

MARIA JURACY SOLON PETROLA

ESTUDO DO FERRO LIVRE NOS ERITROBLASTOS
DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOÍDE AGUDA

Trabalho apresentado
como requisito final do
IV Curso de Especializa-
ção em Hematologia e He-
moterapia.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA(CE), 1990

AGRADECIMENTOS

- Ao professor Dr. José Murilo de Carvalho Martins pelo exemplo.
- A Dra. Alana Jocelino Montenegro de Castro pelo estímulo e valiosa ajuda.
- A todos os professores do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.
- Aos que fazem o laboratório de Hematologia do H.U.W.C. .
- Aos meus amigos do curso pela alegria de tê-los conhecido.

À minha família pela
compreensão, estímulo e amor.

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
RESUMO	03
INTRODUÇÃO	04
MATERIAL E MÉTODOS	09
RESULTADOS	11
DISCUSSÃO	21
CONCLUSÃO	25
SUMMARY	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

**ESTUDO DO FERRO LIVRE NOS ERITROBLASTOS DE
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA ***

MARIA JURACY SOLON PETROLA **

RESUMO

Estudo da coloração de Perls para ferro livre nos eritroblastos, foi realizado em esfregaços de medula óssea de 31 pacientes com Leucemia Mielóide Aguda (LMA) do Hospital Univiersitário Prof. Walter Cantídio. (HUWC).

Os resultados dos escores foram correlacionados com o sexo e classificação FAB mas não foi observado significância estatística.

A coloração Azul da Prússia não demonstra utilidade de no estudo da LMA.

* Trabalho apresentado como requisito final ao IV Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

** Médica Clínica Geral da STI do Hospital Geral de Fortaleza e da Secretaria de Saúde do Município de Fortaleza.

INTRODUÇÃO

O ferro é um elemento de importância vital no metabolismo humano. O homem adulto possui cerca de 4 a 6g de ferro dos quais 2/3 circulam no interior dos eritrócitos (12), daí a importância de sua demonstração nas células vermelhas como um guia útil para o estudo e diferenciação de várias patologias que afetam o sistema eritropoiético (17), o restante do ferro se distribui sob a forma de ferritina e de hemossiderrina no fígado, baço, medula óssea e musculatura (12). Não se observa traço desse metal nos leucócitos (25). Além de seu papel central na eritropoiese ele está também envolvido em muitos outros processos intracelulares em todos os tecidos do corpo tais como genéticos, de proliferação celular, síntese de proteínas e de defesa do corpo. (1)

população do ferro em processos metab

Nos eritrócitos e seus precursores os grânulos de ferro, demonstrável pela reação do Azul da Prússia, podem se apresentar em forma de agregados citoplasmáticos ou como grandes agregados intramitocondriais. A forma como eles ocorrem tem implicações fisiológicas e patológicas bastante diferentes. (7)

Conforme a etapa de maturação da célula se distinguem:

- os sideroblastos, termo usado em 1954 para definir eritroblastos que continham grânulos de ferro (19), é um achado normal em pessoas sadias.
- siderócitos reticulados são reticulócitos com grânulos de ferro. (7, 19, 22)

- siderócitos são hemácias com grânulos de ferro. Foram primeiramente relatados por Gruneberg, em ratos em 1941. (14)

Os aspectos que distinguem as duas classes de células eritróides sideróticas foi sumariada por Cartwright e Duss (7) como apresentado a seguir.

Em condições normais a maturação do sideroblasto ocorre com expulsão do núcleo e eliminação dos grânulos de ferro que não foram utilizados para a síntese de Heme, ainda na medula óssea. Com alguma frequência, observa-se a liberação, para a circulação do reticulócito com ferritina (siderócito reticulado) (27). O siderócito maduro, às vezes, observado em indivíduos normais pode se dever a maior velocidade de degeneração mitocondrial e do retículo endoplasmático que dos grânulos de ferro. Nestes casos o ferro dos siderócitos são removidos pelo baço. (7, 10)

Os sideroblastos estão diminuídos na anemia por deficiência de ferro (3, 6, 7, 11, 27, 32), febre reumática aguda (6) e deficiência de ácido ascórbico (6); estão normais na anemia aplásica (6), nas anemias das doenças renais (6) e nas infecções (6); estão aumentados nas anemias hemolíticas agudas e crônicas (8, 6, 19, 26) talassemia e anemias megaloblástica (6, 26).

O acúmulo de ferro na mitocôndria dos eritroblastos, visto à microscopia ótica, como um eritroblasto que tem 5 ou mais grânulos de ferro arranjados em anel ao redor do núcleo ou em anel parcial se estendendo a cerca de 1/3 ou mais da circunferência nuclear em esfregaços de medula óssea coradas pelo Azul da Prússia. (6, 7). Não são observadas em condições normais e tem sido observado em muitas patologias, tais como: anemia normoblástica refratária (2, 3, 5, 6, 7), síndrome mieloproliferativa principalmente em uso de quimioterápicos (6, 20, 21), talassemia maior (3, 4, 19,

Título da Tabela?

de ferro

LOCALIZAÇÃO DO FERRO *	TIPO DE CÉLULA	CONDIÇÃO EM QUE É OBSERVADA	MECANISMO DE REMOÇÃO	VALORES NORMAIS
Agregados de ferro citoplasmático	Sideroblastos	Normal (7, 9, 22)	Celular	6 - 76 (16) ** 30 - 50% (7) 20 - 90% (19) 2 - 84% (6) 35 - 80% (27) 40 - 60% (4)
	Siderócito Reticulado	Rápida regeneração do sangue (7, 22)	Celular	0,3% (22) 0,03% (7)
	Siderócito	Após esplenectomia	Esplênica (7, 22)	0,02% (22) 0,01% (7)
	Sideroblastos em anel	Síntese defeituosa de hemoglobina	Celular e morte celular	-
	Siderócito reticulado	Síntese defeituosa de hemoglobina	Esplênica	
Acúmulo de ferro, não férrico, mitocondrial	Siderócito	Síntese defeituosa de hemoglobina	Esplênica	

* Só pela microscopia eletrônica

** Método de "score"

27), anemia responsiva a piridoxina (7, 15, 18, 24, 26), anemia sideroacrística congênita (23, 26) envenenamento por chumbo (3, 4, 11, 19), síndrome de Di Guglielmo (13), anemia hemolítica mecânica (30), porfiria cutânea (13) e terapia com cloranfenicol (13, 18).

O acúmulo de ferro intramitocondrial é sempre uma manifestação morfológica de um particular defeito enzimático (2, 5, 6, 7, 8, 18, 23, 26, 30, 31) quer seja, bloqueio na biossíntese da hemoglobina ou defeito genético na síntese de globina ou bloqueio bioquímico adquirido, como na anemia sideroblástica refratária (4, 15, 18, 26, 29). Fala contra essa idéia o acúmulo intramitocondrial de ferro em pacientes com anemia hemolítica mecânica pós colocação de prótese valvar cardíaca observada por Petz e Goodman (30).

O achado de sideroblastos anormalmente aumentados com disposição em anel, associado a anemia não responsiva foi primeiramente descrita, como uma entidade própria sob o nome de anemia refratária crônica com medula óssea sideroblástica, por Björkman em 1955 (5). Neste estudo de 64 casos o autor faz uma descrição bem detalhada do quadro clínico e laboratorial desta patologia, sugere sua associação com LMA e arrisca considerá-la como "anemia preleucêmica."

A relação de anemia sideroblástica refratária e leucemia mielóide aguda, foi observada também por Dacie e Cols, em 1959, mas a idéia que ele defende é a de que os pacientes com anemia sideroblástica refratária que evoluíram para leucemia mieloblástica na verdade seriam formas muito crônicas de mielose eritrêmica (8). De acordo com Dacie e Cols também estão Dameshek, que em 1965 observou que 50% das anemias sideroblásticas refratárias evoluem para leucemia mielóide aguda e considera esta anemia como a primeira fase da síndrome de Di Guglielmo, a mielose eritrêmica (9) e Hines e Grasso quando concluíram que a anemia sideroblástica

refratária associada à leucose seria um evento secundário à doença de base (18).

A pequena positividade ao PAS observada por Hayhoe e Cols na anemia sideroblástica refratária idiopática (23, 16) reforça a idéia de que esta e a síndrome de Di Guglielmo são patologias distintas.

O objetivo deste trabalho é estudar o comportamento do ferro nos esfregaços de medula óssea de pacientes com leucemia mielóide aguda e comparar os resultados com as observadas na anemia sideroblástica refratária idiopática.

MATERIAL E MÉTODOS

O material estudado consistiu de esfregaços da médula óssea obtidos por punção esternal de 31 pacientes de ambos os sexos, com leucemia mieloide aguda, e de um caso de ASRI diagnosticados no Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Prof. Walter Cantídio (HUWC) da Universidade Federal do Ceará, no período de abril de 1988 a dezembro de 1989.

Os casos foram não consecutivos, classificados pelos critérios FAB. As lâminas estudadas foram as obtidas à época do diagnóstico. Foram coradas para demonstração de ferro e o método de fixação e coloração utilizado é o empregado na rotina do laboratório do HUWC. (Técnica de Kaplan modificada) (19)

A técnica consiste em fixar os esfregaços por 10' no metanol e deixar secar ao ar. Emergir 30 min numa solução ácida de ferrocianeto. Lavar com água destilada. Contra-corar por 8 a 10' com safranina aquosa a 0,1%, filtrada sobre o esfregaço. Lavar com água destilada. Secar a temperatura ambiente.

Os reativos utilizados são:

- . metanol absoluto;
- . solução de ferrocianeto ácido de potássio
 - A ferrocianeto de potássio 1 g
 - água destilada 50 ml
 - B ácido clorídrico 0,2N 50 ml
- . safranina aquosa a 0,1%

1 = minuto
porcor fixar
de emergência
revisão - 10 min
e min.

Cem eritroblastos foram contados e a intensidade da reação de Perls foi avaliada pelo método de "score" proposto por Baumgartner-Staubli/Beck em 1977 (2), que transcrevemos abaixo:

- 0 = nenhum grânulo de ferro
- 1 = um único fino grânulo de ferro
- 2 = dois ou mais finos grânulos
- 3 = um ou mais (≤ 5) grânulos grosseiros
- 4 = numerosos (> 5) grânulos grosseiros

A análise estatística realizada foi descritiva constando de tabelas, gráficos e medidas de tendência central (média aritmética e desvio padrão).

RESULTADOS

Dos 31 casos de LMA estudados, 16 (52%) eram do sexo masculino e 15 (48%) do sexo feminino, (Tabela 1, Gráfico I) com a idade variando de 11 a 60 anos.

Na nossa casuística havia oito (25,8%) casos que pertenciam à classe M_1 , nove (29%) à classe M_2 ; da classe M_3 havia três (9,7%) casos; seis (19,4%) casos pertenciam à classe M_4 ; da classe M_5A havia dois (6,45%) casos; dois (6,45%) eram da classe M_6 e um (3,2%) caso não tinha a classificação. (Tabela 2, Gráfico II)

Os escores do ferro variaram de 0 a 131 com média de 41,28.

Em 16 (52%) casos foi possível a contagem de 100 eritroblastos para o cálculo do escore. Em 7 (23%) casos teve que ser feita uma projeção para cem eritroblastos uma vez que o número encontrado foi menor. Em 6 (19%) não foram visualizados nenhum precursor eritróide na lâmina examinada, nestes caso o escore foi considerado zero. (Tabela 3).

De 2.500 eritroblastos contados, 2.019 (80,76%) não continham grânulos de ferro; em 125 (5%) havia apenas um fino grânulo de ferro; vários grânulos finos de ferro foram encontrados em 173 (6,92%) eritroblastos; grânulos grosseiros de ferro, em número inferior a cinco foram observados em 171 (6,84%) células estudadas. Sideroblastos em anel foi observado em apenas cinco esfregaços e a quantidade de sideroblastos deste tipo era 12 cores, representando a 0,48% dos eritroblastos estudados. (Gráfico III)

TABELA 1
DISTRIBUIÇÃO DE 31 CASOS DE LMA ESTUDADOS
DE ACORDO COM O SEXO

SEXO	NÚMERO DE CASOS	%
MASCULINO	16	52
FEMININO	15	48
TOTAL	31	100

GRÁFICO I
DISTRIBUIÇÃO DE 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA
DE ACORDO COM O SEXO

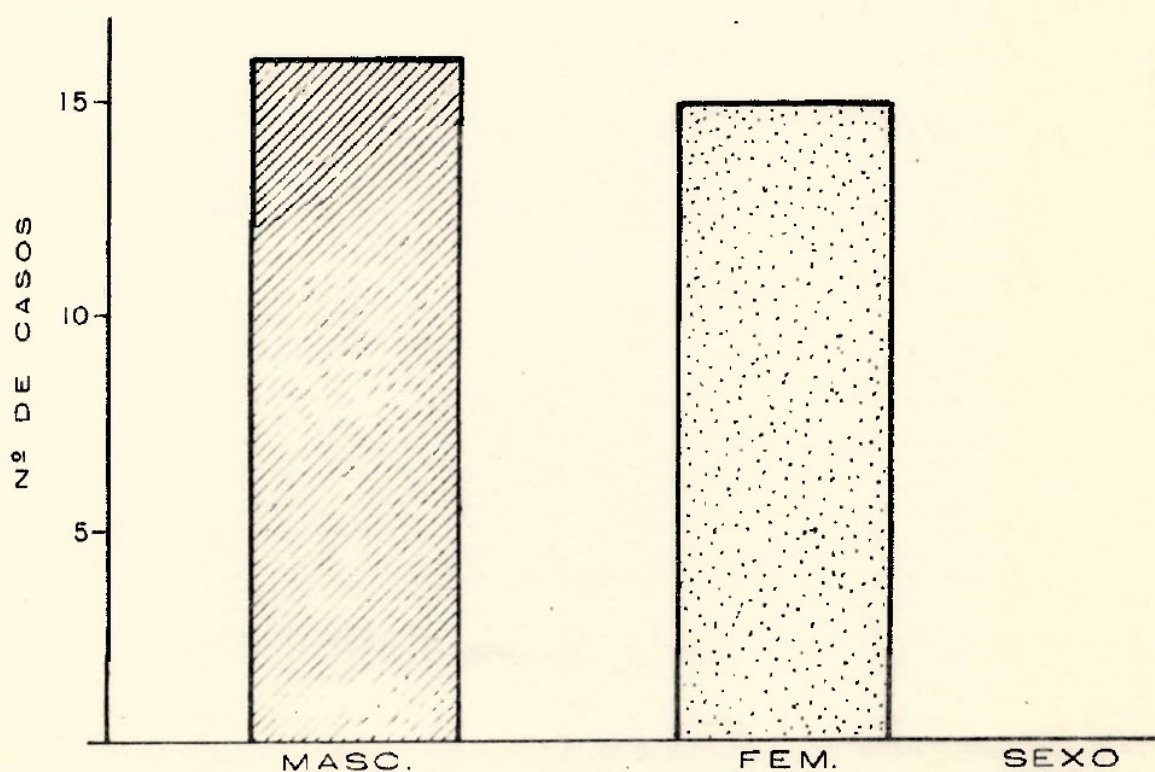


TABELA 2
DISTRIBUIÇÃO DE 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA
DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO FAB

CLASSIFICAÇÃO FAB	FREQUÊNCIA	%
M ₁	8	26
M ₂	9	30
M ₃	3	10
M ₄	6	20
M _{5A}	2	7
M ₆	2	7
TOTAL	30	100

GRÁFICO II
DISTRIBUIÇÃO DE 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA DE
ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO FAB

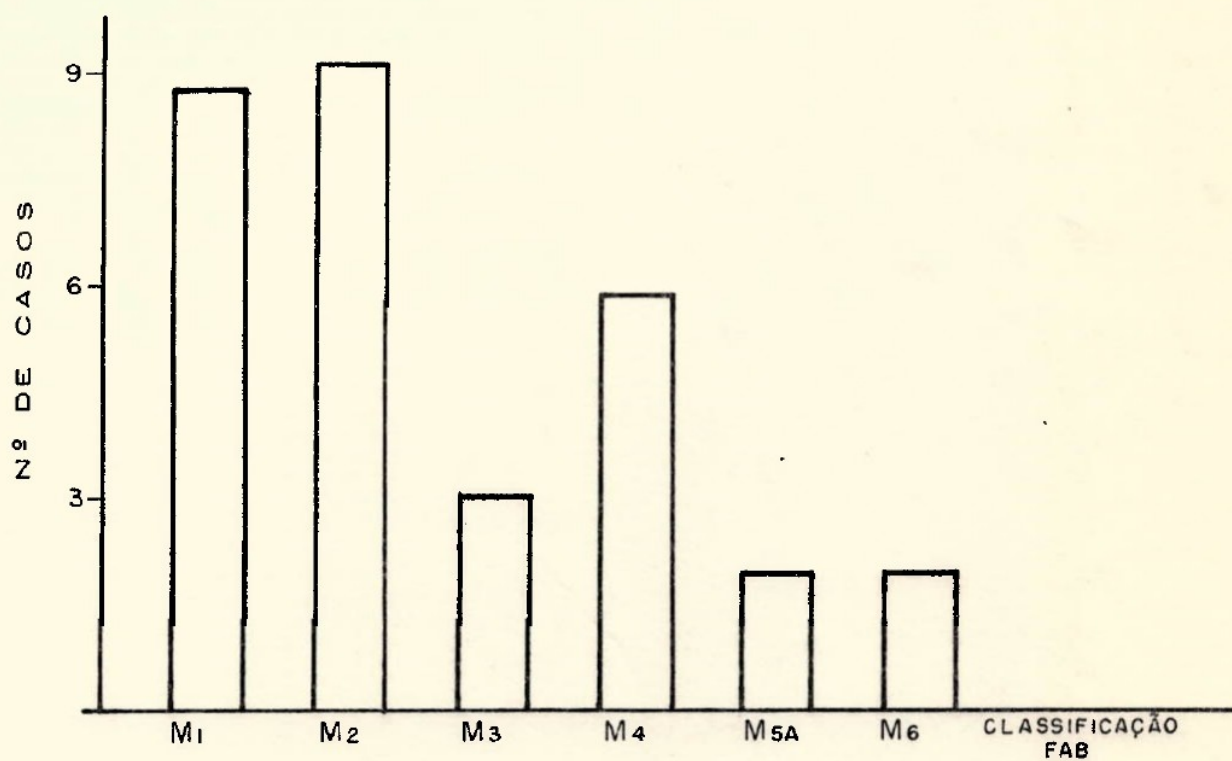


TABELA 3
DADOS REFERENTES A 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA
COM OS ESCORES DO FERRO

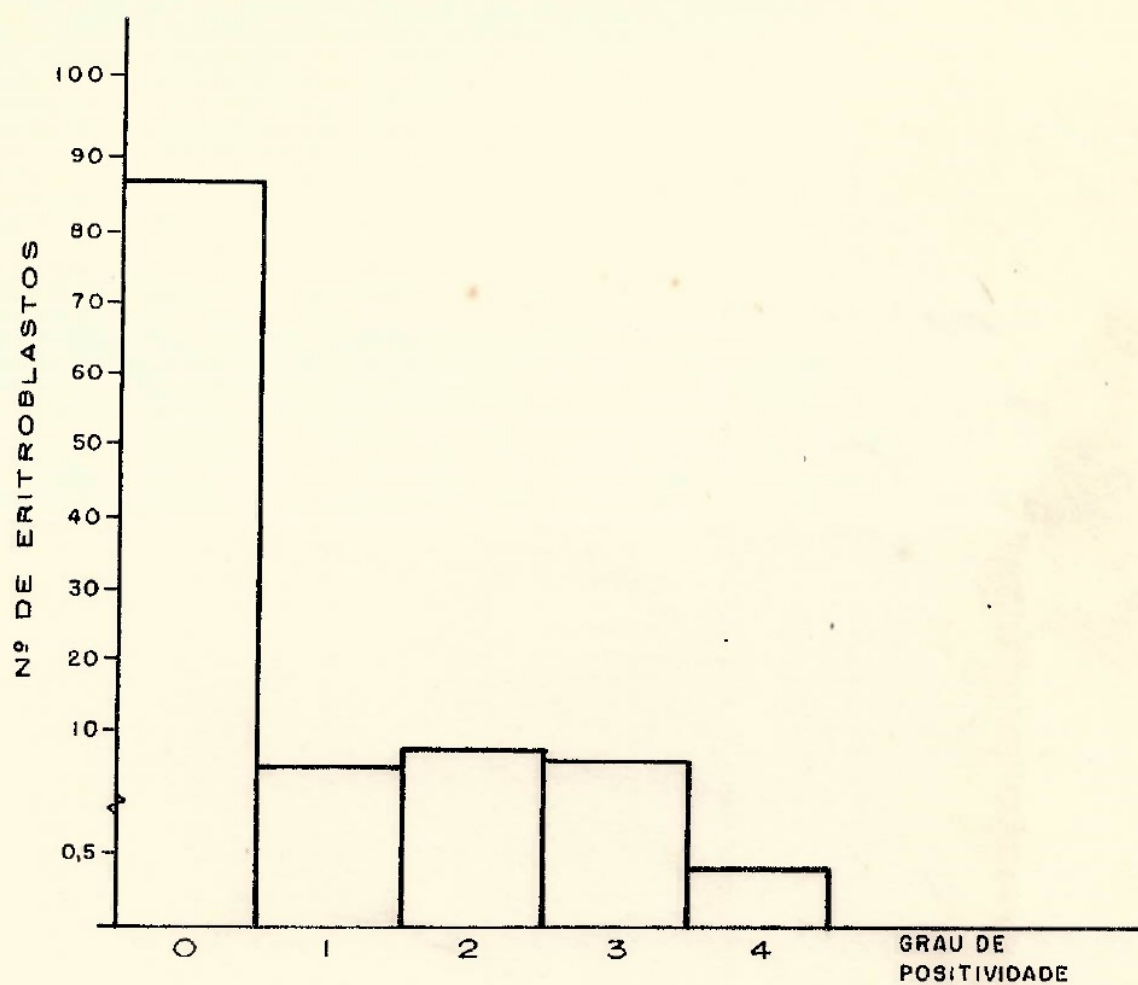
CASO Nº	SEXO	CLASSIFI- CAÇÃO FAB	0	1	2	3	4	TOTAL
1	F	M ₂	86	0	0	14	-	42
2	F	M ₁	77	1	16	6	-	51
3	F	M ₁	-	-	-	-	-	-
4	M	M ₃	68	-	32	-	-	64
5	M	M ₂	89	10	1	-	-	12
6	F	M ₄	96	3	-	1	-	06
7	F	M ₂	64	14	19	3	-	61
8	F	M ₂	-	-	-	-	-	-
9	F	M ₁	50	5	15	30	-	125
10	M	M ₂	74	3	14	9	-	58
11	M	M ₃	-	-	-	-	-	-
12	F	M ₂	-	-	-	-	-	-
13	M	M ₂	97	1	2	-	-	5
14	M	M ₃	94	2	2	2	-	12
15	F	M ₂	90	10	-	-	-	10
16	F	M ₄	75	6	15	4	-	48
17	M	M ₁	94	2	2	2	-	12
18	F	M ₄	-	-	-	-	-	-
19	M	M ₆	74	8	18	-	-	44
20	M	M _{5A}	54	1	6	38	1	131
21	F	M ₁	86	5	4	3	2	30
22	M	M _{5A}	91	4	-	5	-	19
23	M	M ₄	88	2	5	2	3	30
24	M	M ₁	82	16	2	-	-	20
25	F	M ₄	62	3	7	23	5	106
26	F	M ₁	-	-	-	-	-	-
27	M	M ₁	90	5	2	3	-	18
28	M	M	100	-	-	-	-	0

(Continuação da Tabela 3 - DADOS REFERENTES A 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA COM OS ESCORES DO FERRO)

29	F	M ₄	78	5	5	12	-	51
30	M	M ₆	72	9	4	14	1	63
31	M	M ₂	88	10	2	-	-	14
$\bar{X}$			80,76	5	6,92	6,84	0,48	41,28
s			13,54	4,41	8,18	10,07	1,19	36,20

GRÁFICO III

PERCENTAGEM DE ERITROBLASTO DE ACORDO COM O GRAU
DE POSITIVIDADE DA REAÇÃO DO FERRO



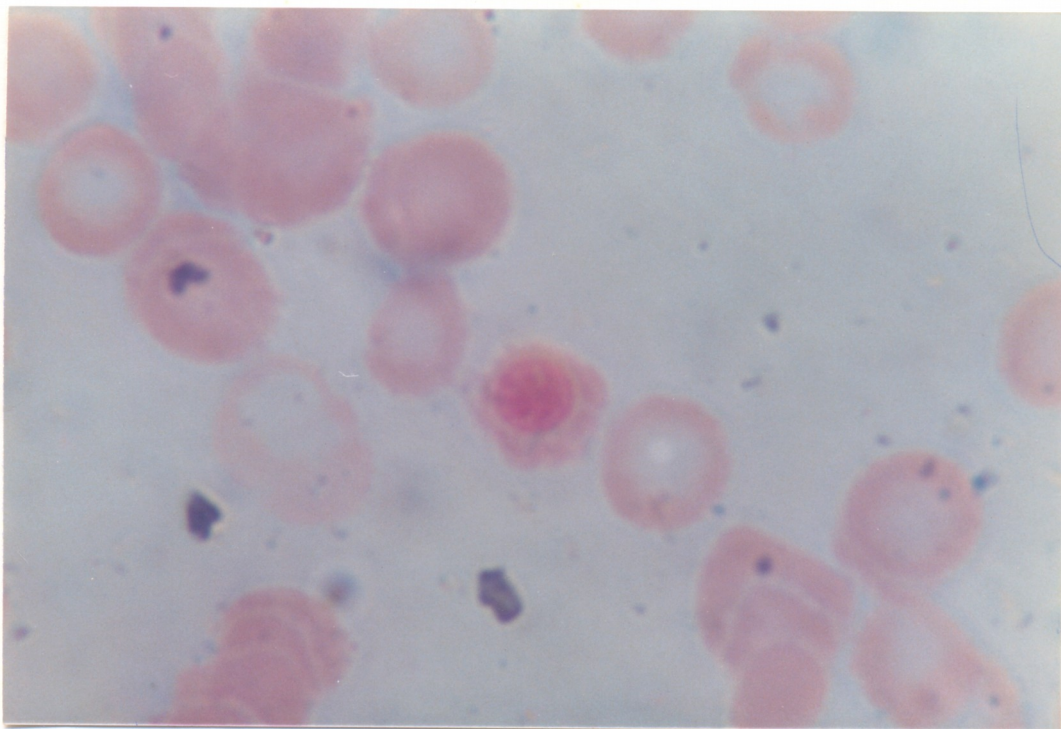


Fig. 1 - Sideroblasto tipo 1
(coloração de Perls, obj 100)

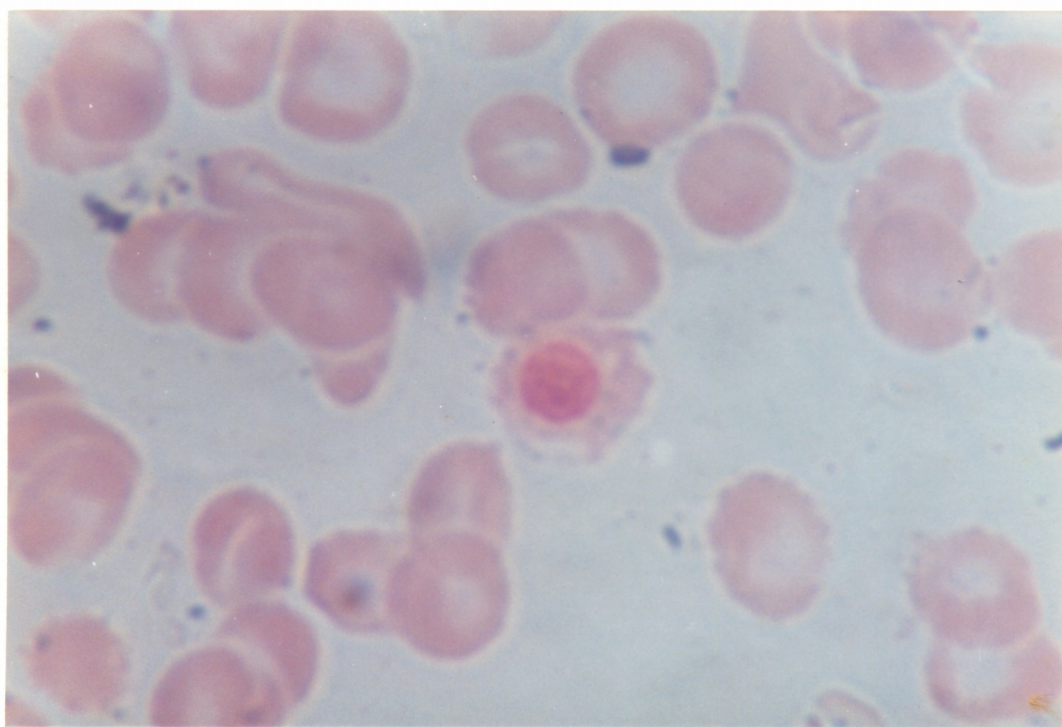


Fig. 2 - Sideroblasto tipo 2
(coloração de Perls, obj. 100)

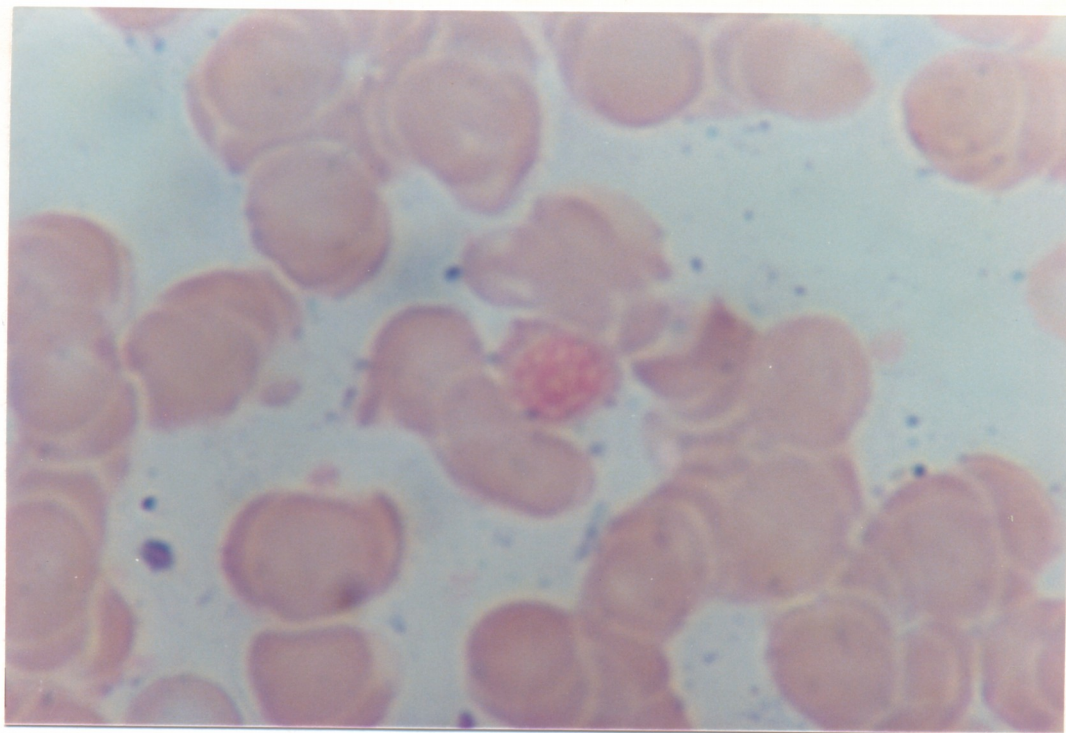


Fig. 3 - Sideroblasto tipo 3
(coloração de Perls, obj. 100)

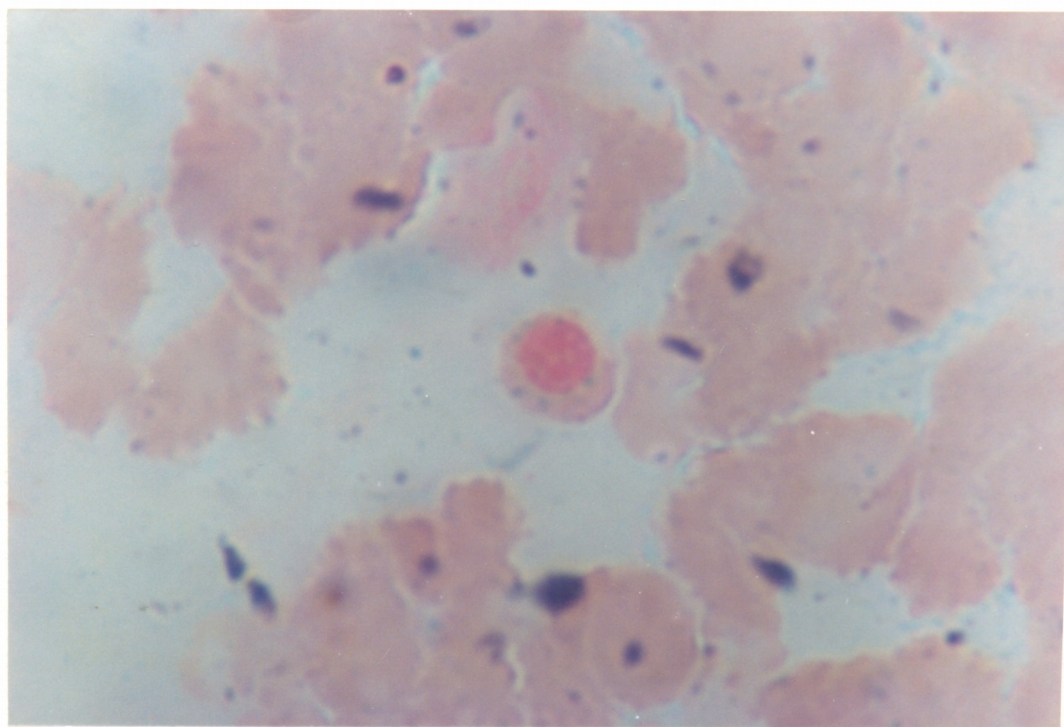


Fig. 4 - Sideroblasto tipo 3
(coloração de Perls, obj. 100)

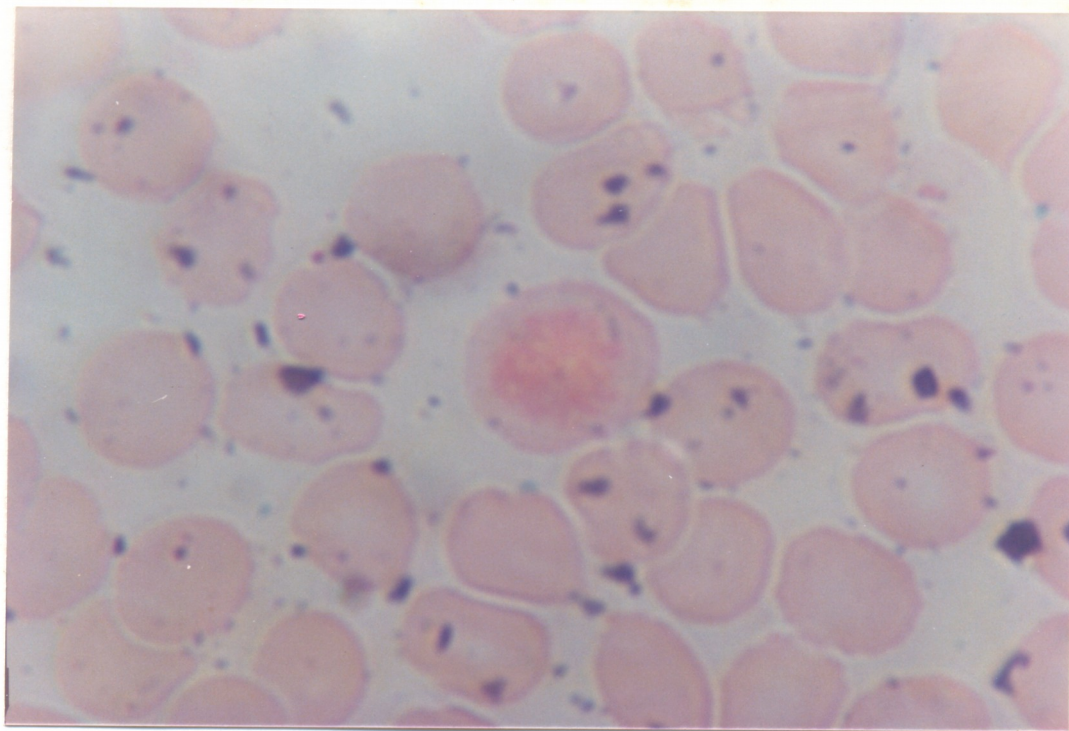


Fig. 5 - Sideroblasto tipo 3
(coloração de Perls, obj. 100)

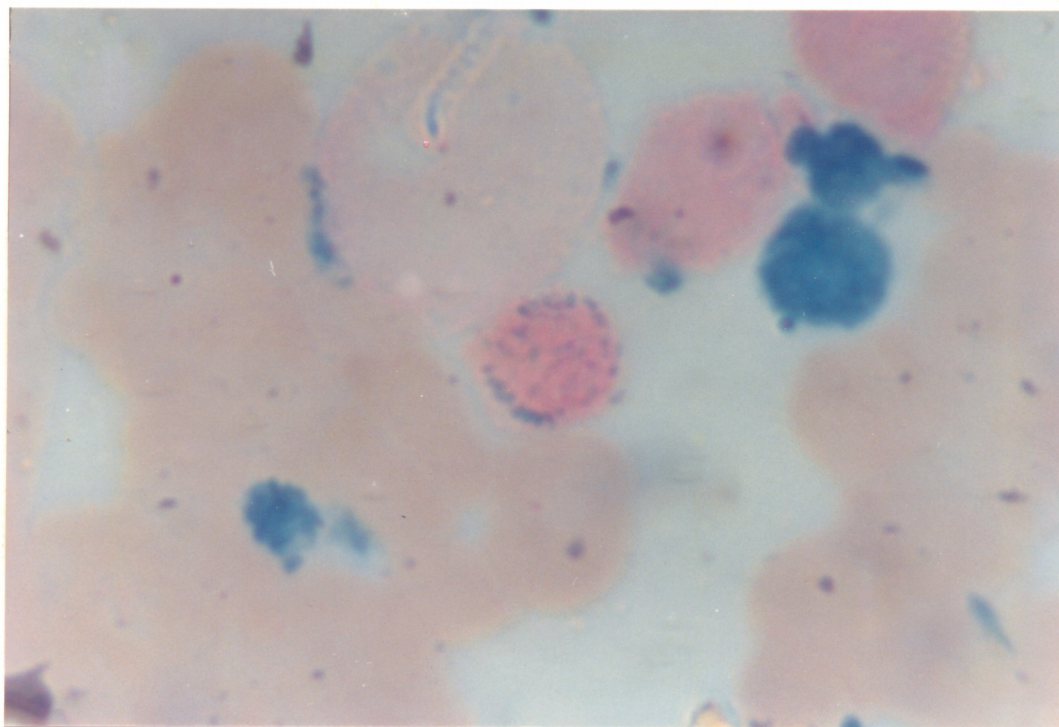


Fig. 6 - Sideroblasto em anel (tipo 4)
(coloração de Perls, obj. 100)

DISCUSSÃO

A ocorrência de sideroblastos em indivíduos sadicos indica que a presença de ferro não hemoglobinizado corável nos normoblastos é um fenômeno normal. (8, 14, 23) enquanto que o achado de sideroblastos em anel é só observado em condições patológicas. (2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 27)

Há três métodos clássicos de demonstração do ferro inorgânico: Azul da Prussia de Perls, azul de Turnbull e o iron sulphide staining techniquis (17). O mais largamente usado em hematologia é o Azul da Prussia, que quando utilizado, são observados precipitados azul ou azul esverdeado nos sítios de reação (17).

O estudo dos sideroblastos é dificilmente justificado como procedimento de rotina, mas pode ser útil na investigação de anemias obscuras com medula óssea normal ou hiperplasiada.

Os pioneiros pesquisadores ao estudarem os sideroblastos (4, 6, 7, 16, 19, 27) relataram os resultados de seus estudos em forma de percentuais que davam apenas informações quantitativas dos dados obtidos. Kaplan em 1954 (19) foi o primeiro a observar que entre os sideroblastos havia variação na quantidade, apresentação e disposição dos grânulos de ferro em seu citoplasma. Esta observação fez com que outros estudiosos desenvolvessem métodos de análise dos resultados que oferecessem, além de informações quantitativas, informações qualitativas sobre os sideroblastos. A partir de então o método de escore tem sido utilizado com muito sucesso.

A contagem de sideroblastos através de "score" fornece dados indiretos sobre a utilização e o transporte do ferro, que de outra maneira só poderiam ser avaliados por elaboradas técnicas, tais como, a cinética do ferro ou a medida quantitativa da ferritina sérica. (17)

A média dos escores do ferro nos 25 casos de LMA estudados e que continham eritroblastos, foi de 41,28 com amplitude de 131 variando de 0 a 131.

O tipo de eritroblasto de maior incidência foi o 0 com uma incidência 168 vezes maior que o do tipo 4.

Os esfregaços que continham sideroblastos em anel tiveram um escore médio 2 vezes maior que o restante embora esse achado não seja significativo devido à pequena amostra.

A relação entre o escore de sideroblasto e o sexo bem como com a classificação FAB não foi estatisticamente significativa. (Tabelas 4 e 5)

Nossos resultados, na LMA, não puderam ser comparados com os encontrados na ASRI uma vez que só dispunhamos de 01 caso de ASRI com esfregaço de medula óssea em condição satisfatória de ser estudado. Com os dados da literatura também não foi possível fazê-lo porque ou os autores, apesar de apresentarem casuísticas de até 97 casos (18) não fizeram o escore dos sideroblastos, ou as amostras eram muito pequenas e além disso cada autor elabora o seu "próprio" escore (2, 16, 27, 28) sendo quase impossível realizar uma análise comparativa.

TABELA 4
ESCORES DE FERRO E O SEXO EM 31
CASOS ESTUDADOS DE LMA

SEXO ESCORES	SEXO		TOTAL
	MASCULINO	FEMININO	
ATÉ 50	11	6	17
50 ATÉ 100	3	3	6
ACIMA DE 100	1	1	2
TOTAL	15	10	25

$\chi^2 = 0,88$ NÃO SIGNIFICATIVO ($p = 0,05$)

OBS.: Para fins de cálculos estatísticos não foram con
siderados os casos que não se observaram eritro
blastos no esfregaço.

TABELA 5
ESCORES DE FERRO E A CLASSIFICAÇÃO FAB
EM 31 CASOS ESTUDADOS DE LMA

FAB ESCORES							TOTAL
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M _{5A}	M ₆	
ATÉ 50	4	5	1	3	1	1	15
50 ATÉ 100	1	2	1	1	-	1	6
ACIMA DE 100	1	-	-	1	1	-	3
TOTAL	6	7	2	5	2	2	24

$\chi^2 = 11,40$; NÃO SIGNIFICATIVO ($p = 0,05$)

Obs.: Para fins de cálculo estatístico, não foram considerados os casos em que não foram encontrados eritroblastos no esfregaço.

Um caso sem classificação FAB também não foi considerado.

CONCLUSÃO

A amostra reduzida e a ausência de grupo controle não nos permite tirar conclusões definitivas muito embora possamos inferir que:

- por fim não*
- É necessária a padronização dos escores para o estudo do ferro livre nos eritroblastos a fim de que resultados de diferentes trabalhos possam ser comparados.
 - A relação dos escores do ferro com o sexo não foi estatisticamente significativa. (Tabela 4)
 - Não houve correlação entre a classificação FAB e o escore do ferro. (Tabela 5)
 - Pela pequena quantidade de sideroblastos em anel encontrados, parece não haver defeito enzimático, na síntese do heme, na LMA.
 - O estudo do ferro na medula óssea de pacientes com LMA não parece ser um método útil para reforçar a idéia da evolução da ASRI para LMA.

SUMMARY

6
Study of Perl's stain for free iron, in erythroblasts, was made in Bone marrow's smears of 31 patients with AML from Universitary Hospital Prof. Walter Cantídio.

The positivity degree of sideroblast score was correlated to sex and FAB classification. No statistical significance was found in any of these variables.

The Prussian Blue stain did not demonstrate utility in study of AML.

BIBLIOGRAFIA

- ✓ 1. AISEN, P. Current Concepts in Iron Metabolism. Clin. Haemat, 11: 241-57, 1982.
- ✓ 2. BAUMGARTNER-STAUHLI, R. & BECK, E. Sideroblast Score: A Sensitive Indicator of Iron Deficiency and Hypoproliferative Anemia. Acta Haemat 57: 24-31, 1977.
- ✓ 3. BESIS, M.C. & BRETON-GORIUS, J. Iron Metabolism in the Bone Marrow as Seen by Electron Microscopy: A Critical Review. Blood 19: 635-63, 1962.
- ✓ 4. BESSIS, M.C & JENSEN, W.N. Sideroblastic Anaemia, Mitochondria and Erythoblastic Iron. Brit J. Haemat. 2: 49-51, 1965.
- ✓ 5. BJÖRKMAN; S.E., Chronic Refractory Anemia with Sideroblastic Bone Marrow. A Study of Four Cases. Blood 2: 250-59, 1956.
- ✓ 6. BOWMAN, W.D.J.. Abnormal ("Ringed") Sideroblasts in Various Hematologic and non-Hematologic Disorders. Blood 18: 662-71, 1961.
- ✓ 7. CARTWRIGHT, G.E. & DEISS, A. Sideroblasts, Siderocytes and Sideroblastic Anemia. N. Engl. J. Med. 292: 185-93, 1975.
- ✓ 8. DACIE, J.V.; SMITH, M.D.; WHITE, J.C.; MOLLIN, D.L. Refractory Normoblastic Anaemia. Brit. J. Haemat 5: 56 - 82, 1959.
- ✓ 9. DAMESHEK, W: Sideroblastic Anaemia: Is this a Malignancy?. Brit. J. Haemat. 2: 52-8, 1965.

- ✓ 10. DEISS, A.; KURT, D.; CARTWRIGHT, G.E.; WINTROBRE, M.M.
Experimental Production of Siderocytes. J. Clin Invest. 45: 353-64, 1966.
- ✓ 11. DOUGLAS, A.S. & DACIE, J.V. The Incidence and Significance of Iron-Containing Granules in Human Erythrocytes and their precursors. J. Clin. Path. 6: 307-13, 1953.
- ✓ 12. GANZONI, A.M. Le Métabolisme du Fer dans les Maladies Néoplasiques. Medicine Hyg 29: 706-7, 1971.
- ✓ 13. GOODMAN, J.R. & HALL, S.G.. Accumulation of Iron in Mitochondria of Erythroblasts. Brit J. Haemat 13: 335-40, 1967.
- ✓ 14. GRUNEBERG, H. Siderocytes: a New Kind of Erythrocytes. Nature 148: 114-5, 1941.
- ✓ 15. HARRISS; E.B.; MACGIBON, B.H.; MOLLIN, D.L. Experimental Sideroblastic Anaemia. Brit J. Haemat 2: 99 - 106, 1965.
- ✓ 16. HAYHOE, F.G.J. & QUAGLINO, D. Refractory Sideroblastic Anaemia and Erythraemic Myelosis: Possible Relationship and Cytochemical Observations. Brit J. Haemat 16: 381-7, 1960.
- ② ✓ 17. HAYHOE, F.G.J & QUAGLINO, D. Iron and other inorganic elements: HAYHOE, F.G.J. & QUAGLINO, D. Hematological Cytochemistry. Londres, Churchill Livingstone, 1968, 6: 111-23.
- ✓ 18. HINES, J.D. & GRASSO, J.A. The Sideroblastic Anemias Seminars Hemat 7: 86-106, 1970.
- ✓ 19. KAPLAN, E; ZUELZER, W.W.; MOURIQUAND, C. Sideroblasts A Study of Stainable Nonhemoglobin Iron in Marrow Normoblasts. Blood 9: 203-13, 1954.

- ✓ 20. KITAHARA, M.; COSGRIFF, T.M.; EYRE, H.J. Sideroblastic Anemia as a Preleukemic Event in Patients Treated for Hodgkin's Disease. Ann Intern Med. 95: 625 - 7, 1980.
- ✓ 21. KOEFFLER, H.P. & GOLDE, D.W. Human Preleukemia. Ann. Intern Med 93: 347-53, 1980.
- ✓ 22. KURTH, D.; DEISS, A.; CARTWRIGHT, G.E. Circulating Siderocytes in Human Subjects. Blood 34: 6 754 - 64, 1969.
- ✓ 23. KUSHNER, J.P.; LEE, G.R.; WINTROBE, M.M. CARTWRIGHT, G. E. Idiopathic Refractory Sideroblastic Anemia. Clinical and laboratory investigation of 17 patients and Review of the Literature. Medicine 50, 3 139-59, 1971.
- ✓ 24. MACGIBBON, B.H. & MOLLIN, D.L. Sideroblastic Anaemia in Man: Observation on Seventy Cases. Brit J. Haemat 2: 59-69, 1965.
- ✓ 25. McNARY, W.F. Jr. The Histochemical Demonstration of Trace Metals in Leucocytes. J. Histochem Cytochem 8: 124 - 30, 1960.
- ✓ 26. MOLLIN, D.L. Introduction: Sideroblast and Sideroblastic Anaemia. Brit J. Haemat 2: 41-8, 1965.
- ✓ 27. MOURIQUAND, C. Le Sidéroblaste (Étude Morphologique et essai d'interprétation) Rev. D'Hémat 13: 79-99, 1958
- ✓ 28. NIXON, R.K. & OLSON, J.P. Diagnostic Value of Marrow Hemossiderin Patterns. Ann Intern Med. 69: 1249 - 54, 1966.
- ✓ 29. PETZ, L.D.; GOODMAN, J.R.; HALL, S.G.; FINK, D.J. Refractory Normoblastic (Sideroblastic) Anemia. Am. J. Path 45: 581-99, 1965.

- ✓ 30. PETZ, L.D. & GOODMAN; J.R. Ringed Sidroblasts and Intra
mitochondrial Iron in Cases of Mechanical Hemolytic
Anemia. Ann. Int. Med. 64: 3, 635-43, 1966.
- ✓ 31. WALTUCH, G. LANZEROTTI, A.K.; SCHRIER, S.L. Marrow De
fect in Idiopathic Innefective Erythropoiesis. Ann
Intern Med 68: 5, 106-12, 1968.
- ✓ 32. WEINFELD, A. & HANSEN, H.A. Further Studies on the In
terrelationship between Hemossiderin and Sidero
blasts in Bone Marrow Smears: Acta Med. Scand. 171:
23-31, 1962.