Descargado el: 28-11-2026 ISSN 2221-2434

Artículos originales

Método práctico para determinar protoporfirina libre eritrocitaria como marcador biológico ante la exposición a plomo inorgánico

Practical Method for Determining Free Erythrocyte Protoporphyrin as a Biological Marker of Exposure to Inorganic Lead

Gloria Marilé Ávalos Ávalos[1]

[1] Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología, Cienfuegos, Cienfuegos, Cuba, CP: 55100

Cómo citar este artículo:
Ávalos-Ávalos G. Método práctico para determinar protoporfirina libre eritrocitaria como marcador biológico ante la exposición a plomo inorgánico. **Revista Finlay** [revista en Internet]. 2014 [citado 2026 Nov 28]; 4(3):[aprox. 8 p.]. Disponible en: https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/297

Resumen

Introducción: para la evaluación de la exposición ocupacional a plomo inorgánico se utilizan diversos biomarcadores de exposición, entre ellos la determinación de plomo en sangre y la de protoporfirina libre eritrocitaria.
Objetivo: determinar la fiabilidad práctica y comparativa de un método espectrofotométrico sencillo para determinar protoporfirina libre en eritrocitos como marcador biológico de la exposición a plomo inorgánico.
Métodos: se estudiaron a 40 trabajadores expuestos a plomo con diferentes niveles, a cada uno de ellos se les tomó una muestra de sangre para determinar protoporfirina libre eritrocitaria y plomo, y una muestra de orina para determinar ácido aminolevulínico. Se seleccionó un grupo control de 20 trabajadores no expuestos, donde se correlacionaron las concentraciones halladas de protoporfirina libre eritrocitaria y de ácido aminolevulínico con las de plomo en sangre.
Resultados: la correlación entre las concentraciones de protoporfirina libre eritrocitaria y las de plomo en sangre fue mayor y más significativa estadísticamente en los trabajadores expuestos, que la encontrada entre el ácido aminolevulínico y el plomo en sangre de los no expuestos. La técnica propuesta de determinación de protoporfirina libre eritrocitaria, además de resultar exacta, precisa y sensible, es sencilla de realizar en, prácticamente cualquier laboratorio químico con un mínimo de recursos.
Conclusiones: la técnica propuesta es confiable y puede ser utilizada en una primera opción en el control higiénico-sanitario de la exposición ocupacional a plomo inorgánico, acudiéndose solamente, de ser imprescindible, a la determinación de plomo en sangre cuando las concentraciones de protoporfirina libre eritrocitaria resulten significativamente altas.

Palabras clave: protoporfirinas, marcadores biológicos, exposición profesional, plomo

Abstract

Background: there are various exposure biomarkers for assessing occupational exposure to inorganic lead including the determination of blood lead levels and free erythrocyte protoporphyrin.
Objective: to determine the practical and comparative reliability of a simple spectrophotometric method for determining free erythrocyte protoporphyrin as a biomarker of inorganic lead exposure.
Methods: a group of 40 lead-exposed workers with different levels of exposure was studied. A blood sample was collected for determining free erythrocyte protoporphyrin and lead blood levels and a urine sample for determining urinary δ-aminolevulinic acid. A control group of 20 non-exposed workers was selected to correlate free erythrocyte protoporphyrin and urinary δ-aminolevulinic acid concentrations with lead blood levels.
Results: correlation between free erythrocyte protoporphyrin and blood lead levels was higher and more statistically significant in exposed workers than correlation between δ-aminolevulinic acid and blood lead levels. The proposed technique for determining free erythrocyte protoporphyrin is not only sufficiently accurate, precise and sensitive, but easy to perform in any chemical laboratory using minimal resources.
Conclusions: the proposed technique for determining free erythrocyte protoporphyrin is sufficiently reliable and can be used as first option in hygienic and sanitary control of occupational exposure to inorganic lead, only resorting, if necessary, to the determination of blood lead levels when concentrations of free erythrocyte protoporphyrin are significantly high.

Key words: protoporphyrins, biological markers, occupational exposure, lead

Recibido: 2014-07-14 10:40:02
Aprobado: 2014-09-15 15:42:55

Correspondencia: Gloria Marilé Ávalos Ávalos. Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología. Cienfuegos. gloria@hecf.cfg.sld.cu

INTRODUCCIÓN

En nuestro país, como en cualquier otro, se realizan trabajos donde los obreros se encuentran expuestos ocupacionalmente a plomo inorgánico.[1-3] Para determinar el riesgo de exposición a plomo en Cuba se viene utilizando habitualmente, desde hace muchos años, la determinación de coproporfirinas urinarias (CPO) en una primera opción; técnica muy sencilla, pero que tiene toda una serie de limitaciones objetivas en la evaluación de la exposición plúmbica.[4-6] En los laboratorios de algunas provincias se determina además, ácido ð-aminolevulínico en orina, método que ofrece una mayor exactitud y precisión como biomarcador de exposición a plomo en comparación con el de las CPO,[7] pero para el cual, se carece de varios de los reactivos imprescindibles que necesita el desarrollo de la técnica, por lo que se hace necesario encontrar otro método que, a la vez de que pueda resultar suficientemente sencillo, exacto y preciso, sea también rápido, de fácil manipulación y económico, para determinar la exposición a plomo en los trabajadores expuestos, al menos en una primera opción, antes de acudir a la determinación de plomo en sangre. En la actualidad es esta, la técnica más precisa de las conocidas para evaluar la exposición a plomo inorgánico.[8-10] La técnica espectrofotométrica de determinación de protoporfirina libre eritrocitaria parece poseer todas esas cualidades prácticas, por lo que se decide proceder a evaluar su eficacia comparativa, en este caso con la del determinación de plomo en sangre (PbS) y con la del ácido ð-aminolevulínico (ALA), y determinar, los valores de referencia para aquella en la población no expuesta a plomo.

MÉTODOS

Para la realización de la investigación, se realizó un encuentro con los trabajadores, a los cuales se les comunicó el objetivo del estudio y se les solicitó su colaboración, definiéndose el momento oportuno para el desarrollo de las determinaciones.

Con vistas a obtener el consentimiento de los participantes, se les explicó en qué consistía dicho estudio y los resultados esperados. Se expuso el carácter voluntario de la participación y la garantía de la confidencialidad de los datos individuales que se obtuvieran.

El universo estuvo constituido por 40 trabajadores expuestos a plomo de las empresas seleccionadas para la investigación. En el caso del grupo de trabajadores no expuestos, la muestra fue seleccionada del personal que no presentaban exposición al metal, según entrevista, que les fue realizada individualmente de la población laboral de la provincia de Cienfuegos, sin exposición conocida a plomo inorgánico, que acudían rutinariamente para realizar otras determinaciones al Laboratorio de Química Sanitaria del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología.

La muestra de trabajadores no expuestos quedó constituida por 20 trabajadores, todos de sexo masculino, en edades comprendidas entre 25 y 60 años de edad, pertenecientes a diferentes empresas de la provincia.

Se analizaron en total 60 muestras de sangre y de orina, 40 de trabajadores expuestos a plomo y 20 de trabajadores no expuestos. A cada trabajador se le practicó una extracción de sangre para determinar protoporfirina libre en eritrocitos y plomo en sangre, y se recogió una muestra de orina para determinar ácido ð-aminolevulínico en orina.

En la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos, los eritrocitos se destruyeron con una mezcla de acetona (acetato de etilo y ácido fórmico) éter dietílico; las porfirinas se extrajeron del líquido sobrenadante con disolución de ácido clorhídrico 1,5 N y se determinaron estas espectrofotométricamente a tres longitudes de onda en un espectrofotómetro UV-visible Jasco V-630. Para el plomo en sangre se utilizó la extracción directa con metilisobutilcetona (MIBK), utilizando tetrametileno ditiocarbamato de amonio (APDC) como agente quelante. El contenido de plomo en la fase orgánica se determinó por espectrofotometría de absorción atómica a 283,3 nm con llama de aire acetileno en un espectrofotómetro marca PYE UNICAM, realizada esta determinación en el Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Villa Clara. Para la determinación de ácido ð-aminolevulínico en orina, se tuvo en cuenta que la orina reacciona con el acetoacetato de etilo para formar un compuesto pirrólico [(2-metil-3-carboetoxi-4)- 3 -ácido propiónicopirrol)], que se extrae selectivamente con el acetato de etilo. Las restantes sustancias positivas al reactivo de Ehrlich no se extraen. El reactivo de Ehrlich produce una coloración rojo-cereza que se

determina en un espectrofotómetro Jasco V-630 a 553 nm.

La determinación de ácido ð- aminolevulínico y plomo en sangre se realizan habitualmente en nuestro centro, mientras que la determinación de protoporfirina libre eritrocitaria, no era realizada en el país hasta el momento del estudio.

RESULTADOS

Con la finalidad de evaluar la eficacia del método espectrofotométrico para la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos como marcador biológico de la exposición a plomo, se estudiaron 60 trabajadores de diferentes empresas de la provincia de Cienfuegos, de los cuales el 66,6 % (n=40) trabajaban en áreas donde existía exposición al metal, y 20 trabajadores no expuestos a plomo.

A los participantes en el estudio se les determinaron tres marcadores de exposición al plomo: protoporfirina libre eritrocitaria, ácido ð-aminolevulínico en orina y plomo en sangre. (Tabla 1).

Tabla 1. Medidas de resumen para los marcadores realizados en el estudio

Biomarcador	Expuestos			No expuestos		
	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango
PPE(µg/dL)	229,2	76,35	122,20 - 497,40	10,52	15	0,77 - 56,17
PbS(µg/dL)	24,56	9,24	8,60 - 60,00	15,05	2,5	10,10 - 20,20
ALA(mg/L)	5,75	3,03	1,09 - 11,05	4,04	2,8	0,70 - 10,29

Se presentan los valores de dispersión de ácido ð-aminolevulínico en orina relacionados con los valores de plomo en sangre. Mostrándose además la línea de regresión con su respectiva ecuación:

PbS=1,780(ALA)+14,323 r=0,58 p=0,000.

Error estándar de la estimación= 7,61. (Gráfico 1).

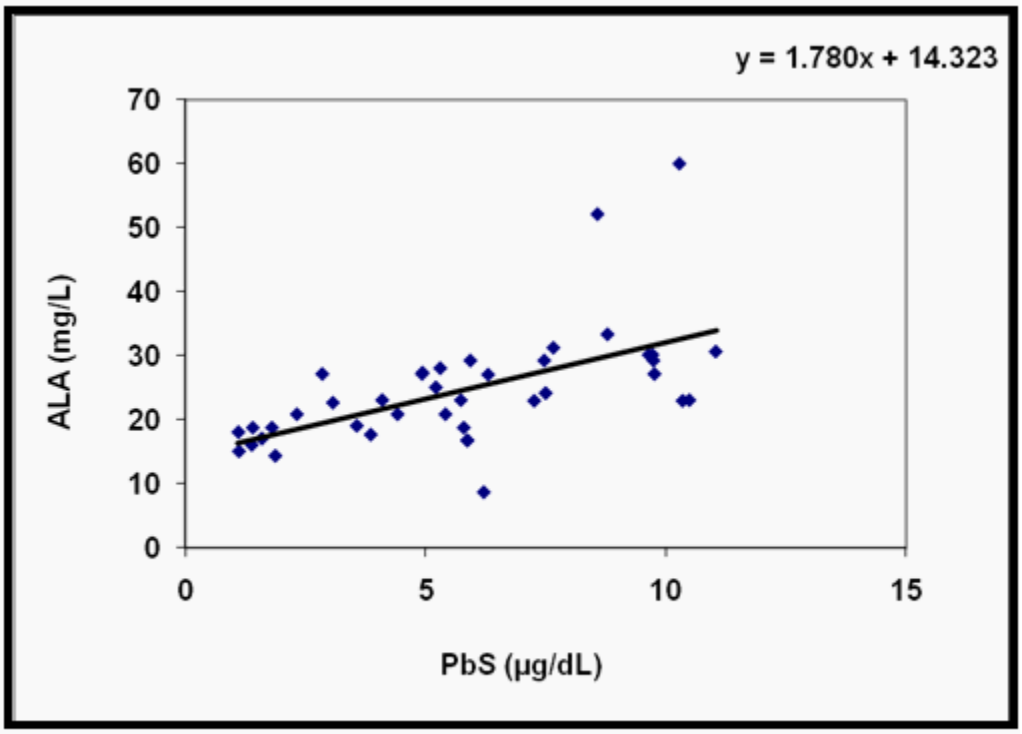

Gráfico 1. Diagrama de dispersión relacionando los valores de ácido δ-aminolevulínico en orina con los valores de plomo en sangre

A continuación se pueden apreciar los valores de dispersión de la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos relacionados con los valores de plomo en sangre. Mostrándose además la línea de regresión con su relativa ecuación:

PbS= 0,085(PPE) + 5,107 r=0,70 p=0,000.

Error estándar de la estimación= 6,68

Para la determinación de PPE se obtuvo la ecuación:

Y= 0,085 X + 5,107

Donde:

Y: valor que le corresponde al plomo.
X: valor que lo corresponde a PPE.
0,085: pendientes de la recta.
5,107: valor constante. (Gráfico 2).

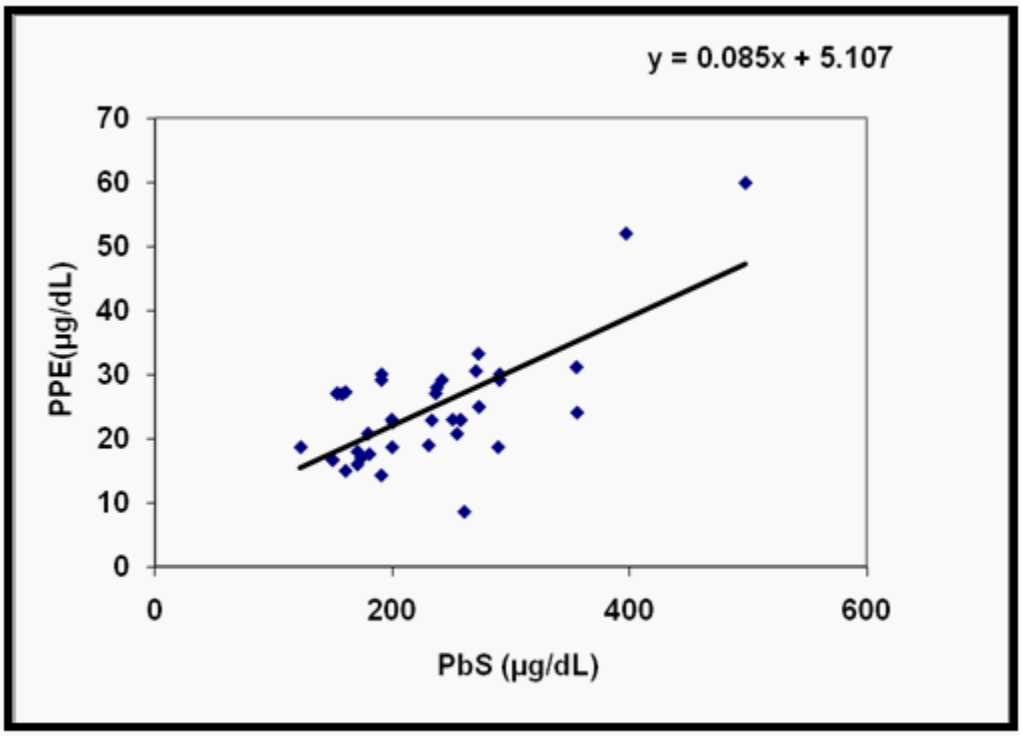

Gráfico 2. Diagrama de dispersión relacionando los valores de protoporfirina libre en eritrocitos con los valores de plomo en sangre

Al realizar la correlación entre los niveles de ácido ð-aminolevulínico en orina con los de plomo en sangre, se encontró un coeficiente de correlación de 0,58, mientras que en la correlación de los niveles de protoporfirina libre en eritrocitos con los de plomo en sangre existe una correlación 0,70 siendo ambas positivas y más significativa la de protoporfirina libre en eritrocitos. (Tabla 2).

Tabla 2. Relación entre los valores de ácido δ-aminolevulínico en orina y la protoporfirina libre eritrocitaria con los valores de plomo en sangre

ALA	Y= 14,323 + 1,780X	r=0,58	p=0,000
PPE	Y= 5,107 + 0,085X	r=0,70	p=0,000

De acuerdo con la ecuación de regresión se pueden calcular los valores de protoporfirina libre en eritrocitos. Para valores de plomo en sangre de 15 µg /dL establecido para personal no expuesto a plomo, el valor de protoporfirina libre en eritrocitos que le corresponde es 116,38 µg /dL, mientras que para el valor de plomo en sangre establecido por la Organización Mundial de la Salud 30 µg /dL como valor permisible de exposición para trabajadores expuestos le corresponde un valor de 292,85 µg /dL, en el caso de sobre exposición a plomo le pertenece un valor de 528,15 µg /dL. (Tabla 3).

Tabla 3. Valores de protoporfirina libre en eritrocitos para diferentes valores de plomo en sangre, según diferentes criterios planteados en la literatura

Valores de PPE	Valores de PbS
116,38 µg /dL	15 µg /dL
292,85 µg /dL	30 µg /dL
528,15 µg /dL	50 µg /dL

En el gráfico que aparece a continuación se muestra que el área bajo la curva ROC es buena (0,88) con un intervalo de confianza (IC) (95 %) entre 0,74 – 1,0. Esta curva nos permite conocer el rendimiento de la prueba, lo que demuestra que la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos por el método espectrofotométrico es eficaz para el diagnóstico de la exposición a plomo inorgánico. (Gráfico 3).

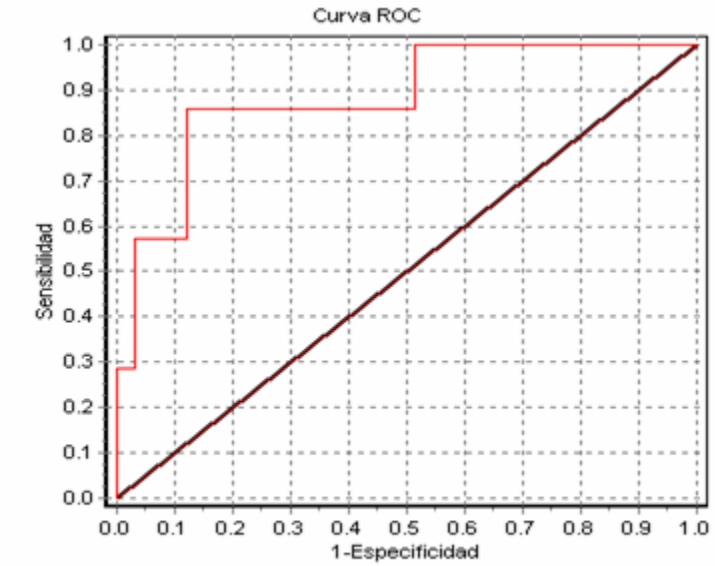

Gráfico 3. Curva ROC para la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos

El error típico de la estimación, es la desviación típica de los residuos, es decir, la desviación típica de las distancias existentes entre las puntuaciones en la variable dependiente (Pb) y los pronósticos efectuados en la recta de regresión. Representa una medida de la parte de la variabilidad de la variable dependiente que no es explicada por la recta de regresión. En general cuanto mejor es el ajuste, más pequeño es este error típico. (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de la curva ROC para la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos

Área ROC	EE	IC (95%)	
0,8831	0,0749	0,7363	1,0300

IC-Intervalo de confianza
EE-Error típico de la estimación

Los indicadores básicos que evalúan la eficacia del método espectrofotométrico para la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos como medio diagnóstico de exposición al plomo, según nos demuestran las curvas ROC son: la sensibilidad de la prueba de un 85,7 % y una especificidad del 84,6 %. (Tabla 5).

Tabla 5. Indicadores básicos para evaluar el medio diagnóstico

Indicador	Valor	IC (95 %)
Sensibilidad (%)	85,71	52,65 100,00
Especificidad (%)	84,85	71,10 98,60

La determinación propuesta puede contribuir significativamente en el monitoreo y control de la exposición de los trabajadores expuestos a plomo inorgánico, ya que además de ser un método suficientemente específico y preciso es una determinación rápida, simple y de bajo costo.

DISCUSIÓN

La determinación propuesta puede contribuir significativamente en el monitoreo y control de la exposición de los trabajadores expuestos a plomo inorgánico, por consiguiente, el método propuesto puede sustituir con mayor eficacia los métodos utilizados de coproporfirina III y ácido ð-aminolevulínico en orina, siendo únicamente necesario la complementación de la protoporfirina libre en eritrocitos con el plomo en sangre cuando los valores de protoporfirina libre en eritrocitos sean relativamente altos. Tentativamente, y de acuerdo a los resultados obtenidos, se consideran trabajadores expuestos a plomo los que presenten valores de protoporfirina libre eritrocitaria superiores a 229,16± 152,70 µg/dL, mientras que se consideran trabajadores con sobre exposición cuyos valores sean superiores a 528,15 µg/dL.[5,8,9,11]

Entre los niveles de ácido ð-aminolevulínico en orina con los de plomo en sangre, se encontró un coeficiente de correlación de 0,58 mientras que en la correlación de los niveles de protoporfirina libre en eritrocitos con los de plomo en sangre existe una correlación 0,70, siendo ambas positivas y más significativa la de protoporfirina libre en eritrocitos.

Para valores de plomo en sangre de 15 µg /dL establecido para personal no expuesto a plomo, el valor de protoporfirina libre en eritrocitos que le corresponde es 116,38 µg /dL, mientras que para el valor de plomo en sangre establecido por la Organización Mundial de la Salud 30 µg /dL como valor permisible de exposición para trabajadores expuestos le corresponde un valor de 292,85 µg /dL, en el caso de sobre exposición a plomo le pertenece un valor de 528,15 µg /dL.

Para evaluar numéricamente la precisión del método de protoporfirina libre en eritrocitos, se realizó un estudio de la dispersión de una serie de datos, obtenidos en la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos a una misma muestra de sangre venosa a un trabajador no expuesto, donde se le realizaron diez determinaciones a la muestra de sangre total, la repetibilidad arrojó una desviación estándar de ± 5,95 µg/dL con un coeficiente de variación de 3,87 %, siendo este menor de 5 %, demostrando que el método analítico presenta una adecuada precisión, lo que se corresponde con la literatura consultada.[12-14]

De las dos ecuaciones que resultaron del análisis de regresión lineal se encontró que la ecuación resultante para la protoporfirina ajustó mejor para realizar estimaciones de valores de plomo, ya que es la que tiene mayor valor del coeficiente de correlación de Pearson (r=0,70), mejor coeficiente de determinación (r^2=0,49) y además menor error estándar para estimar los valores de plomo en sangre.[15-19]

Teniendo en cuenta estos resultados se puede precisar que la ecuación pronóstico para los valores de plomo, haciendo uso de las cifras de protoporfirina libre en eritrocitos es mejor que la del ácido ð-aminolevulínico en orina. Esta curva nos permite conocer el rendimiento de la prueba, demostrando que la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos por el método espectrofotométrico es eficaz para el diagnóstico de la exposición a plomo inorgánico.[20-23]

No obstante, el estudio tuvo sus limitaciones en relación por el tamaño de la muestra y en cuanto a la extrapolación de los resultados obtenidos.

El estudió demostró que el método propuesto es eficaz en el monitoreo y control de la exposición ocupacional a plomo inorgánico; por consiguiente se puede emplear como marcador biológico de exposición al plomo, para el monitoreo periódico a los trabajadores expuestos al metal para prevenir el daño a la salud; la determinación de protoprorfirina libre eritocitaria puede sustituir con mayor eficacia los métodos utilizados de coproporfirina III y ácido delta aminolevulínico en orina, siendo únicamente necesario la complementación de la protoporfirina libre en eritrocitos con el plomo en sangre cuando los valores de protoporfirina libre en sean relativamente altos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ibarra EJ, González PJ, Díaz H, Aranda P, Anceáume T. Control de la exposición ocupacional al plomo en la fabricación de acumuladores. Rev Cubana Hig Epidemiol. 1986;24(2):253-8

2. Ibarra EJ, Martínez M, García E, Triolet A. Estado actual de la atención, investigación y control de la exposición e intoxicación por plomo en Cuba. Rev Cubana Hig Epidemiol. 1989;27(4):463-70

3. Ibarra EJ, Linares TME. Evaluación y control de la exposición ocupacional a plomo en Cuba: Evolución histórica y situación actual. Rev Cubana Salud Trabajo. 2005;6(2):210-15

4. Graziano JH. Validity of lead exposure markers in diagnosis and surveillance. Clin Chem. 1994;40(7 Pt 2):1387-90

5. Ramírez VA. Biomarkers used to monitor heavy metal exposure in metallurgy. An Fac Med Lima. 2006;67(1):49-55

6. Tarragó O. La Toxicidad del plomo [Internet]. Atlanta: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades; 2010 [citado 17 Mar 2014]. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/plomo/es_pb-portada.html

7. Reinoso L, Fernández M, Gómez F, Bandrés F. Actualización en marcadores biológicos del saturnismo. Rev Asoc Esp Espec Med Trab. 2003;12(2):77-90

8. Mejía JP. Evaluación del uso de la medición de protoporfirina eritrocitaria ligada al zinc como prueba de screening para la intoxicación por plomo [Internet]. Santander: Facultad Ciencias Químicas. Dpto Bioquímica Clínica; 2010 [citado 26 Mar 2013]. Disponible en: http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/evaluacion-uso-medicion-protoporfirina-eritrocitaria-libre-ligada-zinc-como-prueba/id/54504342.html

9. Wildt K, Berlin M, Isberg PE. Monitoring of zinc protoporphyrin levels in blood following occupational lead exposure. Am J Ind Med. 1987;12(4):385-98

10. Piomelli S. A micromethod for free erythrocyte porphyrins: the FEP test. J Lab Clin Med. 1973;81(6):932-40

11. Cárdenas O, Varona ME, Núñez SM, Ortiz JE, Peña GE. Correlación de protoporfirina zinc y plomo en sangre en trabajadores de fábricas de baterías de Bogotá, Colombia. Salud Pública Méx. 2001;43(3):203-10

12. Fernández FJ, González E. Intoxicación crónica por plomo. An Med Int. 2002;19(3):130-2

13. Ventimiglia F, Salibián A. Parámetros hemáticos de trabajadores expuestos a plomo. Acta toxicológica Argentina. 2003;11(2):102

14. Ibarra EJ. Implantación de límites de exposición ocupacional a sustancias nocivas en Cuba. Situación actual y perspectivas. Rev Cubana Hig Epidemiol. 1996;34(2):102-7

15. Ibarra EJ. Valores de referencia de plomo en sangre en la población cubana no expuesta a plomo. Algunas reflexiones necesarias. Rev Cubana de Salud y Trabajo. 2009;10(2):64-7

16. Ventimiglia FD, Mauleón L, Bruzzone L, Fink NE, Salibián A. Ferremia: ¿biomarcador de exposición humana al plomo?. Bioquímica y Patología Clínica. 2007;71(1):67-70

17. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. Prev Vet Med. 2000;45(1-2):23-41

18. Piatt JH. Receiver-operating characteristic curves. J Neurosurg. 2001;95(5):918-9

19. Kazmierczak CS. Statistical techniques for evaluating the diagnostic utility of laboratory tests. Clin Chem Lab Med. 1999;37(11-12):1001-9

20. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. Clin Chem. 1993;39(4):561-77

21. Chisolm J Jr, Brown DH. Micro-scale photofluorometric determination of "free erythrocyte porphyry"(protoporphyrin IX). Clin Chem. 1975;21(11):1669-82

22. Díaz AP. Alteraciones neurológicas por exposición a plomo en trabajadores de procesos de fundición, Soacha, 2009 [Tesis]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 26 May 2013]. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co/6507/

23. Mejía G, Medina MT, Padilla A. Exposición laboral a plomo. Un estudio de casos y controles en Honduras. Rev Med Post UNAH. 2003;8(1-2-3):53-61