

## Protoporfirina eritrocitaria durante la recuperación nutricional en ratas

Silvia Haydée Langini, María Esther Río de Gómez del Río, María Luz Pita Martín de Portela

Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires, Argentina

**RESUMEN.** Se estudió la relación entre la Protoporfirina Eritrocitaria (PE) y la concentración de Hierro de la dieta de recuperación [Fe], en un modelo experimental: ratas Wistar, recibieron al destete (To) dieta libre de proteínas hasta perder 20% de su peso inicial; luego fueron recuperadas, hasta los 45 (T45) días de edad, con dietas conteniendo: proteínas (caseína) 20%; Fe (citrato de Fe y amonio): 0, 75 ó 100 ppm (grupos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub>). Un grupo control (C) recibió desde To dieta con proteínas (caseína) 20% y Fe 50 ppm. En sangre entera se determinó: Hematocrito (Hto) (microhematocrito), Hemoglobina (Hb) (cianometahemoglobina) y Protoporfirina Eritrocitaria (PE) (Piomelli); en hígado, Fe total (Feh) (Espectrofotometría de Absorción Atómica). La PE ( $\mu\text{g}/\text{dL GR}$ ): a) disminuyó en C desde To ( $99\pm 24$ ) hasta T45 ( $36\pm 9$ ) ( $p < 0,01$ ); b) en A<sub>3</sub> no hubo diferencia significativa respecto de C ( $45\pm 7$  vs.  $36\pm 9$ ); en A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> aumentó significativamente:  $123\pm 21$  y  $93\pm 29$  ( $p < 0,01$ ); c) correlacionó inversamente con Feh. La variación de PE en relación al Fe ingerido disminuyó al aumentar [Fe] ( $r = -0,99$ ), en función de la cual se puede calcular que para PE = 0 la [Fe] deberá tener un valor de 92 ppm Fe. Estos resultados evidencian la relación de la PE con los depósitos de Fe y su utilidad para predecir la concentración de Fe de la dieta durante la recuperación nutricional.

**Palabras clave:** Hierro, protoporfirina eritrocitaria, recuperación nutricional, ratas.

**SUMMARY.** Erythrocyte Protoporphyrin during recovery from undernutrition in rats. Interrelationships between Erythrocyte Protoporphyrin (EP), dietary Iron/Protein ratio (Fe/Prot) and Fe liver content (Feh) were studied during nutritional recovery in an experimental model: weanling female Wistar rats (To) were depleted with a protein-free diet (LP), losing 20% of their initial body weight. Then they were recovered until 45 days of age (T45) with diets containing: casein: 20 g/100g; Fe (ammonium Fe citrate) (ppm.): 0, 75 or 100 (groups A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> and A<sub>3</sub>, respectively). Hematocrit, Hemoglobin (Hb) (g/dL), Erythrocyte Protoporphyrin (EP) ( $\mu\text{g}/\text{dL Red Blood Cells}$ ) and Feh ( $\mu\text{g}$ ) were determined at To, LP and T45. Results were compared with control rats (C) fed with 20% of casein and Fe, 50 ppm. EP: a) decreased in C from To to T45 ( $99\pm 24$ ;  $36\pm 9$ ;  $p < 0,01$ ); b) increased in A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> at T45 ( $123\pm 21$ ;  $93\pm 29$ , respectively,  $p < 0,01$ ) while A<sub>3</sub> did not show significant difference ( $45\pm 7$ ) regarding to C; c) correlated inversely with Feh. According to the inverse correlation between EP and Fe/Prot ( $r = -0,99$ ), we found that 92 ppm was an adequate Fe amount to prevent EP increase. These results confirm that during recovery from undernutrition EP depends on iron liver content, being an adequate indicator of iron nutritional status; therefore, EP would be useful as a predictor of the optimum Fe/Prot ratio for nutritional recovery.

**Key words:** Iron, erythrocyte protoporphyrin, nutritional recovery, rats.

### INTRODUCCION

La deficiencia nutricional de Hierro (Fe) conduce a la utilización progresiva de sus depósitos en el organismo, afectando en distinto grado las funciones Fe-dependientes. Cuando las reservas se agotan se manifiesta la anemia microcítica hipocrómica (1), que se diagnostica habitualmente mediante las determinaciones de Hematocrito (Hto) y de Hemoglobina (Hb) en sangre entera (2). Sin embargo, estos indicadores no informan acerca del estado de los depósitos de Fe y sólo evidencian su deficiencia cuando aquellos se han agotado y ya se ha instalado la anemia ferropénica. Por ello se han propuesto como indicadores bioquímicos precoces la Protoporfirina Eritrocitaria (PE) (3), la Ferritina Sérica (4) y los Receptores Séricos para Transferrina (5). Entre ellos, la PE es un indicador de fácil realización y bajo costo, que utiliza un pequeño volumen de sangre entera (3).

La OMS reconoce que la desnutrición calórico-proteica y la anemia por deficiencia de Hierro (Fe) son las dos patologías de mayor prevalencia en la población infantil mundial, pudiendo estar asociadas en un mismo individuo (6). Durante la recuperación de la malnutrición infantil existe elevada velocidad de ganancia de peso (VGP), lo cual provoca el incremento de las necesidades de Fe (7). Si éstas no son cubiertas, el deterioro en el estado nutricional con respecto a dicho nutriente se manifiesta mediante anemia ferropénica o se agrava la preexistente.

Por otra parte, el comportamiento de la PE durante la recuperación nutricional infantil, no ha sido suficientemente

---

Trabajo Financiado por CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina) mediante subsidio PID/ CONICET No: 245/ 89 y 3256/ 92.

aclarado. Estudios previos de nuestra Cátedra evidenciaron, en la primera etapa de la recuperación de niños desnutridos menores de 3 años, aumento de la PE que dependió de la VGP desarrollada. Si bien, al inicio del período de recuperación, la concentración de PE se relacionó inversamente con los depósitos de Fe, medidos a través de la Ferritina Sérica, esta relación se perdió durante la evolución clínica de los casos (8).

Se ha demostrado que, mediante un modelo experimental en ratas, se ha podido predecir la respuesta en niños desnutridos, bajo condiciones de terapia de recuperación nutricional, en respuesta a diferentes dietas, variables en la relación Proteínas /Energía (9).

Por dichos motivos, en el presente trabajo se estudió, en un modelo experimental en ratas en crecimiento, el comportamiento de la PE durante la recuperación de la desnutrición y su relación con las necesidades de Fe.

**MATERIALES Y METODOS**

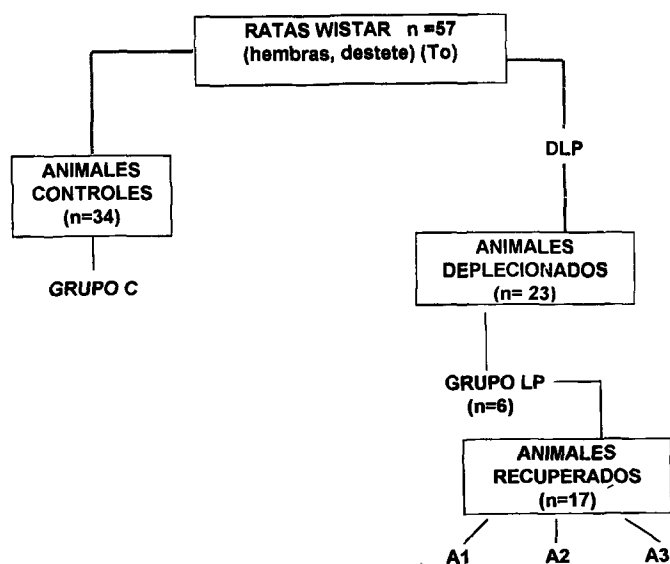
**Animales:** Se utilizaron ratas blancas de la cepa Wistar (hembras) (n=57) provenientes del bioterio Central de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA); al destete fueron trasladadas al bioterio de la Cátedra de Nutrición donde se realizaron las experiencias; se alojaron individualmente, en jaulas galvanizadas con piso de malla, siendo las condiciones ambientales las siguientes: temperatura (21±1°C), 70% de humedad relativa y ciclos de luz-oscuridad de 12 hs., regulados automáticamente. El peso corporal osciló entre 38,0 y 42,0 g; los animales se asignaron al azar a grupos experimentales de 6 animales por grupo, cuyo peso promedio difirió en ± 1g. El agua destilada y las dietas experimentales fueron administradas "ad - libitum".

**Grupos experimentales:** Se constituyeron tres grupos experimentales: animales controles (C) (n=34) ; animales deplecionados (LP) (n=23) y animales recuperados (n=17) (Cuadro 1).

**Animales controles:** Un grupo de 6 animales fue sacrificado al destete (To); el resto (n=28) se alimentó desde To con una dieta con 20% de proteínas y 50 ppm de Fe sacrificándose lotes de 5 - 6 animales a los 26, 33, 50, 65 y 95 días de edad (10).

**Animales deplecionados y animales recuperados:** 23 animales recibieron, a partir del destete (To), una dieta libre de proteínas hasta perder aproximadamente 20% del peso inicial (10 días), al cabo de lo cual se sacrificó un lote de 6 animales (LP); los 17 restantes fueron realimentados, en lotes de 5-6 animales, con la dieta experimental asignada, conteniendo 20% de proteínas y cantidades variables de Fe: 0, 75 ó 100 ppm (Grupos A1, A2 y A3, respectivamente) sacrificándolos a los 45 días de edad .

**CUADRO 1**  
Constitución de los grupos experimentales



DLP: Dieta libre de proteínas

**Dietas experimentales:** La composición de las dietas experimentales figura en la Tabla 1. Se utilizó caseína, como fuente proteica, conteniendo 85% de proteínas (N x 6,25), y citrato de hierro y amonio como fuente de Fe. Los demás nutrientes fueron agregados en cantidades adecuadas para cubrir las necesidades de la rata en crecimiento (11). Las materias primas empleadas para la elaboración de las dietas no eran totalmente libres de Fe; por este motivo, aún en la dieta sin agregado de Fe su contenido fue 34 ppm.

**TABLA 1**  
Composición de las dietas experimentales

Componentes	D I E T A			
	LP	A1	A2	A3
Proteínas (Caseína) (N x 6.25)	—	← 20 →		
Lípidos (Aceite de maíz)		← 4,50 →		
Vitaminas Liposolubles *		← 0,50 →		
Vitaminas Hidrosolubles*		← 0,25 →		
Colina		← 0,15 →		
Minerales* (excepto hierro)		← 5,00 →		
Hierro (citrato de Fe y amonio) (ppm)	50	0 (34)	75(77)	100(95)
Dextrina** csp		← 100,00 →		
Fe/Prot (µg/g Prot)	—	158	379	438

\* Según Harper (11)

\*\*Dextrina British gum 900 10/201/4 (Refinerías de Maíz S.A.I.C - Argentina)

( ) contenido final de Fe en la dieta

**Esquema experimental:** Se registraron el peso corporal y el consumo de dieta cada 3 días. La VGP se expresó en g DP/día/100g peso corporal promedio, calculándolo como el aumento de peso registrado, durante el período de recuperación, en función del peso promedio de dicho período experimental dividido por el número de días (n):

$$\text{VGP (g/100 g rata / día)} = \frac{(\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial})}{1/2 (\text{Peso Inicial} + \text{Peso Final})} \times \frac{1}{n} \times 100$$

Al finalizar las experiencias los animales se dejaron en ayunas durante 3-4 hs. al cabo de las cuales fueron sacrificados por punción cardíaca, previa anestesia, de acuerdo a las normas éticas en vigencia. La sangre se recogió en tubos con heparina; posteriormente se extrajeron los hígados, que se lavaron con agua desionizada, se pesaron y secaron en estufa de 100°C por 48 hs., siendo guardados en desecador hasta su análisis.

En sangre entera se determinó: Hematocrito (Hto) (%) (técnica de microhematocrito); Hemoglobina (Hb) (g/dL) (12) utilizando standard de Wiener lab; Ptoporfirina Eritrocitaria (PE), método fluorométrico de Piomelli (3).

Conociendo el valor del Hto, se calculó la relación PE/Hto expresándola como:

$$\mu\text{g PE/dL GR}^* = [(\mu\text{g PE/dL sangre})/\text{Hto}] \times 100$$

\* GR = glóbulo rojo

**Determinación del contenido de Fe:** Se midió en mineralizados realizados por duplicado, mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) (13). Se utilizó un espectrofotómetro Varian SPECTRAA - 20 de doble haz con corrección de fondo y lámpara de cátodo hueco. Las muestras se leyeron a 248,3 nM con slit 0,2 e intensidad de lámpara 5 mA. Las dietas experimentales y los hígados fueron mineralizados por vía húmeda con mezcla nitro: perclórica (1:1) en un digestor Tecator (Tecator Digestor Systems).

Todo el material de vidrio empleado en las determinaciones de Fe fue previamente lavado durante una noche en una solución de NO<sub>3</sub>H 20% y enjuagado cuatro veces con agua destilada y dos con agua desionizada.

En todos los casos se trabajó con agua desionizada y reactivos de pureza pro-análisis.

**Análisis estadístico:** Todos los datos experimentales se analizaron mediante análisis de varianza de un criterio (ANOVA I) calculando la mínima diferencia significativa para un nivel  $p < 0.01$  (14).

## RESULTADOS

El peso corporal (g), la VGP (g /100 g rata/día) y los consumos diarios ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) de dieta (g), proteínas (g) y Fe (mg) de los grupos experimentales figuran en la Tabla 2.

TABLA 2  
Peso corporal y consumo de dieta, proteínas y hierro de los grupos experimentales ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )

Grupo Exp	Edad (días)	Peso Corporal (g)	VGP (g/100/d)	Dieta (g)	CONSUMO / DIA / RATA	
					Proteínas (g)	Fe (mg)
A1	45	62,3±6,9 <sup>a,b</sup>	8,8±3,0	6,7±0,9 <sup>a,b</sup>	1,44±0,20 <sup>a,c</sup>	0,225±0,03 <sup>a,c</sup>
A2	45	81,7±7,2 <sup>b</sup>	8,0±1,8	8,8±0,4 <sup>a</sup>	1,77±0,08 <sup>a,b</sup>	0,667±0,03 <sup>a,b</sup>
A3	45	79,5±11,5 <sup>a</sup>	9,8±0,6	8,9±1,4 <sup>b</sup>	1,94±0,31 <sup>b,c</sup>	0,855±0,136 <sup>b,c</sup>

Superíndices iguales en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,01$ )

La evolución de la concentración de Hb (g/dL) se representó en la Figura 1 y la de PE ( $\mu\text{g/dL GR}$ ) en la Figura 2; en ambos casos se graficaron los resultados experimentales comparativamente con los controles (grupo C) (10). Como puede observarse, en C la concentración de Hb (g/dL) ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) se incrementó paulatinamente desde el destete (To) (10,6±1,3) hasta los 95 días de edad (17,3±0,8) ( $p < 0,01$ ); durante el mismo período, la PE disminuyó significativamente desde 99±24 hasta 16±2 ( $p < 0,01$ ), con un cambio de pendiente a los 30 días de edad.

Los animales LP no mostraron diferencia estadísticamente

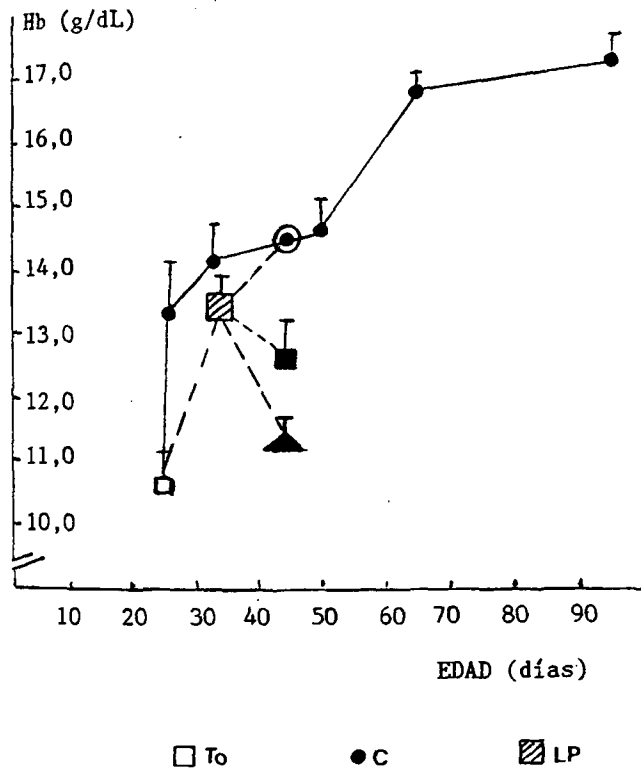
significativa en los valores de Hb (g/dL) y PE ( $\mu\text{g/dL GR}$ ) con respecto a los controles de igual edad: LP vs. C: Hb (g/dL): 13,4±1,2 vs. 14,1±1,6;  $\mu\text{g PE/dL GR}$ : 39±11 vs. 44±10 (Figuras 1 y 2).

La Hb (g/dL) disminuyó en A1 (11,4±0,5) a los 45 días de edad con respecto a los animales controles (14,6±1,2) y al grupo LP (13,4±1,2) ( $p < 0,01$ ). En A2, a los 45 días de edad, la concentración de Hb fue menor respecto de los controles de igual edad: 12,6±1,4 vs. 14,6±1,2 ( $p < 0,05$ ); en cambio, la concentración de Hb de A3 a los 45 días de edad no fue estadísticamente diferente de los controles correspondientes

(14,5±0,6 vs. 14,6±1,2) (Figura 1).

Cuando se compararon los 3 grupos entre sí a los 45 días de edad, la concentración de Hb del grupo A3 resultó mayor ( $p < 0,01$ ) que la de A1 y A2 (Figura 1).

FIGURA 1  
Evolución de la Hb



La PE aumentó a los 45 días de edad en A1 y A2 respecto a los controles de la misma edad:  $\mu\text{g/dL GR}$ :  $123 \pm 21$  y  $93 \pm 29$  vs.  $36 \pm 9$  ( $p < 0,01$ ). Asimismo, existieron diferencias significativas entre ambos grupos experimentales. A los 45 días de edad la concentración de PE del grupo A3 no fue estadísticamente diferente del control de igual edad:  $\mu\text{g PE/dL GR}$ :  $45 \pm 7$  vs.  $36 \pm 9$  (ns) (Figura 2).

En la Figura 3 se representaron los valores de PE ( $\mu\text{g/dL GR}$ ) de los grupos experimentales en función del contenido total de Fe en hígado (Feh) ( $\mu\text{g}$ ). Puede observarse que la PE disminuyó desde un valor promedio de 120 hasta 50  $\mu\text{g PE/dL GR}$ , a medida que Feh aumentó desde 83 hasta cerca de 400  $\mu\text{g}$  ( $p < 0,01$ ) ( $r = -0,998$ ).

FIGURA 2  
Evolución de la PE

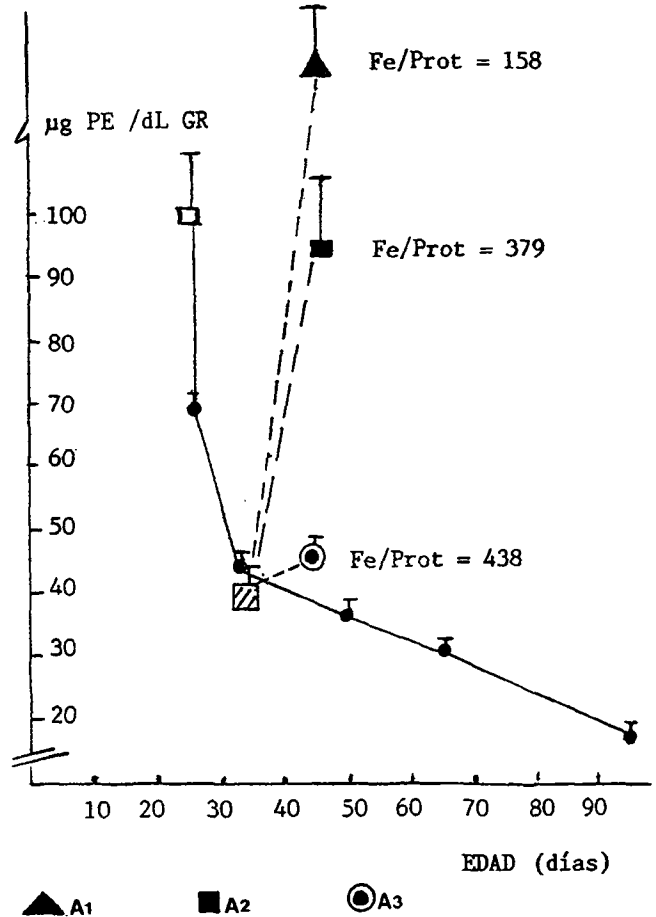
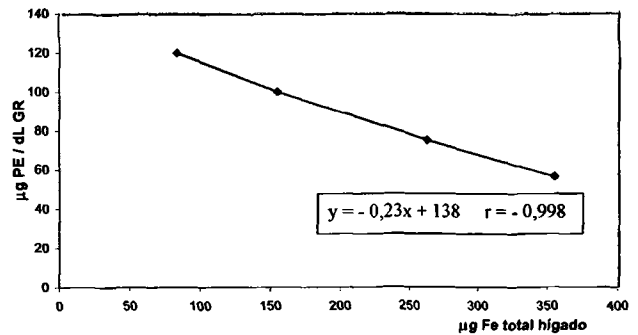


FIGURA 3  
Correlación entre PE y Fe en hígado



DISCUSION

**Evolución de la PE durante el período de recuperación nutricional en ratas:** La protoporfirina es el precursor del hemo y en el eritrocito maduro, en condiciones normales, se encuentra en baja concentración; su incremento puede deber-

se a alteraciones enzimáticas o a deficiencia de Fe durante la eritropoyesis. En el primer caso los valores elevados han sido utilizados como una de las pruebas diagnósticas de la intoxicación por Pb (15). En la deficiencia de Fe este aumento es de menor magnitud y, cuando los depósitos de Fe comienzan a deplecionarse, la PE aumenta. Por consiguiente, su determinación constituye un indicador sensible del aporte insuficiente de Fe para la eritropoyesis, propuesto como uno de los indicadores de la batería bioquímica a utilizar en la evaluación de la deficiencia de Fe (3,16).

El comportamiento de la PE en función de la edad no ha sido suficientemente estudiado en el hombre debido a la escasez de datos poblacionales. En las encuestas nutricionales realizadas en población sana de EEUU (NAHNES II) (17), se observó una disminución en función de la edad. De igual modo, en ratas normales en crecimiento, la concentración de PE disminuyó rápidamente desde el destete, permaneciendo luego relativamente estable desde los 35 hasta los 95 días de edad (10) (Fig. 2). Esta disminución de la PE en función de la edad ha sido atribuida, en ambos casos, a los cambios en la velocidad de eritropoyesis durante el crecimiento normal (10). Además, es de destacar que los valores de PE ( $\mu\text{g}/\text{dL GR}$ ) obtenidos en la rata son semejantes a los descritos en el hombre; estos hallazgos evidencian que la rata constituye un modelo experimental adecuado para intensificar el estudio de la PE como indicador de estado nutricional con respecto al Fe.

En estudios previos se evidenció durante la recuperación de la malnutrición infantil un aumento de la concentración de PE dependiente de la VGP desarrollada (8). Por ello, se postuló que cuando la relación Proteínas/Energía de la dieta de recuperación es adecuada, se produciría una desincronización entre la velocidad de crecimiento y la de eritropoyesis (18), condicionada por un aporte insuficiente de Fe en relación a la concentración proteica de la dieta, siendo la causa del desarrollo de anemia ferropénica o del agravamiento de la preexistente.

En nuestro modelo experimental, el deterioro en el estado nutricional con respecto al Fe en los grupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>, a lo largo del período de recuperación, está de acuerdo con lo descrito por Viart (19) durante el tratamiento de la desnutrición calórico-proteica en niños africanos. Este deterioro justifica el aumento de la concentración de PE, observado a los 45 días de edad, en nuestro modelo experimental en los grupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> que coincidió con VGP cercanas a 9 g/100 g rata/día (Tabla 2), cifras muy superiores a las observadas durante el crecimiento normal (4,0 - 6,5 g/100 g rata/día) (9).

No obstante, en el grupo A<sub>3</sub>, no se observó el aumento anómalo de la PE; por lo tanto, este hecho sugiere que en los grupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> existió un aporte relativo de Fe insuficiente para cubrir las demandas del aumento de la eritropoyesis, como consecuencia de las elevadas VGP alcanzadas durante el período de recuperación nutricional, mientras que en A<sub>3</sub> el aporte de Fe sería adecuado. Estos resultados serían consecuencia de la desincronización entre las tasas de crecimiento

y de eritropoyesis, debido a un aporte insuficiente de Fe en relación a la concentración proteica de la dieta.

Al expresar el contenido de Fe de las dietas en relación al de las proteínas, como relación Fe/Proteínas (Fe/Prot) ( $\mu\text{g}/\text{g Prot}$ ) (Tabla 1), se observó una relación inversa con el incremento de la PE. Por lo tanto, es evidente que la dieta con mayor relación Fe/Prot (A<sub>3</sub>), permitió completar los últimos pasos de la eritropoyesis, haciendo posible durante el período de recuperación nutricional una evolución hematológica normal. De tal manera, la evolución de la PE al inicio del período de recuperación en el grupo A<sub>3</sub>, se asemeja a la de los animales normales evitando la aparición de anemia durante la recuperación nutricional (Figura 2).

**Interrelación entre Protoporfirina Eritrocitaria y depósitos de Fe en hígado:** En la rata no es factible utilizar la determinación de Ferritina sérica como indicador de depósitos de Fe, debido a la carencia de equipos comerciales. Por ello se estudiaron las variaciones en la concentración de PE en función de los depósitos de Fe en hígado, lo cual mostró una relación inversa, de modo similar a lo observado en la recuperación de niños desnutridos, entre la PE y la magnitud de los depósitos de Fe, medidos a través de la Ferritina Sérica (8). En este modelo experimental, la PE se elevó al inicio del período de recuperación nutricional en los grupos que recibieron dietas con una relación Fe/Prot inadecuada para satisfacer las elevadas necesidades de Fe de la eritropoyesis, grupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> (Figura 2). La disminución de la PE en función del contenido de Fe en hígado (Figura 3) justifica su utilización como indicador de los depósitos de Fe.

**Utilidad de la Protoporfirina Eritrocitaria para predecir la óptima concentración de Fe en la dieta de recuperación:** La variación de la concentración de PE en relación al Fe ingerido ( $\Delta\text{PE}/\text{mg Fe ing}$ ), entre el inicio de la administración de la dieta de recuperación y los 45 días de edad de los grupos experimentales A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub> mostró una correlación inversa con la concentración de Fe de la dieta:  $\Delta\text{PE}/\text{mg Fe ing} = -0,63[\text{Fe}] + 58$  ( $r = -0,99$ ). Esta ecuación permite calcular que la concentración de Fe en la dieta para la cual el  $\Delta\text{PE}/\text{mg Fe ing}$  es mínimo corresponde a 92 ppm; esta concentración sería la adecuada para evitar el aumento de la PE durante la recuperación nutricional cuando la dieta aporta 20% de proteínas.

En función de los resultados expuestos, el comportamiento de la PE permitiría predecir la óptima concentración de Fe en la dieta de recuperación que evita el deterioro del estado nutricional de este microelemento.

## CONCLUSIONES

El modelo experimental utilizado corroboró que, durante la recuperación nutricional, tanto en el niño como en la rata en

crecimiento, la concentración de PE aumenta debido a un aporte insuficiente de Fe para cubrir las elevadas necesidades de la eritropoyesis. Este incremento refleja las variaciones de los depósitos de Fe en hígado. El comportamiento de la PE permitiría predecir la óptima relación Fe/Proteínas de la dieta, que evite el desarrollo de anemia ferropénica durante el período de recuperación. Los resultados obtenidos apoyan la utilidad de la PE como indicador del estado nutricional con respecto al Fe durante la recuperación nutricional.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer la asistencia técnica de la Sra. Lía C. de Calafat en el bioterio.

### REFERENCIAS

- Dallman PR. Hierro. En: Conocimientos Actuales Sobre Nutrición. 6ta.ed. Organización Panamericana de la Salud. Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, ILSI. Washington, 1991;p.241-250.
- Cook JD & Finch CA. Assessing Iron Status of a Population. *Am J Clin Nutr.* 1979;32: 2115-2119.
- Piomelli S. A Micromethod For Free Erythrocyte Porphyrins: The FEP Test. *J Lab Clin Med.* 1973;81(6): 932-940.
- Cook JD & Skikne BS. Serum Ferritin: a posible model for the assessment of nutrients stores. *Am J Clin Nutr.* 1982;35:1180-1185.
- Baynes RD, Skikne BS & Cook JD. Circulating transferrin receptors and assessment of iron status. *J Nutr Bioch*1994;5(7):322-330.
- SCN News (United Nations). Micronutrient Deficiency. The Global Situation No 9:11-16, 1993.
- Río ME, Piazza N, García H & Merlo A. Accelerated recovery from undernutrition in children attending a food programme. En: Protein-Energy-Requirement. Studies in Developing Countries: Results of International Research. WM Rand, R Uauy and NS Scrimshaw (Ed.). The United Nations University, 1984.
- Morasso,MC. Comportamiento hematológico en niños desnutridos y anémicos. Efectos de la velocidad de crecimiento. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires, Argentina, 1981.
- Friedman SM. Capacidad predictiva de los modelos experimentales en ratas para el estudio de la recuperación en niños desnutridos: una aproximación matemática. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Argentina, 1988.
- Langini SH, Zeni S, Portela ML & Río ME. Protoporfirina Eritrocitaria en función de la edad en ratas en crecimiento. *Medicina (Buenos Aires)*, 1993;53:44-49.
- Harper AE. Aminoacid Balance and Imbalance. *J Nutr* 1959;68:605.
- Gibson RS. Assessment of Iron Status. En: Principles of Nutritional Assessment. New York-Oxford, Oxford University Press, 1990;p. 349-376.
- Perkin Elmer Corp. Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin Elmer Corp. Norwalk CT, 1971.
- Sokal RR & Rohi FJ. The principle and practice of statistics in biological research. WH Freeman and Company, San Francisco, 1969.
- Lamola AA & Yamane T. Zinc Protoporphyrin in the Erythrocytes of Patients With Lead Intoxication and Iron Deficiency Anemia. *Science* 1974;186: 936-938.
- Labbe RF, Dewanji A & McLaughlin K. Observations on the Zinc Protoporphyrin/Heme Ratio in Whole Blood. *Clin Chem.* 1999;45:146148.
- Expert Scientific Working Group. Summary of a report on assessment of the iron nutritional status of the United States population. *Am J Clin Nutr.* 1985;42:1318-1330.
- Barrio Rendo ME, Friedman SM, Río ME & Sanahuja JC. Masa Roja Circulante y Velocidad de Crecimiento Durante la Recuperación de la Deficiencia Proteica Severa en la Rata. *Medicina* 1985;45: 639-662.
- Viart P. Blood Volume Changes during treatment of Protein-Calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr.* 1977;30:349-354.

Recibido: 08-07-1998

Acceptado:18-06-1999