor de estado solido, de Si (Li), Ge (hp, alta pureza) para una distribución de las energías de la radiación incidente (la separación electrónica de la distribución de alturas de impulsos da el espectro de energía de la radiación incidente.

Interacción de los Rayos X con la materia.

La radiación X constituye una porción del espectro electromagnetico comprendida entre el ultravioleta lejano en la parte de las bajas energías y la radiación gamma en las altas energías.

Cuando la radiación X incide sobre un material, suceden fenómenos de atenuación de la intensidad del rayo: pueden ocurrir varios tipos de interacción cuyas magnitudes son fuertemente influenciadas por la energía del rayo incidente, su grado de monocromatización y el promedio del número atómico y estructura cristalina de la materia.

Dispersión de rayos X. Los electrones son los responsables de la dispersión de los rayos X por la materia.

Cuando se produce una colisión elástica entre un fotón y un electrón, es decir sin pérdida de energía, el fotón emerge con su longitud de onda inicial, teniendo lugar únicamente una desviación en su trayectoria (dispersión coherente o de rayleigh) en el caso de que el fotón pierda parte de su energía durante la colisión (lo que suele ocurrir cuando se trata de electrones no muy fuertemente unidos al núcleo) (la dispersión recibe el nombre de incoherentes o de Compton.

Efecto fotoeléctrico. A nivel atómico, un fotón puede colisionar con un electrón y si la energía de enlace de este último es menor que la del fotón, es posible que el electrón absorba la energía total del fotón. El fotón desaparece en este proceso; el electrón es impulsado a una capa y se le llama FOTOELECTRON.

El electrón es emitido con una energía $E - 0$, donde E es la energía original del fotón y 0 es la energía de enlace de este último en su capa, si se llega a remover uno de los electrones K, la vacante dejada representa una situación inestable; consecuentemente, será llenada por un electrón de una capa energética más externa (capa L). Durante esta transición se emite un fotón de rayos X (característico del elemento que ha sido excitado) como resultado de la diferencia energética entre las capas K, L. La nueva vacante dejada por el electrón de la capa L, será llenada a su vez por un electrón de la capa M, emitiéndose otro fotón de rayos X y así sucesivamente.

También puede darse el caso de que la energía de rayos X característico sea absorbida por un electrón externo (que es expulsado del átomo) la probabilidad para la ocurrencia de este fenómeno esta descrita por el rendimiento de Fluorescencia W (que tiene valores entre 0 y 1) Para elementos de número atómico bajo, es más probable que ocurra la emisión de electrones externos. Para elementos de número atómico alto. Hay mayor probabilidad para la ocurrencia de emisión de rayos X Característicos.

Coefficiente de absorción Másico. como ya se discutio, cuando un haz de rayos X pasa a través de un material, algunos de los fotones sufrirán interacciones con los átomos que componen la sustancia; la interacción son ; efecto fotoeléctrico, dispersión incoherente y difracción (que es el caso especial de la dispersión coherente).

La fracción de fotones que pasa a través del material sin interactuar se describe convenientemente utilizando el concepto del coeficiente de Absorción Másico. La cantidad de absorción es función del espesor de la sustancia (x), su densidad (ρ) y el coeficiente de absorción (μ) ; este proceso viene regido por la ley de Bouguer-beer o de Lambert-beer: $I = I_0 \exp(-\mu \cdot x \cdot \rho)$ en donde i es la intensidad del haz emergente e I_0 es la intensidad del haz original.

El valor de μ depende únicamente de la energía del haz primario y del número atómico del elemento absorbente, siendo independiente con bastante aproximación de su estado físico y químico. En el caso de sustancias formadas por elementos diferentes, el valor de μ será igual a la suma de los productos de los coeficientes de los correspondientes elementos por su respectivas concentraciones.

Si se representa el coeficiente de absorción másico de un elemento en función de la energía, se observa la existencia de cierto saltos que recibe el nombre de discontinuidades de absorción. Estas corresponden a las energías de enlace de los electrones en los niveles atómicos, y de manera que cuando la longitud de onda de la radiación incidente es menor (en energía superior) que la de una de las discontinuidades, un electrón puede ser expulsado del átomo.

Instrumentación.

Un espectrometro de rayos X consta de los siguientes componentes: fuente de excitación; sistema de detención; sistema dispersor, registro y medición.

Fuente de excitación. La energía necesaria para la ionización del átomo (energía de excitación) la recibe éste mediante colisión con una partícula cargada (protón, partícula alfa o electrón) dotada de velocidad elevada, o por absorción de un fotón (cuanto de radiación X o gamma) de energía adecuada.

Hoy día se utilizan principalmente dos fuentes de energía de excitación (en el caso de la Fluorescencia de Rayos X dispersiva en energía) los radioisotopos (emisores de radiación X o gamma) que constituyen una fuente barata, compacta, estable y muy adecuada para operar en zonas limitadas de energía y un generador de rayos X (tubo de mo) que generalmente da una mayor producción de fotones de radiación comparado con las fuentes radiactivas.

Detectores.

la función de los detectores de rayos X es convertir la energía de los fotones en impulsos de tensión, capaces de ser contados, con los que se tiene una medida de flujo total de radiación. Los detectores utilizados en la actualidad son casi sin excepción proporcionales, i.e. poseen la propiedad de que la energía del fotón incidente determina la magnitud del impulso formado. Esta característica permite el empleo de la sección de alturas de impulsos, descritas más adelante.

Los detectores más utilizados actualmente son los de tipo semiconductor que se basan en el desplazamiento de electrones de valencia a la banda de conducción por radiación X incidente, creando huecos electrónicos; la carga resultante se convierte a su vez en un impulso de tensión. Los detectores de este tipo más empleados corrientemente son los de Silicio o Germanio compensados con Litio.

Las principales desventajas de este tipo de detector son; su relativo escaso poder de resolución para energía inferiores a veinte kiloelectrones-voltios y la necesidad de mantenerlo a temperatura criogénicas.

Selección de altura de impulsos. En los detectores proporcionales, cada energía se convierte en un impulso de tensión o más exactamente en una distribución de impulsos aproximadamente gaussiana, como consecuencia de la fluctuación estadística del número de cargas producidas. Estas distribuciones tienen una anchura tal que las interferencias entre radiaciones de energía similares son frecuentes.

El selector de altura de impulsos, provistos de un umbral de tensión y de una anchura de ventana variable (en unidades de tensión, generalmente algunos decivoltios) posibilita que sólo pase a los circuitos de recuento, un intervalo determinado de amplitudes de tensión.

Sistema de dispersión.

El espectrometro de rayos X es un instrumento capaz de separar las radiaciones que componen el haz complejo emitido por una muestra, para llevar a cabo mediciones individuales de intensidad.

En los espectrometros dispersivos en energía esta función es realizada por un multi-analizador de altura de impulsos o multicanal.

Análisis Cualitativo y Cuantitativo.

El origen de los espectros de rayos X, hay que buscarlos en la teoría cuántica, generalmente aplicada a los espectros atómicos: cuando se suministra al átomo de un elemento, energía suficiente, puede producirse la expulsión de un electrón a los niveles internos del mismo; el átomo pasa ahí a un estado excitado, inestable, de forma que al menos de 8 a 10 segundos vuelve al estado normal, siendo llenada la vacante por un electrón procedente de un nivel energético más externo, cuya vacante es ocupada a su vez por otro electrón más externo.

El átomo regresa entonces a su estado fundamental en varias etapas o transiciones electrónicas, en cada una de las cuales pasa un electrón de un nivel a otro de menor energía, emitiéndose el exceso

de la misma $[E(2)-E(1)]$ en forma de radiación X.

Se cumple que $E(2)-E(1) = hv = hc/\lambda$ [30] siendo h la constante de plank, c la velocidad de la luz, v la frecuencia y λ la longitud de onda.

El creador de la técnica analítica, H. Moseley, estableció que las energías de las radiaciones emitidas son características del número atómico del elemento emisor [6]. Así mismo formuló la siguiente ecuación:

$$1/\lambda = A*(Z-b)^2$$

en donde a y b son constantes cuyos valores dependen de la radiación en cuestión.

Puesto que para un conjunto de condiciones dadas, tiene lugar simultáneamente diferentes transiciones entre los distintos niveles de energía del átomo, se emitirán a la vez varias radiaciones o líneas características que constituyen en conjunto el espectro de emisión de Rayos X del elemento.

La medición de las energías de las radiaciones procedentes de la muestra permite identificar certeramente los elementos emisores, siendo este el fundamento del análisis cualitativo. Por otra parte, la medición de la intensidad de una o varias de las radiaciones características del espectro de un elemento posibilita la determinación de una concentración en la muestra constituyendo la base del análisis cualitativo.

En general, la intensidad I del pico de una de las líneas características de un elemento dado (i) es función de la sensibilidad (S) del sistema para i , la concentración ($Q-d$) de i en la muestra (en g/cm^2) y del factor de absorción T .

$I(i) = S(i) * Q^i * T$, en donde $T = (1 - e^{-aQd})/aQd$, en donde $a = u(s)(E1) * csc01 + u(s)(Ei) * csc02$, $u(s)(E1)$ es el coeficiente de absorción promedio de la muestra para la energía de la fuente de excitación, $u(s)(Ei)$ es el coeficiente de absorción promedio de la muestra para la energía de los rayos X característico de i y $csc01$ y $csc02$ son constantes geométricas del sistema.

En el caso de que la sustancia formada por elementos diferentes (p.e. a, b, c, \dots) el coeficiente de absorción promedio será igual a la suma de los productos de los coeficientes de los correspondientes elementos por sus respectivas concentraciones.

$$u(E) = u(a) (E) * c(a) + u(b) (E) * c(b) + u(c) (E) * c(c) + \dots$$

Los valores de μ (u) se pueden obtener de la biblioteca de coeficientes de absorción (programa comp barn, de Storm & Israel, distribuido por el Organismo Internacional de Energía Atómica.)