

Relación entre los niveles de ALA-D y ALA-U en función de las cifras de plumbemia.

Figura 1

EL ALA D: Fiabilidad de este parámetro como seguimiento de los saturnismos

J. COLMENERO Y A. ALBAIZAR

y su relación con cifras de plomo en sangre y ALA en la orina

La exposición al plomo en las sociedades industrializadas es amplia y las consecuencias de la misma, de gran importancia desde el punto de vista económico, laboral y sanitario (1, 2, 3).

Espoleados por este importante problema, han sido incesantes los esfuerzos llevados a cabo desde el comienzo de este siglo para lograr una mejor comprensión de las fuentes de contaminación por el metal, las formas y vías de absorción, la fisiopatología de las altera-

Trabajo resumen de la beca concedida por fundación MAPFRE

ciones producidas, los métodos bioquímicos y biológicos para un correcto diagnóstico y las pautas más eficaces de prevención y tratamiento (4, 5).

Sin embargo, el cuadro clínico que determina la intoxicación por plomo es tardío en su aparición y heterogéneo en su presentación, lo cual puede determinar importantes retrasos en su diagnóstico y, por

tanto, en su prevención y tratamiento. Dado lo complejo y costoso de los métodos empleados hasta hace escaso tiempo en el diagnóstico del saturnismo, han sido muchos los autores preocupados por definir métodos, más seguros, rápidos y baratos que las determinaciones de plomo en sangre y orina.

Desde que Shemin (6) en 1968 y

Nikkanen (7) en 1972 demostraron la inhibición del ALA-Deshidrasa (ALA-D), enzima que cataliza la condensación de las moléculas de ácido delta-aminolevulinico (ALA) para formar la molécula monopirrólica de porfobilinógeno, era una de las más precozmente inhibida, se pensó en utilizar la medición de esta enzima en el diagnóstico del saturnismo. Superadas las primeras dificultades metodológicas para la determinación del ALA-D estandarizado el procedimiento a seguir bajo los auspicios del Comité de Expertos de las Comunidades Europeas e identificados aquellos factores capaces de interferir en el ensayo de ALA-D (8, 9, 10), esta enzima se ha revelado como un índice sensible, fiel y bastante específico de la exposición al plomo.

En el presente trabajo pretendemos valorar la fiabilidad del ALA-D respecto a las cifras de plumbemia y ALA-Urinario (ALA-U) en una amplia población de pacientes expuestos al plomo.

El cuadro clínico que determina la intoxicación por plomo es tardío en su aparición y heterogéneo en su presentación, lo cual puede determinar importantes retrasos en su diagnóstico y, por tanto, en su prevención y tratamiento.

MATERIAL Y METODOS

Hemos estudiado 119 trabajadores de la minería del plomo, a los cuales se les determinó las cifras de plumbemia mediante espectrofotometría de absorción atómica, según la técnica de Delves (Espectrofotómetro Perkin-Elmer, mod.

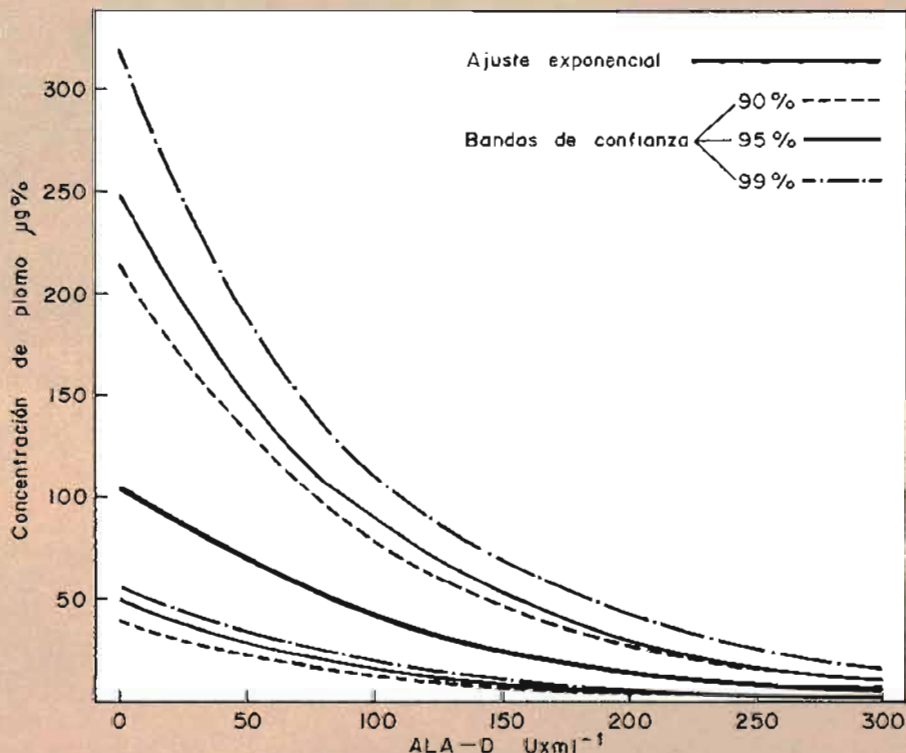
360 con corrector de fondo de deuterio); ALA urinario por cromatografía en columna (Ingotest Boehringer) y ALA-Deshidrasa siguiendo el método colorimétrico descrito por Bonsignore (Kits, de la casa Sibar).

Seguindo los criterios internacionales más aceptados, hemos agrupado los sujetos estudiados en cuatro grupos: Grupo I. Plumbemias inferiores a 40 microgramos por 100. Grupo II. Plumbemias comprendidas entre 40-60 microgramos. Grupo III. Plumbemias entre 60 y 80 microgramos, y Grupo IV. Integrado por aquellos pacientes con cifras de plomo superiores a 80 microgramos.

Como control se estudiaron 15 donantes altruistas de sangre exentos de contacto con el metal.

Hemos relacionado estadísticamente las cifras de plomo sanguíneo y ALA-Urinario mediante el ajuste de la adecuada recta de regresión; de similar modo se relacionaron las cifras de ALA-D y ALA-U.

La relación entre la plumbemia y



Relación exponencial negativa entre las cifras de plumbemia y ALA-D, con sus respectivas bandas de confianza al 90, 95 y 99 por 100.

Figura 2



El estudio se ha realizado sobre 119 trabajadores de la minería del plomo, a los cuales se les determinó las cifras de Plumbemia, ALA-urinario y ALA-deshidrasa siguiendo el método colorimétrico descrito por BONSIGNORE. Como control se estudiaron 15 donantes altruistas de sangre exentos del contacto con el metal.

Las cifras de ALA-D se estudió mediante el análisis de la covarianza, considerando el nivel de plomo como covariable, tomando logaritmos de las variables por ser la relación ALA-D y plomo de tipo potencial. Habiendo resultado significativo el valor de la F de Snecor Experimental se analizan las diferencias entre las distintas medias de ALA-D corregidas para el plomo, mediante el test de Scheffe. Asimismo se ha ajustado una curva de tipo ponencial con el fin de determinar la posible cifra de plomo para un nivel dado de ALA-D, hallando las bandas de confianza para el 90, 95 y 99 por 100.

RESULTADOS

Los 32 pacientes de nuestro grupo I mostraban unas cifras de plomo de $29,51$ microgramos $\pm 1,02$, siendo sus niveles de ALA-U de $4,32 \pm 0,23$ miligramos/litro y sus niveles sanguíneos de ALA-D de $124 \pm 5,4$ unidades/ml. Los 31 pacientes del grupo II tenían unas plumbemias de $51,34 \pm 0,83$ microgramos, un ALA-U de $7,27 \pm 0,81$ miligramos/litro y un ALA-D de $61,84 \pm 3,50$ u/ml. El grupo III estaba formado por 30 pacientes cuyas cifras de plomo, ALA-U y ALA-D fueron, respectivamente, de $67,90 \pm 0,83$ microgramos por 100, $10 \pm 1,12$ mgrs/l y $50,23 \pm 3,97$ unidades/ml; por último, los 26 pacientes del grupo IV tenían unas cifras de plomo de $123,57$ microgramos, $29,45$ mgrs/l

de ALA-U y $43 \pm 4,42$ u/ml de ALA-D.

El grupo de control arrojaba unas cifras de plomo de $15,26 \pm 0,98$ microgramos, un ALA-U de $1,59 \pm 0,21$ mgrs/l y un ALA-D de $175,13 \pm 12,32$ u/ml. En la figura número 1 se puede apreciar el ascenso progresivo de las cifras de

La determinación del ácido delta-aminolevulínico en orina fue usada desde hace años con éxito en el diagnóstico de la intoxicación por plomo por HAEGER-ARONSEN, HERNBERG y otros, siendo estrecho el coeficiente de correlación entre el ascenso de la plumbemia y el ALA-urinario. Sin embargo, la determinación del ALA-U presenta una serie de inconvenientes que lo descalifican como el marcador ideal.

ALA urinario y el descenso correlativo de los niveles de ALA deshidrasa en función de las cifras de plomo sanguíneo.

La relación entre el plomo y ALA-U se estudió ajustando varias líneas de regresión, consiguiéndose el mejor ajuste para la ecuación

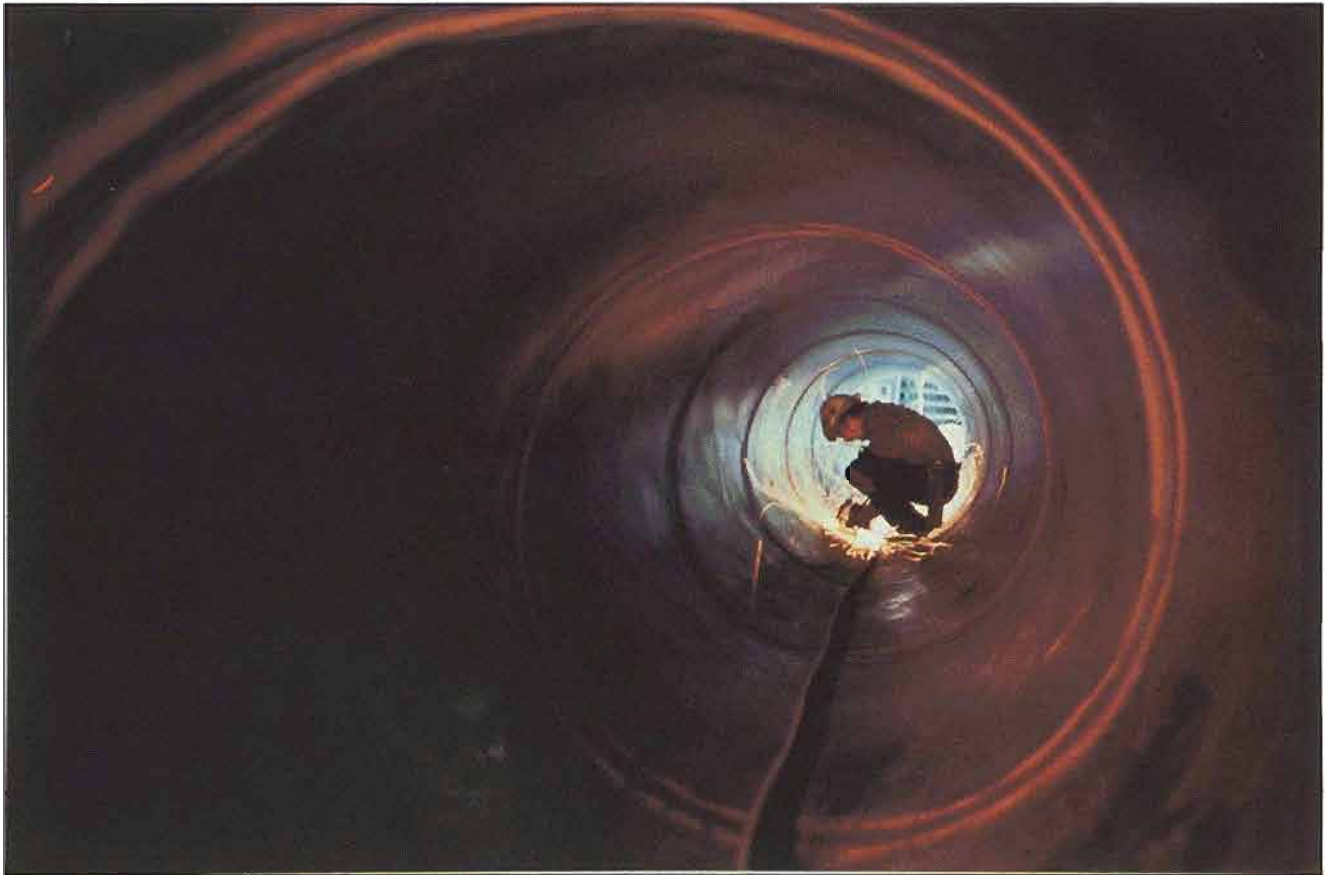
$$Y = 37,6492 + 2,3227x$$

siendo Y = cifra de plomo y x = valor de ALA-U, hallándose un coeficiente de correlación lineal de $r = 0,7674$. De similar forma se estudió la relación ALA-U y ALA-D, siendo el coeficiente de correlación francamente más bajo, $r = 0,5188$.

La relación entre el plomo y ALA-Deshidrasa tras el análisis de la covarianza entre las distintas medias de ALA-D correspondientes a los distintos niveles de impregnación plúmbica, nuestros valores claramente significativos, $p < 0,001$, entre los grupos I, respecto al resto de los grupos, no siendo significativos los valores entre los grupos II, III y IV. Del estudio de la curva exponencial (figura 2) y las distintas bandas de confianza ajustadas al 90, 95 y 99 por 100 se deduce que para mayores cifras de ALA-D más estrechamente puede deducirse la posible plumbemia, siendo muy difícil para cifras inferiores a 100 u/ml de ALA-Deshidrasa.

DISCUSION

Desde que De Bruin (11), Nakao (12), Weissberg (13), Nikkanen (14)



De nuestro estudio y otros similares se desprende la rápida inhibición que experimenta el ALA-D en los pacientes expuestos al plomo, comenzando el descenso de sus niveles muy precozmente, esta inhibición progresa exponencialmente a medida que aumenta la plumbemia hasta ser prácticamente el 75-80 por 100 por encima de los 80 microgramos.

y otros autores describieron la afectación por el plomo de algunas enzimas clave en la síntesis del HEM, y la consiguiente elevación de algunos precursores en sangre y su excesiva eliminación urinaria, comenzaron los intentos de encontrar un marcador sencillo y fiel de la intoxicación plúmbica, que obviara la compleja, cara y, a veces, contradictoria (15, 16, 17) determinación del metal en sangre y orina, si bien aún hoy día después de los avances conseguidos no podemos eludir la necesidad de usar el plomo como referencia de cualquier marcador (18).

La determinación del ácido delta-aminolevulinico en orina fue usada desde hace años con éxito en el diagnóstico de la intoxicación por plomo por Haeger-Aronsen, Hernberg (19) y otros, siendo el coeficiente de correlación entre el ascenso de la plumbemia y el ALA-urinario hallado por distintos autores y por nosotros mismos, francamente estrecho. Sin embargo, la determinación del ALA-U presenta una serie de inconvenientes que lo descalifican como el marcador ideal (inconvenientes

Desde que SHEMIN (6) en 1968 y NIKKANEN(7) en 1972, demostraron la inhibición del ALA-Deshidrasa (ALA-D), esta enzima se ha revelado como un índice sensible, fiel y bastante específico de la exposición al plomo.

propios de ser una determinación urinaria, elevación en otros procesos diferentes como son algunas porfirias) y poseer un umbral para su elevación excesivamente alto, 40-50 microgramos a la luz de las ideas actuales (18).

Aunque el ALA-D, segunda enzima de la biosíntesis del HEM, es

inhibida «in vitro» por algunos metales: mercurio, cobalto, cinc, cobre y manganeso, tal como demostraron Hernberg y Nikkanen en 1972 (14), y en vivo por el alcohol (20), es el plomo la causa más frecuente en la inhibición de esta enzima.

Schaller, Granick, Tola y otros (21, 22, 23) sugirieron a comienzos de los años setenta la utilidad de la determinación sanguínea del ALA-D, en el diagnóstico del saturnismo. De nuestro estudio y otros similares se desprende la rápida inhibición que experimenta el ALA-D en los pacientes expuestos al plomo, comenzando el descenso de sus niveles muy precozmente, de forma que cifras sanguíneas de plomo de 40 microgramos, y aun inferiores, consideradas en adultos no peligrosas, deparan cifras de ALA-D por debajo de la normalidad, esta inhibición progresa exponencialmente a medida que aumenta la plumbemia hasta ser prácticamente del 75-80 por 100 por encima de los 80 microgramos.

A pesar de esta clara relación exponencial negativa entre las cifras de Pb y ALA-D, si comparamos entre sí los distintos grupos estudiados en el presente trabajo po-

El ALA-deshidrasa es una enzima extraordinariamente sensible a la acción del plomo, descendiendo significativamente sus niveles con cifras de plomo relativamente bajas, lo que hacen muy útil su determinación, como test de screening para colectivos expuestos al tóxico, descartándose saturnismo en aquellos pacientes con cifras superiores a 125 u/ml de ALA-D, siendo preciso la determinación de la plumbemia en aquellos pacientes cuyas cifras sean inferiores.

demostramos apreciar que sólo existe significación estadística, $p < 0,001$, entre los pacientes con cifras de Pb inferiores a 40 microgramos (grupo I), y los de cifras superiores (grupos II, III y IV). Del estudio de la curva exponencial y las respectivas bandas de confianza, se deduce que sólo para cifras francamente elevadas de ALA-D (siempre dentro de los límites de la normalidad) puede predecirse con estrecho margen de error, las posibles cifras de plomo que tendrá el paciente en cuestión.

Desde el punto de vista práctico, y a la luz de los datos recogidos en nuestra experiencia, podemos concluir que el ALA-Deshidrasa es una enzima extraordinariamente sensible a la acción del plomo, descendiendo significativamente sus niveles, con cifras de plomo relativamente bajas, lo que hace muy útil su determinación, como test de screening para colectivos expuestos al tóxico, descartándose saturnismo en aquellos pacientes con cifras superiores a 125 u/ml de ALA-D, siendo preciso la determinación de la plumbemia en aquellos pacientes cuyas cifras sean inferiores. ■

BIBLIOGRAFIA

- HARDING, P.: «The control of lead, cost benefit analysis». *Ann occup. Hyg.*, 24, 147-154, 1981.
- VILLABI, HESTER, J. R. et al.: «Exposición profesional al plomo inorgánico». *Med. y Seg. del Trab.*, 28, 222-228, 1980.
- EMBERG, L. R.: «Environmental lead. Incidious health problem». *Chem. Eng. News*, 58, 28-35, 1980.
- HERNBERG, S.: *Biochemical and Clinical Effects and Responses as indicated by blood concentrations*. En SINGHAL R. L. and THOMAS J. A. Lead Toxicity. Ed. by Urban and Schwarzenberg Inc. Baltimore, 367-399, Munich, 1980.
- HAMMOND, P. B.; LERNER, S. I.; GARTSIDE, P. B. et al.: «The relationship of biological indices of lead exposure to the Health status of workers in a secondary lead smelter». *J. of Occup. Med.*, 22, 475-484, 1980.
- SHEMIN, D.: *Symp. Biochem. Soc.*, 28, 75, 1968.
- NIKKANEN, J. B.: «Delta-aminolevulinic acid deshydratase test and their significance for assessing different intensities of lead exposure». *Scand. J. Work Environ. Health*, 9, 46-52, 1972.
- GONZALEZ FERNANDEZ, E.: «Comparación analítica en la determinación del ALA-D con un kit comercial y el método recomendado por la Comisión de las Comunidades Europeas». *Med. y Seg. del Trabajo*, 28, 215-222, 1980.
- BERLIN, A.: «European standardized method for the determination of ALA-D activity in blood». *Z. Clin. Chem. Klin. Biochem.*, 12, 389-390, 1974.
- WIGFIELD, D. C.; FARANT, J. P.; GOLDBERG, C. H. and MAC KEEN, J.: «Interferences in ALA-D». *Assay. J. Anal. Toxic.*, 5, 57-61, 1981.
- DE BRUIN, A. and HOOLBOOM, H.: «Early signs of lead exposure. A comparative study of laboratory test Brit». *J. Indust. Med.*, 24, 203-212, 1967.
- NAKAO, K. et al.: «Delta-aminolevulinic acid deshydratase activity in erythrocytes for the evaluation of lead poisoning». *Clin. Chim. Acta*, 19, 319-325, 1968.
- WEISSBERG, J. B. et al.: «Delta-aminolevulinic acid deshydratase activity in circulating blood cells». *N. Engl. J. Med.*, 284, 565-569, 1971.
- NIKKANEN J. et al.: «Modification of the ALA-D test and their significance for assessing different intensities of lead exposure». *Scand. J. Work Environ Health*, 9, 46-52, 1972.
- HAMMOND, P. B.: «Exposure of humans to lead». *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17, 197-205, 1977.
- KEHOE, R. A.: «The metabolism of lead in man in health and disease». *Jr. Inst. Public Health*, 24, 101-107, 1961.
- SANCHEZ, M.^a L.; RUBIO, P.; MILLAN, J. et al.: «Criterios en el diagnóstico del saturnismo». *Rev. Clin. Esp.*, 157, 203-211, 1980.
- ZIELHVIS, R. L.: «Second international workshop. Permissible levels for Occupational Exposure to inorganic lead Arch». *Occup. Environ Health*, 39, 59-72, 1977.
- HERNBERG, S. y NIKKANEN, J.: «Enzyme inhibition by lead nuclear normal. urban condition». *Lancet*, 1, 63-64, 1970.
- MOORE, M. R. et al.: «Depression of ALA-D activity by ethanol in man and rat». *Clin. Sci.*, 40, 81-88, 1971.
- HAEGER-ARONSEN et al.: «Effect of lead on ALA-D activity in red blood cells». *Arch. Environ Health*, 29, 150-153, 1974.
- TOLA, S.: «Erythrocyte —aminolevulinic acid deshydratase activity after termination of lead exposure work». *Environ Health*, 9, 66-70, 1972.
- SECCHI, GC.; ALESSIO, L.; y CAMBIAGNU, G.: «Ricerca sull'attività ALA-D deshidratasa eritrocitaria di saggetti non esposti a contatto professionale con piombo». *Me. Lavore*, 62, 435-450, 1971.
- SELANDER, S., and CRAMER, K.: «Interrelationships between lead in blood, lead in urine and ALA in urine during work». *Br. J. Ind. Med.*, 27, 28-30, 1970.
- WALDRON, HA.: «The blood lead thresholds». *Arch. Environ Health*, 29, 271-273, 1974.
- BATTISTINI, V. et al.: «ALA-D activity in anaemia». *Br. J. Haematol.*, 20, 177-184, 1971.
- ZUÑIGA-CHARLES, M. et al.: «Erythrocyte protoporphyrin IX as a diagnostic and therapy. Evaluating Tool in lead poisoning». *Arch. Environ Health*, 36, 40-43, 1981.
- SECCHI, GC. y ALESSIO, L.: «Laboratory results of some biological measures in workers exposed to lead». *Arch. Environ Health*, 29, 351-354, 1974.