

Comparación de la tasa de hierro sérico, ferritina, transferrina y protoporfirina en sangre venosa y capilar

Aida Quintela H.

DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA I.B.B.A.

ABSTRACT

The present study was carried out 1985 at the International Center for Control of Nutritional Anemia (ICCNA) in the Medical Faculty of the University of Kansas (City, U.S.A., and is based on the study of differences in plasma ferritin concentration between venous and capillary blood by Luis Mejía and Fernando Viteri from the Panamerican Health Organization (Washington, 1982) (1). We have included in our study measurements of serum iron, transferrin and protoporphyrin. Blood samples were taken from the cubital vein and the fingertip of the same subject on three occasions with 4 week intervals.

Serum and plasma were separated by centrifugation for the measurements. Serum iron was measured by means of a Ferrochem II Analyzer, ferritin and transferrin concentration by the enzyme linked immunosorbent assay technique (ELISA) and erythrocyte protoporphyrin (PE) by means of a Hematofluorometer. Since we did not find significant differences in the concentrations of serum iron, ferritin, transferrin and protoporphyrin between venous and capillary blood, to the contrary of other investigators, the present study will be continued in La Paz, Bolivia.

RESUMEN

En conocimiento de un estudio realizado el año 1982 por Luis Mejía y Fernando Viteri (1), sobre la diferencia de concentración de ferritina en plasma de sangre venosa y capilar, amplié esta investigación con el estudio de hierro sérico, transferrina y protoporfirina, trabajando en el International Center for Control of Anemia (ICCNA). Kansas, USA. La sangre fue recogida tanto de la vena cubital como del pulpejo del dedo del mismo sujeto en tres oportunidades con intervalos de cuatro semanas.

El suero y plasma para las determinaciones, fueron separados por centrifugación. La cuantificación de hierro sérico se realizó con el Analizador Ferrochem II, la concentración de ferritina y transferrina por el método de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) y la protoporfirina eritrocítica (PE) por el método del Hematofluorómetro. No habiéndose encontrado una significativa diferencia de la concentración de hierro sérico, ferritina, transferrina y proto-

porfirina en la sangre venosa y capilar, como citan otros autores, este trabajo piloto se continuará en La Paz - Bolivia.

INTRODUCCION

El hierro es requerido para una amplia variedad de procesos metabólicos en el organismo. La mayor cantidad es utilizada para la síntesis de las hemoglobinas, pero todas las células tienen un metabolismo activo del hierro y normalmente hay un equilibrio entre las demandas de la eritropoyesis y las de otros tejidos. La normal regulación del balance de hierro en el organismo, asegura la presencia de una adecuada tasa de hierro.

El hierro está contenido en dos principales compartimientos: Hierro funcional y Hierro de reserva. El compartimiento funcional consiste en una gran cantidad de hierro en la hemoglobina circulante, pero incluye una fracción pequeña en la mioglobina y algunas otras proteínas. Aunque no se conoce exactamen-

te el rol fisiológico del hierro, sin embargo, su deficiencia es importante desde el punto de vista de la salud y socio-económico, por las manifestaciones hematológicas y funcionales de la anemia.

El compartimiento del hierro de reserva no tiene otra función fisiológica que la de reemplazar las pérdidas del compartimiento funcional. Las reservas de hierro del organismo, se encuentran como ferritina y hemosiderina en las células retículo-endoteliales del hígado, bazo y médula ósea. (2).

La ferritina es una proteína de almacenamiento de hierro, teniendo en cuenta que la ferritina puede ser detectada en la sangre circulante, muchos estudios han demostrado que existe una estrecha relación entre concentración de ferritina sérica y valores de hierro no hemínico. En la anemia por deficiencia de hierro, las concentraciones de ferritina sérica son menores de 12 ug/litro, en cambio en las anemias hemolíticas y transfusionales, pueden observarse valores de ferritina de varios miles de ug/litro; pueden también estar elevados en enfermedades hepáticas e infecciosas, pero en estas condiciones puede ser que la concentración de ferritina sérica no refleje exactamente, el valor de reserva de hierro (3).

La transferrina es una glicoproteína ligada al hierro; juega un rol importante en el transporte y metabolismo del hierro de animales vertebrados. El valor de transferrina sérica varía con el estado del hierro; está incrementado en la anemia por deficiencia de hierro, pero está disminuído en el Kwashiorkor (Reeds et al, 1976) en el ayuno agudo, en el debilitamiento crónico renal, inflamación crónica y en la sobrecarga de hierro.

Su cuantificación es útil para definir la causa de la anemia y estimar el estado nutricional. Además de estas dos importantes áreas, la transferencia tiene un rol de defensa contra las infecciones y un rol recientemente descrito involucra la proliferación de las células (Brock 1981).

La protoporfirina se acumula en cantidades incrementadas en los glóbulos rojos, cuando hay insuficiente hierro disponible para combinarse con ella y formar el heme. La protoporfirina eritrocitaria está aumentada en la deficiencia de hierro y usualmente en un grado más alto en el envenenamiento por plomo. La cuantificación de la PE ha sido por esto usada para resguardar principalmente a los niños en las áreas urbanas y de bajos ingresos, donde ambas condiciones son comunes. En tales situaciones, un valor marcadamente elevado de PE, generalmente garantiza seguir estudios para investigar envenenamiento por plomo y deficiencia de hierro (4). La PE está también incrementada en enfermedades infecciosas e inflamatorias (5).

Se ha observado que los niveles de la PE permanecen aún elevados en la deficiencia de hierro hasta una o dos semanas después de iniciado el tratamiento. Mientras que los niveles de hierro sérico y ferritina sérica, se normalizan más rápidamente.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en 11 sujetos de 25 a 47 años de edad todos de nivel socio-económico medio, 6 norteamericanos, 2 coreanos, 1 inglés, 1 egipcio y 1 boliviano, siendo en total 6 hombres y 5 mujeres.

Se recolectó sangre venosa de la vena cubital y sangre capilar del pulpejo del dedo. De la sangre venosa sacada en cantidad de 4 ml, fueron colocados 3 ml en un tubo sin anticoagulante y 1 ml en un tubo heparinizado, para el análisis de PE. El tubo con la sangre sin anticoagulante se centrifugó para separar el suero para la cuantificación de hierro sérico, ferritina y transferrina. La sangre capilar fué recogida en 5 tubos capilares heparinizados, los que fueron centrifugados a 10.000 rpm, después cortados a nivel exacto de la interfaçe célula-plasma; el plasma fué utilizado para el análisis de hierro, ferritina y transferrina.

Cuantificación de Hierro

Se realizó usando el analizador Ferrochem II, instrumento destinado para el análisis de hierro y TIBC.

El tiempo de análisis en este aparato es de 30 segundos y se utilizan solo 10 ul de suero o plasma, haciéndose la lectura directamente en ug/dl en el mismo aparato.

Concentración de Ferritina

Se midió por el método de ELISA, que fué designado específicamente para medir el estado de hierro en control de poblaciones (6). El volúmen de muestra requerido para este ensayo, fué reducido a 10 ul de suero o plasma, los que se disuelven en tampón fosfato salino. La curva standard fué preparada analizando las siguientes concentraciones de ferritina: 0, 2, 5, 10, 20, 50 y 100 ug/litro, preparadas diluyendo las alícuotas de standard de ferritina que contienen 1.000 ug/1 de ferritina, con tampón fosfato salino (PBST).

La concentración 0 del standard, fué usada para determinar la ligazón "no específica" y la concentración de 100 ug/1, para calcular la ligazón máxima. Cada standard fué corrido en triplicado, lo mismo que las muestras de plasma y suero.

Para diluir los standards y las muestras se utilizó una pipeta automática GYLSON, usando solamente 10 ul de plasma o suero para el análisis, teniendo mucho cuidado de enjuagar la punta de la pipeta en un pocito de la placa, para no arrastrar nada de ferritina al siguiente pozo. El ensayo de ferritina de sangre venosa y capilar del mismo sujeto, se hizo simultáneamente, es decir en la misma corrida.

La lectura de las placas de ELISA, es ahora grandemente facilitada por el uso de instrumentos que miden la D.O. automáticamente en cada uno de los 96 pozos, en este estudio, se hizo la lectura utilizando el "Titertek Multiskan" acoplado a una computadora, a una longitud de onda de 492 nm.

Cuantificación de Transferrina

Se realizó por el método de ELISA usando la misma técnica que para ferritina, cambiando sólo el anticuerpo e incrementando el tiempo de incubación de las placas a 30 minutos más. La curva standard fué preparada del análisis de las concentraciones de transferrina correspondientes. Cada standard fué corrido en triplicado lo mismo que las muestras de plasma y suero. La lectura se hizo en el Titertek Multiskan

Cuantificación de la Protoporfirina

Se realizó en el Hematofluorómetro, instrumento que proporciona una inmediata lectura de la fluorescencia de una delgada capa de sangre total. La excitación de la luz a una longitud de onda de 415 nm es enfocada en la superficie más baja de un cubre-objeto horizontal cubierto con una delgada película de sangre.

El método del Hematofluorómetro, tiene ciertas ventajas: no requiere la medición del volumen de sangre a analizar, el instrumento es portátil, y el resultado puede ser obtenido en menos de un minuto.

RESULTADOS

Para el hierro sérico usando el Ferrochem II, se han obtenido los resultados directamente, haciendo la lectura de su concentración en el mismo aparato. La Fig. 1 muestra que en el mismo sujeto analizado, los valores de hierro sérico en muestras de sangre venosa y capilar, son similares.

Las concentraciones de ferritina y transferrina de las muestras de sangre venosa y capilar han sido determinadas en la curva graficada con los standards respectivos, observándose en las Fig. 2 y 3 que no existe una marcada diferencia de los valores obtenidos de muestras de sangre venosa y capilar. Los valores de protoporfirina eritrocitaria, se han obtenido directamente por lectura en el Hematofluorómetro, designado para la cuantificación de protoporfirina en ug/dl de glóbulos rojos. Fig. 4.

Los resultados encontrados de hierro sérico, ferritina, transferrina y protoporfirina de muestras de

sangre venosa y capilar, se pueden observar en la tabla I.

DISCUSION

En este estudio piloto, no se ha encontrado una significativa diferencia de los componentes férricos en muestras de sangre venosa y sangre capilar contrariamente a estudios anteriores (1) que mostraron que la concentración de ferritina de sangre capilar excedía a los valores encontrados en sangre venosa. Existe la posibilidad que la diferencia encontrada por los otros autores se debía a la ferritina liberada de las células sanguíneas por fricción de los eritrocitos y leucocitos al penetrar en el estrecho tubo capilar para hematocrito, o por presión del dedo. Otros investigadores encontraron que los leucocitos en general y en particular los monocitos, tienen grandes cantidades de ferritina. La concentración de ferritina en los leucocitos alcanza a 24 ug/1 (7), y en los monocitos es aproximadamente 7.5 veces más que la encontrada en otras células leucocitarias (8). La liberación de la ferritina de estas células contaminaría el plasma incrementando su concentración de ferritina. Es también posible que el incremento de ferritina que los otros autores encontraron en sangre capilar, se pueda deber a la ferritina mitocondrial liberada por ruptura del tejido.

Se concluye indicando que en el presente estudio las muestras de sangre capilar fueron obtenidas de la sangre que fluía después de la punción del dedo, sin hacer mayor presión en el mismo para obtener las gotas; tal vez sea esta una razón para no haber encontrado una diferencia importante en los valores de hierro sérico, ferritina, transferrina y protoporfirina en muestras de sangre venosa y capilar.

Sin embargo, teniendo en cuenta el reducido número de sujetos estudiados en el presente trabajo, continuaremos el mismo con un número mayor para poder corroborar estos resultados.

AGRADECIMIENTO

Mi reconocimiento al Dr. J.D. Cook, al Dr. Sean Lynch y demás personal del ICCNA, por toda la colaboración brindada.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- MEJIA LUIS A. and VITERI FERNANDO A. Ferritin concentrations in plasma from capillary (Finger-Prick) Blood and venous Blood Compared. *Clinical Chemistry*, 29, 871, 1983.
- 2.- COOK J.D., BOTHWELL T., COVELL A., DALLMAN P., LYNCH S., WORWOOD M.A. Report of the international Nutritional Anemia Consultative Group (INACG) December 1985.
- 3.- COOK J.D., HALLBERG L., HERCBERG S., HUSAINI M., LAYRISSE M., Joint FAO/WHO Report un requirements of Vit. A., Iron, Folate and Vit. B12 - Draft May 1985.
- 4.- Preventing lead poisoning in young children. A statement by the Centers for Disease Control DHEW Publication N°00-0000 December 1984 (in press).
- 5.- LANGER E.E., HAINING R.G., LABBE R.F., JACOBS P., CROSBY E.F., FINCH C.A., Erythrocyte protoporphyrin. *Blood* 1972; 40: 112 - 28.
- 6.- International Committee for Standardization in Hematology (Expert Panel on Iron) Preparation, Characterization and Storage of human ferritin for use as a standard for the assay of serum ferritin. *Clin. Lab. Hamatology* 1984. 6 177-91.
- 7.- LIPSCHITZ D.A., COOK J.D., FINCH D.A. Ferritin in formed blood elements, *PROC Soc. Exp. Biol - Med.* 148, 358-364, 1975.
- 8.- SUMMERS M., WORWOOD M., JACOBS A. Ferritin in normal erythrocytes, limphocytes, polymorphs and monocytes. *Br. J. Haematol.* 28, 19-26. 1974.

TABLA I.- COMPARACION DE HIERRO SERICO, FERRITINA, TRANSFERRINA Y PROTOPORFIRINA EN MUESTRAS DE SANGRE VENOSA Y CAPILAR

	SANGRE VENOSA	SANGRE CAPILAR	VALORES NORMALES
Hierro sérico	90 ug/dl	92 ug/dl	70 - 150 ug/dl
Ferritina	77 ng/ml	74 ng/ml	12- 300 ng/ml
Transferrina	271 mg/dl	267 mg/dl	200 - 350 mg/dl
Protoporfirina	68 ug/dl de G.R*	69 ug/dl de G.R*	± 50 ug/dl de G.R.*

* Glóbulos rojos

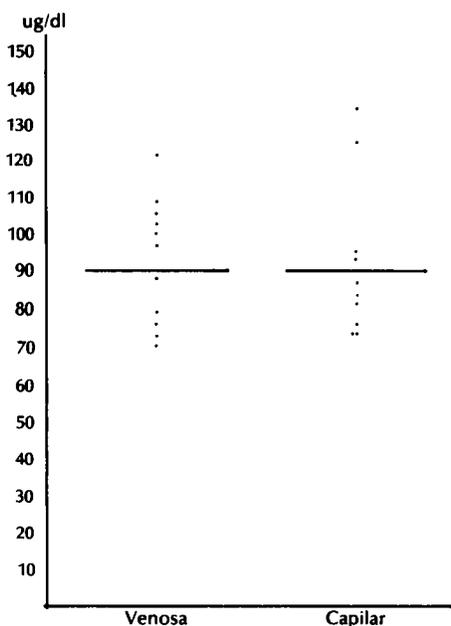


Fig. 1.- Contenido del Hierro sérico en muestras de sangre venosa y capilar.

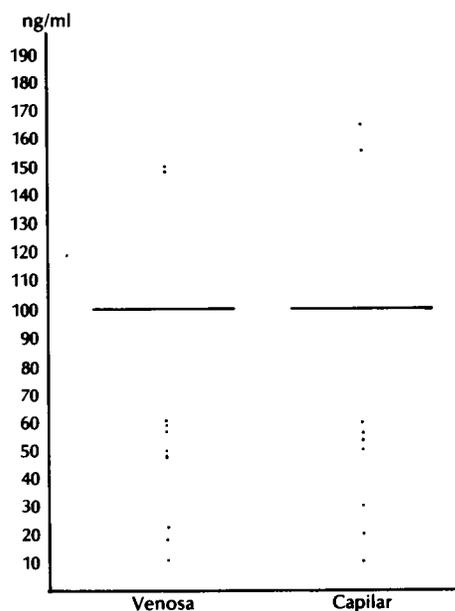


Fig. 2.- Contenido de Ferritina en muestras de sangre venosa y capilar.

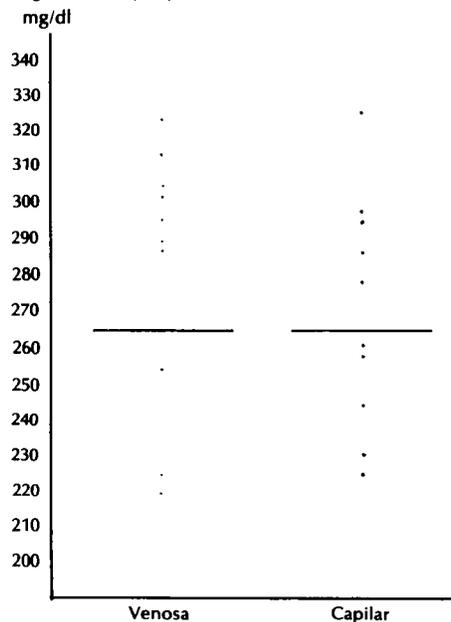


Fig. 3.- Contenido de transferrina en muestras de sangre venosa y capilar.

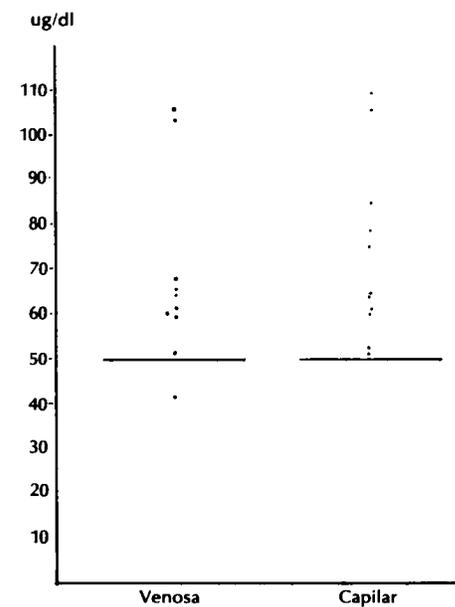


Fig. 4.- Contenido de protoporfirina en muestras de sangre venosa y capilar.