

**DETERMINACION DE PROTOPORFIRINA ERITROCITICA  
UNIDA A ZINC Y OTROS VALORES HEMATOLOGICOS EN  
DONADORES DEL BANCO DE SANGRE DEL  
HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS**

*Ma. de los Angeles Alvarado \*, Elizabeth Fernández\*\**

Key Word Index: Protoporfirina eritrocítica zinc, anemia ferropriva.

## **Resumen**

*La determinación de protoporfirina eritrocítica unida a zinc (PE-Zn) constituye un método rápido, seguro, sensible y barato que permite detectar deficiencias latentes de hierro (Fe), anemia por deficiencia de este metal e intoxicaciones por plomo (Pb).*

*Con el fin de obtener valores de referencia de PE-Zn, de gran interés en tamizajes masivos por plumbismo y deficiencia de hierro, se realizaron determinaciones de hierro sérico (FeS), capacidad total de fijación del hierro al suero (CTFFeS), saturación de la transferrina y porcentaje de hematocrito (Hto) a 126 donadores de banco de sangre. Los valores normales para PE-Zn mostraron un rango de 0,9 a 2,9 microgramos por gramo de hemoglobina (mcg/gHb), el FeS 56 a 184 mcg/dl, la CTFFeS 266 a 450 mcg/dl, la saturación de la transferrina 20 a 48 por ciento y el Hto 42 a 52 ml/100 ml. Los valores de FeS, CTFFeS, saturación de la transferrina y Hto, son compatibles con los previamente reportados en nuestro país.*

*La determinación de la PE-Zn es ideal como prueba de tamizaje en la investigación de personal expuesto a intoxicación por Pb, y en la búsqueda de anemia por deficiencia de Fe. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1983; 4(2):1 - 6].*

## **Introducción**

Desde hace más de 100 años se asoció la intoxicación por plomo (Pb) con un aumento en la excreción de coproporfirina, pero no fue sino hasta 1931 que se detectó un incremento en la protoporfirina sanguínea en la intoxicación por Pb (10). Con el advenimiento de los radioisótopos en la investigación biomédica (años 1950), numerosos investigadores elucidaron los intermediarios en la biosíntesis de las porfirinas y el hem. En la década de 1960, la investigación de las porfirinas se orientó al estudio de su herencia ya la producción de porfirias experimentales (10). Antes de 1970, los métodos para determinar porfirinas eritrocíticas (PE) requerían grandes volúmenes de sangre (5-15 ml) (7, 17), y dependían de procesos lentos de extracción, separación y purificación, lo que los hacía imprácticos para la rutina de laboratorio (8, 17). El creciente interés en la utilidad diagnóstica de la PE en intoxicaciones por Pb (6, 12, 15, 20) y en la deficiencia de hierro (5, 15, 17, 19), estimuló a partir de la década de 1970 el desarrollo de métodos tendientes a simplificar las determinaciones de PL en sangre total. Aparece en esa época el método de

---

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

\*\* Banco de Sangre, Hospital San Juan de Dios, CCSS.

Heller y colaboradores (8), que emplea extracción de la PE con solventes orgánicos y lectura espectrofotométrica. Posteriormente, se idearon los micrométodos que permiten detectar la PE por fluorescencia, sistema que es más específico para las porfirinas y de 200 (16) a 500 (7) veces más sensible que la espectrofotometría. A partir de 1977, el estudio de la PE se revolucionó en forma extraordinaria con la aparición del hematofluorómetro, instrumento que determina la protoporfirina unida a zinc (PE-Zn) por medio de fluorescencia, en pequeñísimas muestras de sangre total no procesada (3, 4). El hematofluorómetro provee determinaciones rápidas y seguras de la PE-Zn (1, 3, 4), la cual se incrementa en la deficiencia de Fe, en intoxicaciones por Pb y en otras condiciones (1, 3, 8, 11, 19). En la intoxicación por Pb, la PE-Zn se acumula en los eritrocitos debido a que el plomo interfiere en varios pasos de la biosíntesis de 1 hem (14, 19), inhibiendo las siguientes enzimas: 1) deshidrasa del ácido delta amino levulínico, lo que origina un incremento en la excreción urinaria del ácido delta amino levulínico; 2) coproporfirinógeno oxidasa, lo que produce un incremento en la excreción de coproporfirina en orina; 3) posible inhibición de la ferroquelatasa (confirmado sólo *in vitro*) (10), enzima mitocondrial que cataliza la inserción del Fe en la protoporfirina IX para formar el hem (19, 20), y cuya alteración origina un incremento en la protoporfirina eritrocítica.

En la deficiencia de Fe, el incremento de la PE-Zn se debe a que la carencia de este metal disminuye la tasa de síntesis del hem (13, 19). En este caso, la PE-Zn se eleva cuando el porcentaje de saturación de la transferrina es inferior a 15 por ciento (5), y cuando el Fe medular está marcadamente disminuido o ausente (13).

Como la determinación de la PE-Zn selecciona en forma rápida y segura personas con alteraciones en la síntesis del hem, originadas por intoxicaciones por Pb y deficiencia de Fe, se consideró prioritario el establecer valores de referencia de esta sustancia en nuestro medio.

## **Materiales y métodos**

Se obtuvo muestras de sangre de 128 donadores del Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios. Para las determinaciones de FeS, CTFFeS y porcentaje de saturación de la transferrina, se recolectaron de 8 a 10 ml de sangre en tubos libres de hierro, sin anticoagulante. Los análisis se efectuaron por el método de Beale y colaboradores (2). El hematocrito se determinó usando capilares heparinizados, y la PE-Zn a partir de sangre obtenida con EDTA (1,5 mg de EDTA disódico por ml de sangre). Se colocaron 20 microlitros de sangre en un tubo de ensayo de 10 x 75 mm, se agitó por un minuto en un "vórtex" con el fin de oxigenar la hemoglobina, y sin tratamiento adicional, la sangre se colocó en un dispositivo especial del hematofluorómetro (Aviv Associates, Lakewood, N.J.), instrumento computarizado que determina en forma automática, y prácticamente instantánea, el valor de la protoporfirina eritrocítica unida a Zn (1).

## **Resultados**

Los valores obtenidos para FeS, CTFFeS, saturación de la transferrina y Hto, son compatibles con los valores de referencia reportados para nuestro medio (18).

La protoporfirina eritrocítica unida a zinc, dio valores de 0,9 a 2,9 microgramos por gramo de hemoglobina, compatibles con los reportados en la literatura (16, 17), no encontrándose diferencia en cuanto a sexo.

El siguiente cuadro muestra los resultados obtenidos:

|          | Porcentaje<br>Hto | FeS<br>mcg/dl | CTFFeS<br>mcg/dl | Porcentaje<br>saturación<br>transferrina | PE-Zn<br>mcg/gHb |
|----------|-------------------|---------------|------------------|--|------------------|
| Promedio | 47                | 120           | 358              | 34                                       | 1,9              |
| D.E.*    | 2,6               | 32            | 46               | 7  | 0,5              |
| Rango    | 42–52             | 56–184        | 266–450          | 20–48                                    | 0,9–2,9          |

\* D.E.: Desviación estándar.

Dos de las 128 muestras analizadas presentaron valores de PE-Zn elevados, por lo que se excluyeron al establecer los datos de referencia, y se mencionan a continuación:

- A. Donante (masculino), de 20 años, trabajador de una fábrica de baterías, presentó los siguientes datos hematológicos: Hto: 42 por ciento, FeS: 161 mcg/dl, saturación de la transferrina 59 por ciento y PE-Zn: 27,3 mcg/g Hb.  
El valor de la PE-Zn encontrado es compatible con intoxicación por Pb (14, 16), lo que se confirmó mediante el análisis de Pb sanguíneo por absorción atómica\*, cuyo resultado fue de 98,5 mcg/dl (normales de 0 a 40 mcg/dl) (14).
- B. Donante (femenino), de 18 años, con Hto de 40 por ciento, presentó PE-Zn de 3,7 mcg/g Hb, FeS: 41 mcg/dl; CTFFeS: 478 mcg/dl y saturación de la transferrina de 8,6 por ciento.  
Los valores de FeS, CTFFeS y saturación de la transferrina demostraron deficiencia de hierro, condición que originó el incremento de la PE-Zn.

## Discusión

La enzima hem sintetasa (ferroquelatasa) es una enzima mitocondrial que cataliza la inserción del Fe en la protoporfirina IX para formar el hem (19, 20) en el citoplasma de los eritroblastos y reticulocitos (19). Con frecuencia se asume que el Pb inhibe la ferroquelatasa (11, 20) y que ello causa un incremento en la PE-Zn, pero se carece de evidencia experimental *in vivo*, por lo que su mecanismo de acción es todavía cuestionable (10, 11). Además de la deficiencia o carencia de Fe, que determina un aumento moderado de la PE-Zn (17), otras condiciones clínicas originan alteraciones en la síntesis del hem (infecciones e inflamaciones crónicas, carcinomas, cirrosis hepática, leucemia granulocítica

\* Dato suministrado por el Servicio de Especialidades Médicas del Instituto Nacional de Seguros, San José, Costa Rica.

crónica, y otras) (13). En virtud de lo anterior, el análisis de la PE-Zn es inespecífico, sin embargo, la utilidad de su determinación en la deficiencia de Fe, que es la causa más frecuente de protoporfirinemia (II), y en personal expuesto a intoxicación por Pb, es innegable, debido a que esta prueba selecciona rápidamente pacientes que pueden tener un incremento marcado en la absorción de Pb, y que requieren terapia urgente. o aquellos que requieren estudios posteriores por deficiencia de Fe o cualquier otra causa que origina alteraciones en la síntesis del hem (9).

Es interesante mencionar que las dos personas con valores de PE-Zn elevados no mostraron sintomatología clínica cuando se estudiaron, aunque en uno de los casos se confirmó deficiencia de Fe y en el otro intoxicación por Pb, lo que apoya la utilidad de esta determinación en condiciones como las mencionadas.

Para nuestro medio, valores de PE-Zn mayores o iguales a 3,5 mcg/g Hb son indicativos de alteración en la síntesis del hem, según lo establecido en el análisis de 200 muestras sanguíneas que incluyen: anemia ferropriva, plumbismo, carcinomas, y otras condiciones (observaciones sin publicar). Pacientes con valores de PE-Zn mayores o iguales a 3,5 mcg/g Hb deben Investigarse posteriormente por deficiencia de Fe, plumbismo u otra de las causas que originan alteración en la síntesis del hem.

### ABSTRACT

*The direct measurement in whole blood of zinc erythrocytic protoporphyrin (ZnEP) offers a simple, sensitive, low cost and rapid test for lead intoxication, latent iron deficiency or iron deficiency anemia. To obtain reference values of ZnPE for Costa Rica, the test was performed in 126 blood bank donors with normal serum iron (FeS), total iron binding capacity (TIBC), transferrin saturation and hematocrit (Hto). The reference normal values for ZnEP were  $1,9 \pm 1$  mcg/g Hb. The FeS, the TIBC, the transferrin saturation and the Hto obtained were similar to the normal values reported for this country.*

### Agradecimiento

El presente trabajo se llevó a cabo bajo el patrocinio económico de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica.

### Bibliografía

1. Aviv Hematofluorometer Manual. Aviv. N.Y. U.S.A. 1980; 9—15.
2. Beale, R. N., Bostrom, J. O., Taylor, R. F. Improved rapid methods for the determination of iron content and binding capacity of serum. *J. Clin. Path.* 1962; 15:156—160.
3. Blumberg, W. E., Eisinger, J., Lamola, A. A., Zuckerman, D. M. Zinc protoporphyrin level in blood determined by portable hematofluorometer: A screening device for lead poisoning. *J. Lab. Clin. Med.* 1977;89:712—723

4. Blumberg, W. E., Eisinger, J., Lamola, A. A., Zuckerman, D. M. The hematofluorometer. *Clin. Chem.* 1977; 23:270—274.
5. Cook, J. D., Finch, C. A., Smith, N. J. Evaluation of the iron status of a population. *Blood.* 1976; 48:449—455.
6. Chisolm, J. J. Is lead poisoning still a problem? *Clin. Chem.* 1977; 23:252—255.
7. Chisolm, J. J., Schwartz, S., Mitchell, D. E., Piomelli, S. Microscale photofluorometric determination of “free erythrocyte porphyrin” (protoporphyrin IX). *Clin. Chem.* 1975; 21:1669—1685.
8. Heller, S. R., Labbé, R. F., Nutter, J. A simplified assay for porphyrins in whole blood. *Clin. Chem.* 1971; 17:525—528.
9. Kammholz, L. P., Thatcher, L. G., Blodgett, F. M., Good, T. A. Rapid protoporphyrin quantitation for detection of lead poisoning. *Pediatrics* 1972; 50:625—631.
10. Labbé, R. F. History and background of protoporphyrin testing. *Clin. Chem.* 1977;23:256—259.
11. Labbé, R. F., Finch, C. A., Smith, N. J., Donan, R. N., Sood, S. K., Madan, N. Erythrocyte protoporphyrin/Heme ratio in the assessment of iron status. *Clin. Chem.* 1979; 25:87—92.
12. Lin-Fu, J. S. Lead exposure among children — A reassessment. *N. Engl. J. Med.* 1979; 300:731— 732.
13. McLaren, G. D., Carpenter, J. T., Nino, H. V. Erythrocyte protoporphyrin in the detection of iron deficiency. *Clin. Chem.* 1975; 21:1121—1127.
14. Molina, G., Zúñiga, M., Cárdenas, A., Solís, P. Concentración de plomo en sangre de niños de familias alfareras. *Boletín OPS.* 1982: 92:33—39.
15. Piomelli, S. Free erythrocyte porphyrins in the detection of undue absorption of Pb and of Fe deficiency. *Clin. Chem.* 1977: 23:264 —269.
16. Piomelli, S. A micromethod for free erythrocyte porphyrins: The FEP test. *J. Lab. Clin. Med.* 1973;81:932-940.
17. Piomelli, S., Brickman, A., Carlos, E. Rapid diagnosis of iron deficiency by measurement of free erythrocyte porphyrins and hemoglobin the FEP/hemoglobin ratio. *Pediatrics.* 1976: 57:136— 141.
18. Sáenz, G. F., Alvarado, M. A., Arroyo, G., Atmetlla, F., Valenciano, E., Jiménez, R. y colab. *Hematología teórico-práctica. Morfología y bioquímica hematológica.* 7a. Ed., Editorial Universidad de Costa Rica. 1981:55.
19. Thomas, W. J, Koenig, H. M., Lightsey, A. L., Gree, R. Free erythrocyte porphyrin: Hemoglobin ratios, serum ferritin, and transferrin saturation levels during treatment of infants with iron deficiency anemia. *Blood.* 1977;49:455—462.
20. Valciukas, J. A., Lilis, R., Fischbein, A., Selikoff, I. J., Eisinger, J., Blumberg, W. E. Central Nervous system dysfunction due lead exposure. *Science,* 1978; 201:465—467.