

## NORMALNE VRIJEDNOSTI PORFIRINA U URINU

D. ĐURIĆ i T. BELAMARIĆ

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada i Odjeljenje za higijenu rada,  
Uojna bolnica, Zagreb*

*(Primljeno 1. IX. 1959.)*

Ukratko se iznosi metabolizam porfirina i navode podaci iz literature o vrsti i izomerima porfirina i o količini koproporfirina. Autori ukazuju na djelomično protivrječne podatke o faktorima, koji utječu na izlučivanje koproporfirina u urinu (tjelesna težina, spol, godišnje doba, konzumacija alkohola, klima i uvjeti života), pa iznose vlastite rezultate normalnih vrijednosti koproporfirina u urinu dobivenih analizom urina kod 75 zdravih muškaraca i 75 žena. Određivanja su izvršena po metodi Fischera i Fikentschera, koju su modificirali Weber K. i Ruždić. Rezultati su statistički obrađeni i tabelarno izneseni.

### UVOD

Porfirini, koji nastaju sintezom u ljudskom organizmu, većim dijelom se upotrebljavaju za stvaranje hema, odnosno hemoglobina (izomeri III), a ostatak odlazi u opću cirkulaciju. Odavde se jedan dio izlučuje preko bubrega, a drugi dio odlazi u jetru. U jetri se koproporfirin razara u žučne boje, dok se ostali porfirini izlučuju neizmijenjeni sa žuči u crijeva. Veći dio porfirina izlučuje se preko stolice, a manji dio preko bubrega, osim u slučajevima, kad je poremećen rad jetre. Pored ovog »endogenog porfirina« u organizam se unosi hranom (klorofil, mioglobin, hemoglobin) i porfirin t. zv. »egzogenog porijekla«. Crijeva resorbiraju te porfirine, kao i one koje sintetiziraju bakterije crijevne flore.

U urinu se uglavnom izlučuju porfirini endogenog porijekla, pa je zato njihov nivo u urinu mnogo konstantniji od nivoa u fecesu. Zbog toga se i obraća veća pažnja analizi porfirina kod zdravih ljudi, pa u slučajevima porfirija i porfirinurija.

Comfort i suradnici (1) utvrdili su, da se u urinu zdravih ljudi uglavnom izlučuje koproporfirin, i to oba izomera I i III. Svega oko 20% otpada na uroporfirin I i III (1, 2, 3), te na porfirine sa 5-7 karboksilnih grupa (1). Veći dio porfirina se izlučuje u obliku nefluorescentnih prethodnika (4, 5), koji se pretvaraju u fluorescentni porfirin pod utjecajem kisika iz zraka, peroksida, ultraljubičastog svjetla ili oksidacijom s jodom. Holeček (6, 7) smatra, da se u organizmu sav porfirin izlučuje u obliku nefluorescentnih prethodnika, a da pretvaranje započinje vjerojatno u mokraćnom mjehuru, tako da se u svježem urinu izlučuje samo oko 25% već preformiranog porfirina. Omjer izomera je otprilike jednak (6) uz slabo preovlađivanje izomera III. Stariji navodi tvrde (8), da znatno preovlađuje izomer I.

Što se tiče kvantitativnih rezultata, oni se razlikuju. To je posljedica različitih metoda analize i raznih drugih uvjeta, o kojima će kasnije biti riječ.

Uroporfirin se izlučuje do 20  $\mu\text{g}$  na dan (2). Za koproporfirin postoje različiti podaci. Prvo ćemo razmotriti podatke dobivene analizom samo izlučenog, već preformiranog fluorescentnog koproporfirina. Cantarow, Trumper (9) navode, da se dnevno u normalnom urinu izlučuje 10-120  $\mu\text{g}$  koproporfirina. Watson i Larson (10) našli su količine od 14-99  $\mu\text{g}$  na dan. Watson i suradnici su 1949. g. kao srednju vrijednost utvrdili 54  $\mu\text{g}$  na dan.

U njemačkoj literaturi su vrijednosti ove: Brugsch (12) navodi, da pri ishrani siromašnoj porfirinima prosječna vrijednost koproporfirina u urinu normalnih ljudi iznosi 40-50  $\mu\text{g}$  na dan. Kod ishrane bogate porfirinima ta se vrijednost penje na 80-100  $\mu\text{g}$  na dan. Weidner i Hunold (13) smatraju, da se kod zdravih ljudi izlučuje 30-80  $\mu\text{g}$  na dan, a kod radnika, koji rade s olovom, i do 150  $\mu\text{g}$ . Stein (14) navodi podatke slične Brugschovim (12).

Vannotti (15) sumira rezultate istraživanja niza autora (Brugsch, Dobriner, Fink, Hörburger, Jope, O'Brien, Lageder, Rimington, Schreuss, Watson, Vannotti) zaključujući, da se u normalnom urinu izlučuje do 100  $\mu\text{g}$  koproporfirina na dan.

Međutim su 1951. godine Schwartz i suradnici (16) usavršili metodu, po kojoj su djelovanjem joda (3 molekule joda na molekulu prethodnika porfirina) pretvorili sve nefluorescentne prethodnike u fluorescentni porfirin. U daljem toku pomoću fluorescencije određivana je cjelokupna količina koproporfirina u urinu. Kao što smo rekli, u svježem urinu je i do 75% porfirina izlučeno u obliku nefluorescentnih prethodnika, pa su rezultati određivanja ovom metodom znatno viši.

Zieve, Hill, Schwartz i Watson (17) obradili su normalne vrijednosti porfirina u urinu navedenom metodom (16) i dobili ove rezultate: za grupu muškaraca, koji ne konzumiraju alkohol, srednja vrijednost iznosi 163  $\mu\text{g}$  na dan, gornja granica 275  $\mu\text{g}$  na dan. Za žene su dobili

vrijednosti od 48–268  $\mu\text{g}$  na dan, srednja vrijednost  $134 \pm 42$ , a gornja granica 275  $\mu\text{g}$ . Za grupu muškaraca s jakom konzumacijom alkohola srednja vrijednost iznosi 232  $\mu\text{g}$ , a gornja granica 350  $\mu\text{g}$  na dan.

Već su prije mnogi autori zapazili, da konzumacija alkohola povisuje izlučivanje koproporfirina u urinu, što se pripisuje oštećenju jetre. Ovo povišenje naročito je značajno kod akutne intoksikacije alkoholom (19). Zato Schwartz (4) sumira normalne vrijednosti koproporfirina u urinu ovako:

normalni muškarci . . . . .	100–300 $\mu\text{g}$ na dan
normalne žene . . . . .	75–275 $\mu\text{g}$ na dan
akutni alkoholičari . . . . .	250–500 $\mu\text{g}$ na dan

Kao što se da uočiti, jedan od važnih uzroka razlike u normalnim vrijednostima je konzumacija alkohola.

Drugi faktor, koji smo već uočili, je spol. Hoffbauer, Watson i Schwartz (20) su ispitivali normalne vrijednosti koproporfirina u urinu štakora i utvrdili, da se u urinu mužjaka ( $40 \pm 16 \mu\text{g}$ ) izlučuje gotovo dva puta više nego u urinu ženki ( $14 \pm 5 \mu\text{g}$ ). Zatim su štakorc kastrirali, pa se porfirin kod obje grupe nakon 40 dana povisio. Nakon toga su kastriranim mužjacima davali estrogen, pa je količina porfirina pala gotovo na polovicu. Kastriranim ženkama davali su androgen, i to je znatno povisilo količinu porfirina u urinu.

Neki su autori našli, da i tjelesna težina igra ulogu. Strait i suradnici (21) tvrde, da postoji korelacija između količine izlučenog koproporfirina i tjelesne težine, a ne postoji korelacija koproporfirina i površine tijela. Do sličnog zaključka su došli i Hsia i Page (22) ispitujući normalne vrijednosti porfirina u urinu grupe dječaka od 6–16 godina.

Zieve i suradnici (17) su zapazili, da postoji statistički značajna razlika u izlučivanju koproporfirina u urinu zdravih osoba oba spola u raznim godišnjim dobama i da je izlučivanje veće u jesen nego u proljeće.

Svakako igra veliku ulogu geografski položaj, klima i način života. Japanski autori (23) su određivali porfirin u urinu Japanaca po metodi Schwartza i suradnika (16). Za muškarce su dobili srednju vrijednost od 31,6  $\mu\text{g}$  na dan, dok su se vrijednosti kretale od 12–150  $\mu\text{g}$ . Kod žena su se vrijednosti kretale od 20–125  $\mu\text{g}$  na dan. Ovi autori nisu našli značajne razlike s obzirom na godišnje doba i godine starosti. Niže rezultate od američkih autora objašnjavaju drugačijim načinom života, a naročito manjom konzumacijom mesa i alkohola.

## REZULTATI I OBRADA REZULTATA

Kako vidimo, podaci iz strane literature ne mogu se jednostavno primijeniti na osobe druge narodnosti, koje imaju drugačiji način života. Zbog toga je postojala potreba da se ispitaju normalne vrijednosti porfirina u urinu naših ljudi.

Kako bismo utvrdili normalne vrijednosti za naše prilike, izvršili smo analize koproporfirina u urinu 75 zdravih žena i 75 zdravih muškaraca u dobi od 18 do 60 godina. Podjela je izvršena samo s obzirom na spol. Analize su vršene sukcesivno u toku godine bez obzira na godišnje doba. Isto tako nije uzeta u obzir tjelesna težina. Analize su vršene po metodi Fischera i Fikentschera, koju su modificirali K. Weber i Ruždić (24). Modifikacija po Weberu i Ruždiću sastoji se u upotrebi sumporne kiseline za ekstrakciju, jer klor ion gasi fluorescenciju. To znači, da je određivanje samo već preformirani, fluorescentni koproporfin. Pokušaji određivanja porfirina po metodi Schwartza i suradnika (16), gdje se pomoću otopine joda vrši preformiranje prethodnika, nisu dali pozitivnih rezultata. Brugsch i Gut (25) su kritički prokontrolirali ovu metodu 1955. g. i dobili malo povišenje vrijednosti porfirina od svega nekoliko postotaka. S obzirom na to, da je ova metoda duža i skuplja, a nije dala pozitivnih rezultata, mi smo za određivanje upotrebili već uvedenu i pouzdanu metodu po Weberu i Ruždiću. U našoj literaturi ova metoda je detaljno opisana na drugom mjestu (26). Urin je sakupljan kod svakog slučaja od 8 sati ujutro do idućeg jutra u 8 sati. Analize su vršene sat-dva nakon završetka sakupljanja. Može se pretpostaviti, da je do tog doba veći dio prethodnika već preformiran u porfirin. Boce su držane na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi.

Za svaki uzorak urina izvršili smo dvije paralelne analize i jednu slijepu probu. Kao rezultate analize uzeli smo srednju vrijednost određivanja:

Tablica 1.

	muškarci	žene
Broj ispitanika . . . . .	75	75
Srednje vrijednosti koproporfirina u urinu u $\mu\text{g}$ na 24 sata . . . . .	154,37	140,33
Gornje granice normalnih vrijednosti u $\mu\text{g}$ na 24 sata . . . . .	241,60	220,19
Standardna devijacija . . . . .	67,10	61,43

Granica tolerancije je 90%, a koeficijent pouzdanosti 0,95. Razlika aritmetičkih sredina obiju grupa nije statistički značajna.

U tablici 1 izneseni su rezultati posebno za grupu muškaraca i posebno za grupu žena. Kao gornje granice normalnih vrijednosti uzeli smo gornje 90%-granice tolerancije s koeficijentom pouzdanosti 0,95. (Način izračunavanja granice tolerancije opisan je u knjizi Eisenhart, Hastay and Wallis: Techniques of Statistical Analysis, New York and London, 1947, str. 47.) To drugim riječima znači, da ima 95% vjero-

jatnosti, da će uz uvjete, koji su vladali, kad je uzorak bio sakupljan, najmanje 90% populacije biti ispod te granice. Nalaze iznad tih vrijednosti možemo, dakle, smatrati posljedicom povišene ekspozicije.

Budući da ovom prilikom nije uzeta u obzir konzumacija alkohola, to će dalji rad biti usmjeren u pravcu određivanja porfirina kod alkoholičara.

### ZAKLJUČAK

1. Srednja vrijednost koproporfirina u urinu za muškarce iznosi 154  $\mu\text{g}$  na 24 sata, a gornja granica 241  $\mu\text{g}$  na 24 sata, dok za žene iznosi 140  $\mu\text{g}$  na 24 sata, odnosno 220  $\mu\text{g}$  na 24 sata. Nalazi 150 ispitanika, koji su svrstani u tablici 1, potvrđuju, da između oba spola ne postoji statistički značajna razlika.

2. Određivan je samo već preformirani koproporfirin metodom fluorescencije, gdje je za konačnu ekstrakciju upotrebljena 10% sumporna kiselina.

3. Dobiveni podaci su slični američkim podacima, a znatno viši od njemačkih; to se može tumačiti razlikom u primijenjenoj metodi i uvjetima života i prehrane.

### Literatura

1. *Comfort, A., Moore, H., Weatherall, M.*: Biochem. J. 58, (1954) 177.
2. *Lockwood, W.*: Austral. J. exp. Biol. Sc. 31, (1953) 453.
3. *Lockwood W. H., Bloomfield, B.*: Austral. J. exp. Biol. Sc., 32 (1954) 733.
4. *Schwartz, S.*: Vet. Adm. Tech. Bull. T. B., 10-94, 1953.
5. *Watson, C. J., De Mello, P., Schwartz, S., Hawkinson, W. E., Bossenmeier, J.*: J. Lab. & Clin. Med., 37 (1951) 831.
6. *Holeček, U.*: Prac. lek., 8 (1956) 333.
7. *Holeček, U.*: Ibid., 9 (1957) 513.
8. *Watson, C. J.*: J. Clin. Investig., 15 (1936) 327.
9. *Cantarow, A., Trumper, M.*: Clinical Biochemistry, Saunders Co. Philadelphia, 1945.
10. *Watson, C. J., Larson, E. A.*: Physiol. Rev., 27 (1947) 478.
11. *Watson, C. J., Hawkinson, U., Schwartz, S., Sutherland, C.*: J. Clin. Investig., 28 (1949) 447.
12. *Brugsch, J.*: Porphyrine, J. A. Barth, Leipzig, 1952.
13. *Weidner, H., Humold, G. A.*: Zbl. Arbeitsmed. Arbeitsschutz, 2 (1952) 187.
14. *Stein, W.*: Arch. Gewpath. Gewhyg., 13 (1954) 204.
15. *Vannotti, A.*: Porphyrins, Hilger & Watt, London 1954.
16. *Schwartz, S., Zieve, L., Watson, C. J.*: J. Lab. & Clin. Med., 37 (1951) 843.
17. *Zieve, L., Hill, E., Schwartz, S., Watson, C. J.*: J. Lab. & Clin. Med., 41 (1953) 663.
18. *Franke i Fikentscher, Brugsch i Keys, Sutherland i Watson*: cit. Sutherland i Watson (19).

19. Sutherland, D. A., Watson, C. J.: *J. Lab. & Clin. Med.*, 37 (1951) 29.
20. Hoffbauer, F. W., Watson, C. J., Schwartz, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 83 (1953) 228.
21. Strait, L. A., Bierman, H. R., Eddy, B., Hrenoff, H., Euler, J. J.: *J. Appl. Physiol.*, 4 (1952) 699.
22. Hsia, D. Y. Y., Page, M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 85 (1954) 86.
23. Horiuchi, S., Fukumura, S., Ida N., Yoshida, Y.: *Osaka City Med. J.*, 2 (1955) 323.
24. Weber, K., Ruždić, I.: *Experientia*, 7 (1951) 354.
25. Brugsch, J., Gruth, G.: *Z. ges. inn. Med.*, 10 (1955) 303.
26. Đurić, D.: *Arh. hig. rada*, 8 (1957) 61.

#### Summary

#### NORMAL COPROPORPHYRIN VALUES IN URINE

A brief review is given of the metabolism of porphyrin, the release and ratio of isomers in urine, and literature data on normal values and the causes of their variability.

The analysis of coproporphyrin in urine is made in 150 healthy persons (75 men and 75 women). Higher values are observed in men. This difference is statistically insignificant.

*Institute for Medical Research  
(incorporating the Institute of  
Industrial Hygiene), Zagreb  
and*

*Department of Occupational Health,  
The Army Hospital, Zagreb*

*Received for publication  
September 1, 1959*