

Variação temporal da protoporfirina-zinco (PPZ) em trabalhadores expostos a chumbo*

JOÃO PRISTA
A. SOUSA UVA
MANUELA ABREU
TERESA DIAS
PEDRO AGUIAR

O doseamento da protoporfirina-zinco (PPZ) vem sendo preconizado como indicador a utilizar em primeira linha nos programas de monitorização biológica da exposição profissional a chumbo. A PPZ apresenta um elevado grau de associação com a plumbemia e representa, num dado momento, o efeito metabólico do chumbo sobre a ferro-quelataase (enzima catalisadora da incorporação do ferro na protoporfirina IX) ao longo dos anteriores cerca de três meses.

Num estudo incidindo sobre 67 trabalhadores expostos a chumbo, do sexo masculino, os autores avaliaram a variação da PPZ em relação à plumbemia determinada num determinado momento (t_0) e em sucessivos doseamentos efectuados cerca de 30 (t_1), 60 (t_2) e 90 (t_3) dias após esse momento. Da análise dos resultados obtidos conclui-se que em trabalhadores expostos a chumbo de modo considerado estável (com níveis de Pb-S entre 30 e 78 $\mu\text{g/dL}$) a PPZ não variou significativamente ao longo do período de tempo considerado. Deste modo, parece poder concluir-se que os

resultados de PPZ são representativos do nível de exposição (inferida pelos níveis de dose interna) pelo menos em relação ao período de cerca de três meses anteriores, correspondendo à resposta orgânica consequente à dose em causa.

Introdução

Pela sua afinidade com os grupos sulfidrilo ou tiol (SH-), o chumbo interfere em vários pontos da cadeia de síntese do heme, inibindo a acção de enzimas catalisadoras deste processo. De modo mais precoce, esta inibição regista-se ao nível da ALA-D (desidrataase do ácido δ -aminolevulínico) e, por ordem decrescente de intensidade, verifica-se ainda na ferro-quelataase, na coporfirinogénio-oxidase e na porfobilinogénio-desaminase (Duc, Kaminsky e Klein, 1994; Saryan e Lenz, 1994; Bergdahl, 1998), originando a acumulação dos respectivos substratos. A acumulação da protoporfirina IX tem origem na interferência do chumbo ao nível da ferro-quelataase, impedindo a incorporação do ferro nos anéis porfíricos. O mecanismo pelo qual esta acção se desenvolve é ainda alvo de alguma controvérsia: alguns autores postulam uma interacção directa do chumbo sobre a actividade da ferro-quelataase, inibindo-a, enquanto outros defendem que o chumbo



João Prista é doutor em Saúde Pública, professor auxiliar da ENSP/UNL (grupo de disciplinas de Saúde Ocupacional). A. Sousa Uva é doutor em Medicina, professor associado da ENSP/UNL (grupo de disciplinas de Saúde Ocupacional). Manuela Abreu é especialista em Medicina do Trabalho, médica do trabalho da SO, sa/Ferro, sa. Teresa Dias é especialista em Medicina do Trabalho, médica do trabalho da SO, sa/Autosil, sa. Pedro Aguiar é mestre em Probabilidades e Estatística, assistente convidado da ENSP/UNL (grupo de disciplinas de Epidemiologia e Estatística).

Submetido à apreciação: 15 de Junho de 2004.
Aceite para publicação: 30 de Junho de 2004.

* Trabalho de investigação financiado pelo IDICT — Instituto de Desenvolvimento e Inspeção das Condições de Trabalho, projecto n.º 025/JMS/02, protocolo n.º 113/02, acção n.º 4.1.

não inibe directamente a ferro-quelatase, mas sim a redução do ferro férrico em ferro ferroso, forma necessária à incorporação na protoporfirina, uma vez que o ião férrico não é utilizável pela enzima (Jacobs *et al.*, 1998; Lauwerys, 1999). A maior parte (mais de 90%) da protoporfirina IX assim acumulada, contudo, não se encontra na sua forma livre, mas antes ligada ao zinco (em substituição do ferro), originando a protoporfirina-zinco (PPZ), novo complexo que se liga à globina, aí permanecendo durante toda a vida do eritrócito (Waldron, 1980; Fischbein *et al.*, 1982; Marsh, Nelson e Koenig, 1983; Stanton *et al.*, 1989; Zhang, 1993; IPCS, 1995; Bo-Jian, 1996; Goyer, 1996; Labbé, Vreman e Stevenson, 1999). Deste modo, a concentração da protoporfirina-zinco num determinado momento resulta da acção do chumbo sobre os eritroblastos no período de um a três meses anteriores (Labrèche e P'An, 1984; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Lauwerys, 1999). As inibições enzimáticas na síntese do heme, provocadas pelo chumbo, ocorrem numa fase precoce, em presença de plumbemias inferiores a 40 µg/dL e quando os parâmetros hematológicos ainda se encontram em níveis considerados normais. Tais efeitos, que podem ainda não ser adversos, representam etapas iniciais de um processo que, a progredir, pode determinar o aparecimento de sintomas de intoxicação saturnina (Keser-Stankovic *et al.*, 1982; USA. OSHA, 1993; Masci *et al.*, 1998; European Union. SCOEL, 2000).

Na vigilância biológica de trabalhadores expostos a chumbo, diversos indicadores biológicos, quer de dose, quer de efeito, têm sido alvo de investigação, perspectivando o seu valor como elementos utilizáveis na monitorização biológica. A plumbemia é o indicador generalizadamente mais utilizado e, de entre os indicadores de dose, claramente o que melhor significado tem. Quanto aos indicadores de efeito, aqueles que se relacionam com a acção do chumbo sobre a síntese do heme, pela sua precocidade, significado e possibilidade técnica de doseamento, têm-se constituído como preferenciais (Keser-Stankovic *et al.*, 1982; Labrèche e P'An, 1984; Botta *et al.*, 1990; Marqués Marqués, 1993; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Duc, Kaminsky e Klein, 1994; Graziano, 1994; IPCS, 1995; Schaller, 1996; Lauwerys, 1999; Sakai, 2000). A actividade da desidratase do ácido δ-aminolevulínico (ALA-D), os níveis urinários de ácido δ-aminolevulínico (ALA-U) e de coproporfirina III (COPRO-U), a protoporfirina IX (PPE) e a protoporfirina-zinco (PPZ), bem como a hemoglobina (Hb), têm, assim, constituído objecto de diversos estudos de investigação no sentido de melhor esclarecer o grau e características de associação com a plumbemia.

Consensual, actualmente, é que a vigilância biológica da exposição profissional a chumbo deve incluir um indicador de dose (a Pb-S) e um indicador de efeito (o ALA-U ou a PPZ) (Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Lauwerys, 1999), havendo, relativamente a estes, uma indicação preferencial da PPZ, assente na melhor correlação com a plumbemia, maior sensibilidade e especificidade, maior comodidade de execução e menor custo do doseamento (Urbietta, 1982; Braithwaite e Brown, 1988; Dally, 1988; Botta *et al.*, 1990; USA. OSHA, 1993; Prista e Uva, 2004).

O doseamento do chumbo no sangue (plumbemia) representa a quantidade total de chumbo que se encontra neste meio orgânico (nos eritrócitos e na fracção plasmática), sendo função da dinâmica dos processos de absorção, distribuição, fixação e excreção. Se bem que a plumbemia (Pb-S) seja simultaneamente influenciada pela exposição mais recente e pela carga corporal acumulada de chumbo, nas situações ocupacionais reflecte fundamentalmente a exposição das últimas semanas e não é necessariamente correlacionada (ou correlacionável) com a quantidade acumulada no organismo (Schwartz *et al.*, 1994; Lauwerys, 1999). Quando a exposição é de grau variável (ou quando se regista uma acentuada mobilização dos depósitos), a plumbemia apresenta variações, pelo que, num determinado momento, uma Pb-S elevada pode apenas expressar uma acrescida absorção recente, sem que se registem elevados níveis de depósito; por seu turno, uma baixa Pb-S não pode excluir que se verifique um elevado depósito de chumbo no organismo (USA. OSHA, 1993). Quando a exposição cessa, a plumbemia regista inicialmente um decréscimo acentuado, o qual se torna progressivamente mais lento, prolongando-se por uma a duas décadas em função da intensidade e tempo de exposição, da taxa de eliminação e das trocas com os outros compartimentos orgânicos (Hryhorczuk *et al.*, 1985; Horiguchi *et al.*, 1993; Schaller, 1996). Face à elevada semivida do chumbo no organismo, nas situações de exposição profissional, regra geral caracterizadas pela sua elevada duração, o decréscimo da plumbemia será tanto mais lento quanto maiores forem a duração e a intensidade de exposição do trabalhador, apresentando, assim, grandes variações interindividuais (Hodgkins *et al.*, 1991; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Lauwerys, 1999; Truchon, 1999).

A plumbemia é, de facto, um bom indicador da exposição recente (Botta *et al.*, 1990; USA. OSHA, 1993). O seu significado é, no essencial, a quantidade de chumbo no organismo, e não os efeitos adversos (toxicidade) provocados, evidenciando um valor limitado no que respeita à avaliação das consequências da exposição a longo prazo, como são os casos

paradigmáticos dos efeitos a nível renal e a nível neurológico (Joselow e Flores, 1977; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993).

Embora o doseamento da plumbemia requeira condições tecnológicas de alguma complexidade (espectrofotometria de absorção atômica), é um indicador de dose interna de elevada fiabilidade e, provavelmente, o indicador biológico mais utilizado em programas de prevenção da exposição profissional ao chumbo.

O conhecimento de que a protoporfirina eritrocitária, por acção do chumbo, se encontra maioritariamente associada ao zinco, constituindo a protoporfirina-zinco (PPZ), permitiu simplificar os métodos de quantificação. As características espectrais de fluorescência da PPZ permitem o seu doseamento imediato através de um equipamento portátil de fácil manuseamento (hematofluorímetro) e por meio de uma técnica de fácil execução e baixo custo (leitura directa em gota de sangue colhido por punção capilar) (Fischbein *et al.*, 1982; Marsh, Nelson e Koenig, 1983; Parsons *et al.*, 1989; Stanton *et al.*, 1989; Zwennis, Franssen e Wijnans, 1990; Rolfe *et al.*, 1993; Prista, Pinto e Aguiar, 2002).

Estudos diversos têm comprovado uma associação positiva, estatisticamente significativa e de natureza exponencial entre a plumbemia (Pb-S) e os níveis de PPZ, associação essa constatada a partir de valores da Pb-S de 25 µg/dL e, de modo mais acentuado, a partir de valores próximos dos 40 µg/dL (Mets, 1981; Fischbein *et al.*, 1982; Botta *et al.*, 1990; Medinilla e Espigares, 1991; Van Heerden e Mets, 1992; Fischbein, 1992; Turck *et al.*, 1992; USA. OSHA, 1993; Landrigan, 1994; Schumacher *et al.*, 1997; Lauwerys, 1999; Truchom, 1999; Prista, Pinto e Aguiar, 2002).

A PPZ é mais sensível que o ALA-U e, além disso, muito específica. Eleva-se mais lentamente do que o ALA-U, mas permanece aumentada durante mais tempo, permitindo, assim, avaliações retrospectivas (Dally, 1988). Estudos comparativos evidenciam que a correlação entre a plumbemia e a PPZ é mais intensa do que a registada entre a Pb-S e o ALA-U (Labrèche e P'An, 1984; Botta *et al.*, 1990; Kentner e Fischer, 1994; Prista e Uva, 2004). Além disso, os níveis de ALA-U variam ao longo do dia, contrariamente ao que se regista com a PPZ (e a plumbemia), conduzindo a dificuldades na interpretação (e consequente valorização) dos seus resultados em colheitas de micção única (Botta *et al.*, 1990).

A especificidade da protoporfirina-zinco em relação ao chumbo não é total, já que os seus níveis registam igualmente aumento nas situações de défice em ferro, em patologias pouco frequentes (porfiria eritropoiética; anemia hemolítica) e quando se encontram

aumentados os níveis de bilirrubina ou de riboflavina, nestes últimos casos por interferência com o sistema de leitura do equipamento (Karacic, Majic e Telisman, 1980; Grandjean e Lintrup, 1981; Harada e Miura, 1984; Marcus e Schwartz, 1987; Wildt, Berlin e Isberg, 1987; Stanton *et al.*, 1989; Zwennis, Franssen e Wijnans, 1990; Kononen, 1991; Fischbein, 1992; Hastka *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 1998; Ahn *et al.*, 1999; Labbé, Vreman e Stenvenson, 1999; Lauwerys, 1999; Sakai, 2000).

A estratégia seguida em alguns programas de vigilância dos efeitos da exposição a chumbo traduz-se no doseamento da plumbemia e, nos casos em que se verificam níveis de dose considerados inadequados ou excessivos, no doseamento do(s) indicador(es) de efeito que permita(m) avaliar a resposta metabólica consequente. Pelo seu significado biológico (reflecte as alterações metabólicas) e pelas características do seu doseamento (extrema facilidade de execução e baixo custo), a PPZ tem vindo, entretanto, a ser preferida como biomarcador de primeira linha na vigilância biológica de trabalhadores expostos a chumbo, permitindo, dessa forma, uma melhor utilização dos recursos (Eisinger *et al.*, 1978; USA. OSHA, 1993; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Zhang, 1993; Prista, 2002). Nesta situação, entretanto, haverá que equacionar sobre a natureza e o grau de associação entre os resultados da PPZ obtidos e os níveis de dose interna, objectivando a compreensão dessas interdependências. É que as indicações poderão, de algum modo, ser diferentes.

Uma vez que permanece nos eritrócitos durante toda a sua vida (cerca de 120 dias), o doseamento da PPZ será um bom indicador de efeito relativamente ao período dos cerca de três a quatro meses anteriores (Fischbein, 1992; Sassaroli *et al.*, 1992; USA. OSHA, 1993; Levin e Goldberg, 2000). A plumbemia num determinado momento reflecte a exposição mais recente, enquanto a PPZ, nesse mesmo momento, reflecte o efeito de doses dos últimos três a quatro meses. Assim, a PPZ pode ser um melhor biomarcador da exposição crónica a chumbo, em virtude da sua maior vida média em relação ao chumbo no sangue (Hryhorczuk *et al.*, 1985; Fischbein, 1992).

Este diferente significado temporal entre os níveis de Pb-S e os de PPZ num dado momento coloca dúvidas e diversas questões relacionadas, designadamente, com os níveis de dose interna efectivamente respondáveis por uma dada PPZ. Ou seja, dito de outra forma, perante um determinado valor de PPZ, que ilação pode retirar-se relativamente ao efectivo risco em presença, aferido em função dos níveis de plumbemia? Face a um determinado valor de PPZ, isso significa que a Pb-S não foi ou não é substancial-

mente diferente, o que poderia representar um ajuizamento algo desacertado com a realidade da exposição do trabalhador em causa? A evolução da PPZ permite uma cabal apreciação dos reflexos da exposição? Em caso afirmativo, com que periodicidade? Estas são algumas questões sem respostas unívocas no momento actual.

Objectivos do estudo

O presente estudo visou avaliar se, em relação à plumbemia determinada num dado momento, existem diferenças entre os doseamentos da PPZ efectuados periodicamente ao longo dos três meses seguintes, ou seja, se, face a uma dada PPZ, podemos assumir um juízo preditivo sobre a exposição do indivíduo, apreciada pelo nível de dose interna, nos últimos meses ou se dela não podem tirar-se ilações dessa natureza.

População e métodos

No desenho do estudo foi previsto o doseamento da plumbemia e da PPZ num determinado momento (t_0) e, em cada indivíduo, novos doseamentos da PPZ a efectuar cerca de 30 (t_1), 60 (t_2) e 90 (t_3) dias depois. Foram inicialmente seleccionados 138 trabalhadores expostos a chumbo em duas unidades fabris (uma de acumuladores de chumbo-ácido e outra de pigmentos).

A plumbemia foi determinada por espectrofotometria de absorção atómica em sangue venoso colhido ao nível do sangradouro. A PPZ foi doseada por hematofluorímetro portátil (marca HELENA Laboratories, modelo ProtoFluor-Z ©), calibrado para um hematócrito-padrão de 42%, em sangue capilar colhido por punção na extremidade do 4.º dedo da mão direita.

Resultados

Dos 138 indivíduos que iniciaram o estudo (todos do sexo masculino), em 71 não se conseguiu efectuar o total dos quatro doseamentos programados (t_0 a t_3), por diversas razões, de que se destacam as ausências ao trabalho ou as dificuldades de concretização nos exactos tempos definidos. Por essa razão, a análise dos resultados apenas contempla os 67 casos em que o padrão de doseamento da plumbemia e da PPZ nos instantes previstos foi na sua totalidade concretizado. Os resultados dos doseamentos efectuados estão patentes no *Quadro I* e na *Figura 1*, de cuja leitura ressalta:

- 1) Que estes 67 indivíduos apresentavam, no momento inicial (t_0), plumbemias que variavam entre 30 e 78 $\mu\text{g/dL}$, com uma média de 46,1, uma mediana de 46,0 e um desvio-padrão de 9,74;
- 2) Que a distribuição dos valores de PPZ nos vários momentos (t_0 a t_3) parece situar-se em padrões semelhantes, embora com uma tendência de ligeiro decréscimo ao longo do tempo.

Discussão

Pela apreciação da distribuição dos valores de PPZ em cada um dos instantes considerados (intervalos de cerca de 30 dias), constata-se que, em termos de grupo, há uma grande semelhança entre eles, com pouca variação da média e da mediana e com intervalos de variação aproximados.

A aplicação do teste de Wilcoxon à distribuição dos valores permite afirmar que, sob o ponto de vista estatístico, não existem diferenças entre os doseamentos da PPZ nos quatro instantes considerados (p sempre maior do que 0,05). Os valores da Pb-S e os

Quadro I
Resultados dos doseamentos da Pb-S e da PPZ ($n = 67$)

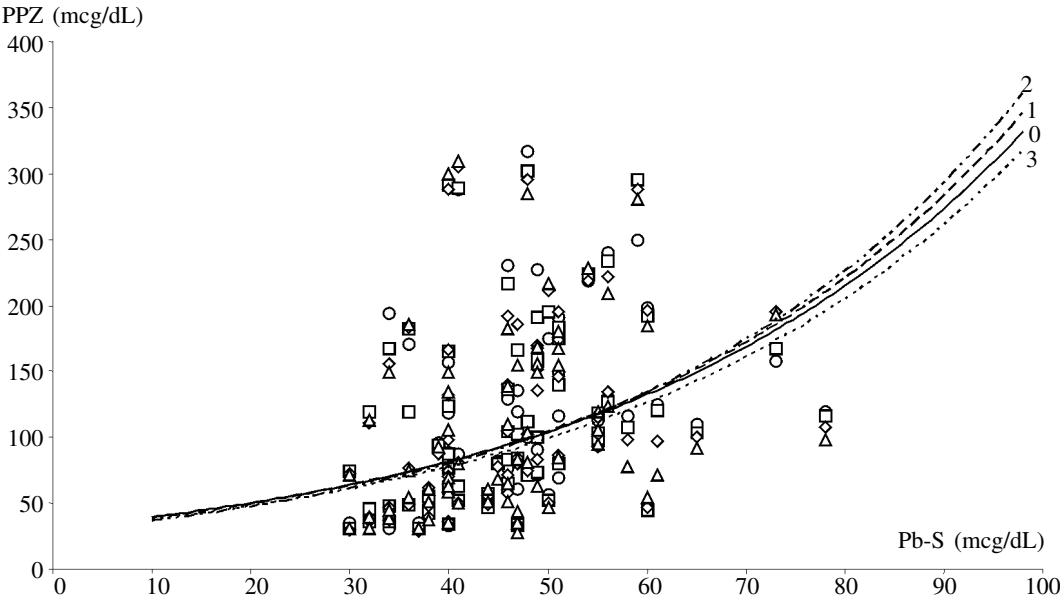
	Pb-S (t_0)	PPZ (t_0)	PPZ (t_1)	PPZ (t_2)	PPZ (t_3)
Média	46,1	113,9	113,7	112,6	109,3
Mediana	46,0	96,0	100,0	93,0	84,0
Desvio-padrão	9,74	79,36	70,22	70,76	70,71
Mínimo	30	31	31	29	28
Máximo	78	317	302	305	309

Unidades: $\mu\text{g/dL}$.

de cada doseamento da PPZ (t_0 , t_1 , t_2 , t_3), por seu lado, apresentam em todas as quatro situações uma associação positiva, com significado estatístico (p sempre inferior a 0,05), embora de relativa intensidade (coeficiente de correlação de Pearson $r = 0,3$) (Quadro II). A aplicação da análise de correlação de Pearson aos vários grupos de doseamentos da PPZ revela coefi-

cientes de correlação (sempre superiores a 0,9) para níveis de significância de 0,1% (Quadro III). Tal permite reforçar, em conjunto com as análises efetuadas, que os quatro doseamentos da PPZ são semelhantes entre si. Os resultados obtidos denotam uma associação estatisticamente significativa entre a plumbemia e os vários doseamentos da PPZ, associação essa que,

Figura 1
Distribuição dos doseamentos da PPZ nos vários instantes ($n = 67$)



Quadro II
Associação entre a Pb-S e os vários doseamentos de PPZ ($n = 67$)

	Pb-S/PPZ t_0	Pb-S/PPZ t_1	Pb-S/PPZ t_2	Pb-S/PPZ t_3
Coefficiente de correlação*	0,28	0,31	0,32	0,29
Probabilidade de significância	$p = 0,02$	$p = 0,01$	$p = 0,01$	$p = 0,02$

* Pearson.

Quadro III
Correlação entre os doseamentos de PPZ ($n = 67$)

Variáveis comparadas	Coefficiente de correlação*	Probabilidade de significância
PPZ $_0$ /PPZ $_1$	0,98	$p < 0,001$
PPZ $_0$ /PPZ $_2$	0,95	$p < 0,001$
PPZ $_0$ /PPZ $_3$	0,93	$p < 0,001$
PPZ $_1$ /PPZ $_2$	0,99	$p < 0,001$
PPZ $_1$ /PPZ $_3$	0,97	$p < 0,001$
PPZ $_2$ /PPZ $_3$	0,99	$p < 0,001$

* Pearson.

contudo, em contraste com o que é habitual em comparações desta natureza (Kammholz *et al.*, 1972; Piomelli *et al.*, 1973; Chisolm *et al.*, 1974; Reigart e Whitlock, 1976; Labbé, 1977; Eisinger *et al.*, 1978; Karacic, Majic e Telisman, 1980; Mets, 1981; Suga, Fischinger e Knoch, 1981; Fischbein *et al.*, 1982; Grunder e Moffitt, 1982; Urbietta, 1982; Niculescu *et al.*, 1984; Wildt, Berlin e Isberg, 1987; Brunet *et al.*, 1988; Landrigan, 1989; Hansen *et al.*, 1990; Botta *et al.*, 1990; Zwennis, Fransen e Wijnans, 1990; Kononen, 1991; Medinilla e Espigares, 1991; Van Heerden e Mets, 1991; Fischbein, 1992; Turck *et al.*, 1992; Cardenas *et al.*, 1993; Timár *et al.*, 1995; Bo-Jian *et al.*, 1996; Schumacher *et al.*, 1997; Lauwerys, 1999; Prista, Pinto e Aguiar, 2002), apresenta um baixo grau de correlação. Pela observação individual

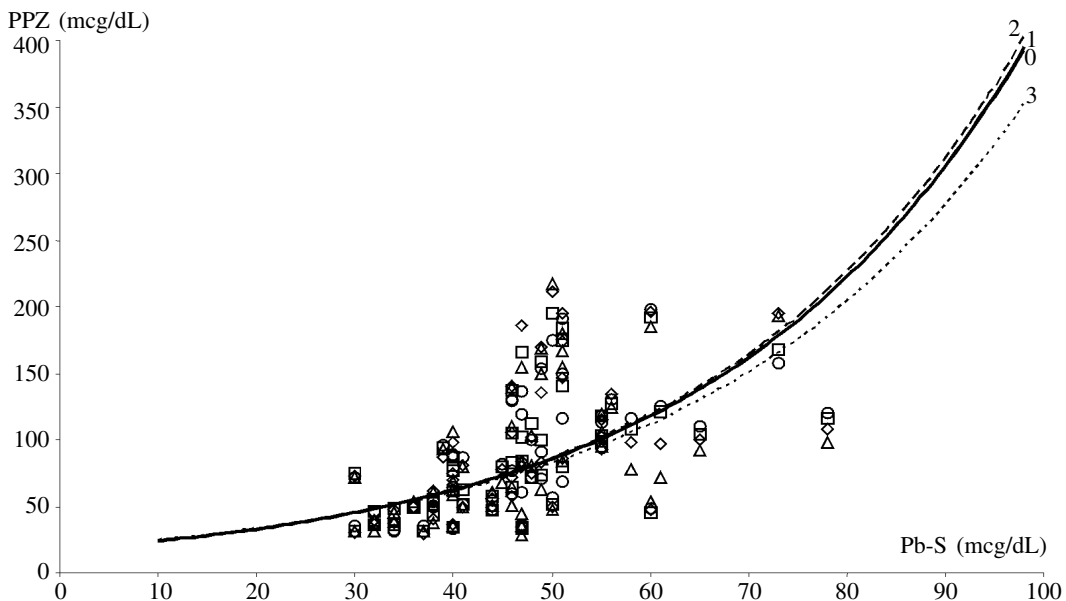
dos resultados ficou patente, entretanto, um conjunto de 11 casos de resposta não habitual da PPZ, com taxas muito elevadas em relação ao teoricamente expectável para os níveis de plumbemia registados. Anulados esses resultados ($n = 56$), e reapreciando os novos conjuntos de dados, observa-se que os níveis de plumbemia não sofrem alterações assinaláveis, sendo a média, a mediana e os intervalos de variação praticamente iguais. Quanto ao que se refere aos resultados da PPZ nos vários momentos de determinação, é patente uma evolução de resultados semelhante à verificada na totalidade, embora com uma diminuição dos valores (*Quadro IV* e *Figura 2*). Neste contexto, os coeficientes de correlação entre a Pb-S e as várias PPZ situam-se em 0,6 para $p < 0,001$, grau de associação este já comparável aos

Quadro IV
Resultados dos doseamentos da Pb-S e da PPZ ($n = 56$)

	Pb-S (t_0)	PPZ (t_0)	PPZ (t_1)	PPZ (t_2)	PPZ (t_3)
Média	46,7	87,4	88,6	89,5	86,2
Mediana	47	82	80	80	72
Desvio-padrão	10,02	43,51	45,53	49,33	48,57
Mínimo	30	31	31	29	28
Máximo	78	198	195	211	217

Unidades: $\mu\text{g/dL}$.

Figura 2
Distribuição dos doseamentos da PPZ nos vários instantes ($n = 56$)



habitualmente encontrados noutros estudos. Em avaliação posterior, por seu lado, verificou-se que em nenhum dos casos se registava uma diminuição do ferro sérico, pelo que a explicação poderá situar-se em respostas aumentadas por susceptibilidade genética, designadamente no que respeita ao padrão de distribuição do polimorfismo do ALA-D, ou noutras das possíveis causas por esclarecer.

Apreciando o conjunto de resultados nos quatro momentos estabelecidos, constata-se que o valor médio de PPZ (tal como a mediana) e os intervalos de variação, embora apresentem uma ligeira diminuição na última avaliação (após três meses), se situam em padrões semelhantes entre si.

Dado que os graus de correlação entre cada um deles são elevados (r sempre superior a 0,9 para

$p < 0,001$), conclui-se que o modo como evoluíram ao longo do tempo considerado é uniforme. E o teste de Wilcoxon efectuado, por seu turno, revela não haver diferenças significativas entre eles, pelo que pode concluir-se pela estabilidade dos resultados.

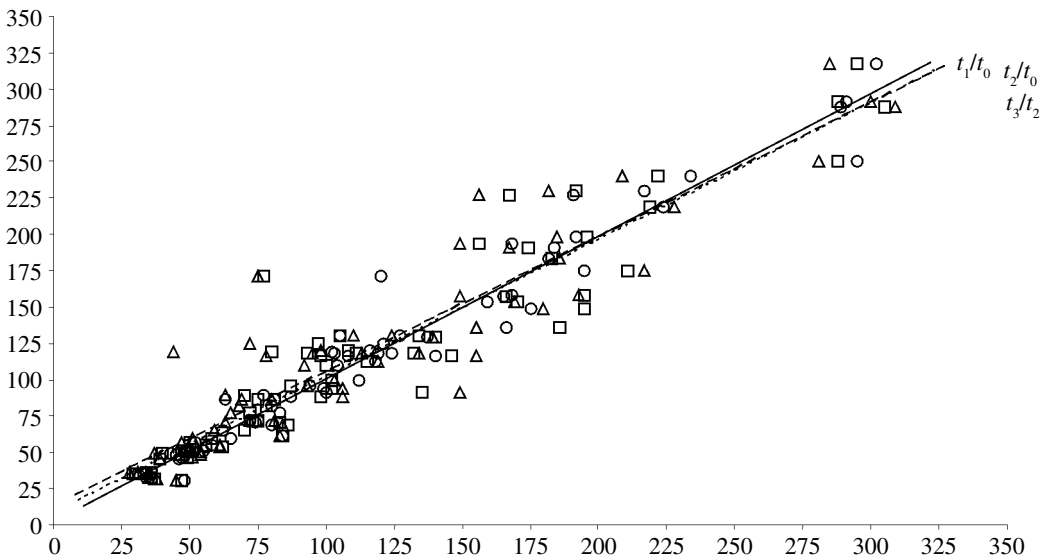
Reforçando estas apreciações, a determinação das rectas de regressão de cada grupo de PPZ sobre os mesmos resultados no período inicial revela padrões de semelhança importantes entre os resultados, verificando-se que há uma perda de intensidade ao longo do tempo, como o revelam os respectivos coeficientes de determinação (proporção de resultados de PPZ em cada momento determinados pelo valor inicial) (*Quadro V e Figuras 3 e 4*).

Assim, parece poder concluir-se que os doseamentos da PPZ ao longo de um período de cerca de três

Quadro V
Equações das rectas de regressão de cada PPZ sobre a PPZ inicial

	PPZ ₁ /PPZ ₀	PPZ ₂ /PPZ ₀	PPZ ₃ /PPZ ₀
$n = 67$ Equação	$Y = 0,9813 X + 2,3977$	$Y = 0,9497 X + 7,9744$	$Y = 0,9244 X + 12,901$
R^2	0,9591	0,895	0,863
$n = 56$ Equação	$Y = 1,0159 X - 0,1789$	$Y = 1,0559 X - 2,7127$	$Y = 0,9935 X - 0,6377$
R^2	0,9422	0,8671	0,7919

Figura 3
Rectas de regressão de cada PPZ sobre a PPZ inicial ($n = 67$)



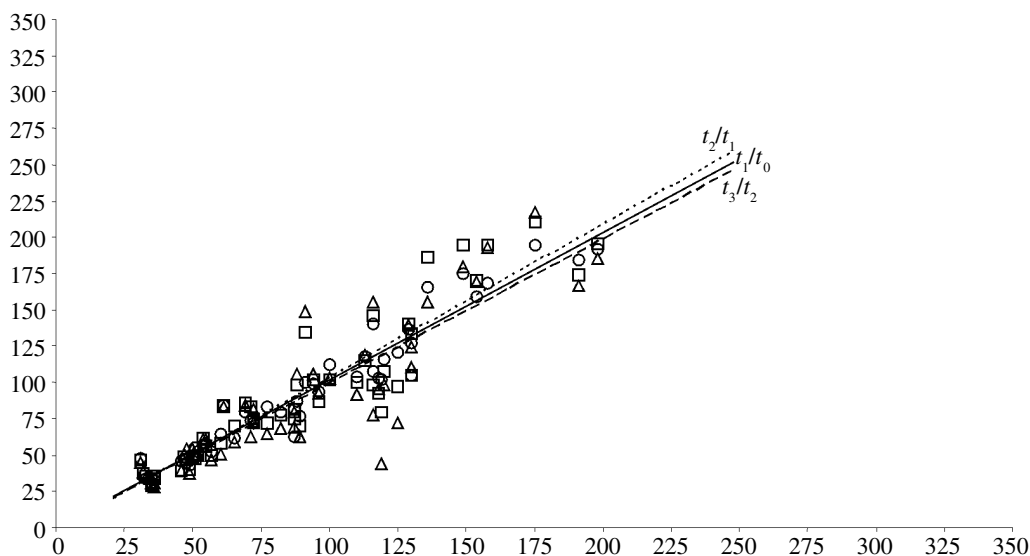
meses, sendo de modo semelhante correlacionados com a plumbemia do instante inicial e mantendo uma distribuição de valores idêntica, são equivalentes entre si, aparentando serem uma resposta metabólica a um nível de dose interna determinado.

Os trabalhadores incluídos no presente estudo estavam sujeitos a exposição profissional a chumbo, todos eles há mais de dois anos e, na generalidade, cada um deles afectos às mesmas tarefas nos mesmos locais de trabalho. Indicia-se, assim, que a sua exposição será regularmente estável e a observação dos registos individuais dos resultados das plumbemias realizadas ao longo dos últimos três anos não evidencia, de facto, assinaláveis oscilações. Deste modo, a situação de estabilidade dos valores da PPZ poderá ser entendida como eventualmente influenciada por essa situação.

Contudo, em situações de variabilidade da exposição, os presentes resultados não permitem afirmar que a PPZ em determinado momento é representativa de uma dose interna de chumbo presente três meses antes e um cuidado acrescido deverá ser colocado na interpretação de resultados nessa situação. A plumbemia é maioritariamente influenciada pela quantidade

de chumbo absorvido no passado recente (três a quatro semanas). A protoporfirina-zinco representa alterações determinadas pelos níveis de chumbo nos últimos três meses (Grandjean e Lintrup, 1978; Labrèche e P'An, 1984; Botta *et al.*, 1990; Grandjean, Jorgensen e Viskum, 1991; Fischbein, 1992; Sassaroli *et al.*, 1992; USA. OSHA, 1993; Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Schwartz *et al.*, 1994; Lauwerys, 1999; Truchon, 1999). Assim, uma PPZ baixa não assegura que o indivíduo não esteja nesse momento sujeito a uma exposição profissional considerável. E, nesse sentido, será possível que a plumbemia de um determinado momento seja razoavelmente diferente da que influenciou os níveis de PPZ durante os meses anteriores. Grunder e Moffitt, por exemplo, em distintas populações, encontraram diferentes valores de PPZ (125 e 150 $\mu\text{g/dL}$) correspondentes a um mesmo nível de Pb-S de 60 $\mu\text{g/dL}$ (Grunder e Moffitt, 1982), o que poderá significar respostas metabólicas diferentes ou diferentes níveis de exposição anteriores. Num estudo incidindo sobre um grupo de trabalhadores que, ao longo de um ano, registaram uma diminuição da exposição ao chumbo, Grandjean *et al.* constataram que a Pb-S sofria um significativo e

Figura 4
Rectas de regressão de cada PPZ sobre a PPZ inicial ($n = 56$)



generalizado decréscimo (20%), mas que a PPZ apresentava variações interindividuais, apenas decrescendo em alguns trabalhadores, enquanto noutros se mantinha estável. Em conclusão, esses autores sugeriram que o chumbo depositado no tecido ósseo, tanto maior quanto maior o tempo de exposição, poderá manter uma acção sobre a síntese do heme, impedindo que, face a uma diminuição da exposição, se verifique um decréscimo da PPZ, enquanto a Pb-S se vai reduzindo (Grandjean, Jorgensen e Viskum, 1991). Também Froom *et al.* estudaram a evolução da PPZ em relação à Pb-S, verificando que na exposição crónica (estável) a Pb-S atinge o valor máximo em três a seis meses, enquanto a PPZ o alcança em seis a nove meses, e que, após a cessação da exposição, a PPZ se mantém em valores elevados por um período até dois anos, enquanto a Pb-S decresce mais rapidamente (Froom *et al.*, 1995). Por seu turno, Lerner *et al.* estudaram a evolução da Pb-S e da PPZ em trabalhadores que regressaram ao trabalho habitual após afastamento da exposição durante dez semanas, tendo verificado que a PPZ diminuía, enquanto a Pb-S se elevava (Lerner, Gertsides e Roy, 1982). Um e outro estudo indiciam, portanto, o diferente significado relacional, no tempo, entre os doseamentos de Pb-S e da PPZ.

A questão coloca-se, essencialmente, nas situações em que a PPZ é utilizada como teste de primeira linha, reservando-se a realização de outros testes, designadamente a plumbemia, para os casos em que a PPZ seja elevada (Eisinger *et al.*, 1978; Fernandez, Gonzalez e Arana, 1978; Fischbein *et al.*, 1982; Leung, Bradley e Pellar, 1993; USA. OSHA, 1993; Zhang, 1993; Lee, 1999; Prista e Uva, 2004). A monitorização, nestas circunstâncias, assenta num indicador que informa sobre o efeito metabólico que uma determinada dose de chumbo está a produzir, o que desde logo pode representar um ganho qualitativo substancial. Mas não pode ignorar-se que o risco pode estar a ser diferente, particularmente se for maior, pelo que haverá que acautelar essa eventual circunstância.

A protoporfirina-zinco reflecte a interacção do chumbo com o organismo. É um *indicador de efeito*, mede alterações que efectivamente já se processaram, seja qual for a dose presente, embora, habitualmente, com uma intensidade com esta relacionada. E, se é verdade que a determinação isolada da dose não identifica a resposta do organismo, também haverá que ter presente que a exclusiva avaliação do efeito num dado momento não permite, com rigor, caracterizar a exposição actual. Uma e outra são, assim, complementares e, nessa qualidade, devem ser equacionadas na definição metodológica da organização da vigilância da saúde dos trabalhadores expostos a chumbo.

Parece inquestionável, à luz do conhecimento actual e com base em múltiplos estudos, que, no âmbito de uma vigilância sistemática, com múltiplos dados de referência (ambientais, biológicos e clínicos) e permanente controlo de cada situação individual, o doseamento da PPZ pode ser o suporte analítico da vigilância e privilegiado em relação ao da plumbemia. E, à luz dos presentes resultados, um período de três meses parece assegurar uma confortável correspondência entre os níveis de dose interna (plumbemia) e o grau de efeitos avaliado pela PPZ, mesmo que esse efeito seja acrescido por susceptibilidade ou vulnerabilidade individual. Se a exposição for razoavelmente estável, parece haver uma confortável segurança na apreciação efectuada com base na realização da PPZ. Se a exposição for variável, contudo, os presentes resultados não permitem avaliar a adequabilidade da informação com base em determinações isoladas da PPZ.

Conclui-se, portanto, que o recurso à PPZ como primeira linha é adequado em situações de estabilidade da exposição e que a periodicidade de realização não deverá ser superior a três meses.

Em situações de início da exposição, de exposição esporádica ou de importante variabilidade dos níveis de exposição, contudo, a monitorização deve ser efectuada com base na determinação simultânea da plumbemia e da protoporfirina-zinco.

□ Referências bibliográficas

- AHN, H.-C., *et al.* — Different effects of serum iron status on the relationship between blood lead and zinc protoporphyrin in lead workers in Korea. *Journal of Occupational Health*. 41 (1999) 166-171.
- BERGDAHL, I. A. — Lead-binding proteins : a way to understand lead toxicity? *Analysis Magazine*. 26 : 6 (1998) M81-M84.
- BO-JIAN, W., *et al.* — Blood lead dynamics of lead-exposed pregnant women and its effects on fetus development. *Biomedical and Environmental Sciences*. 9 (1996) 41-45.
- BOTTA, A., *et al.* — Dépistage de l'imprégnation saturnine. *Revue de médecine du travail*. T. xvii : 1 (1990) 7-12.

- BRAITHWAITE, R. A.; BROWN, S. S. — Clinical and sub-clinical lead-poisoning : a laboratory perspective. *Human Toxicology*. 7 (1988) 503-513.
- BRUNET, M., *et al.* — Valoración de la actividad pirimidina 5'nucleotidasa eritrocitaria en la detección y diagnóstico temprano del saturnismo : estudio comparativo con la cinc-protoporfirina. *Medicina Clínica*. 91 (1988) 521-524.
- CARDENAS, A., *et al.* — Markers of early renal changes induced by industrial pollutants : II application to workers exposed to lead. *British Journal of Industrial Medicine*. 50 (1993) 29-36.
- CHISOLM, J. J., *et al.* — A simple protoporphyrin assay-microhematocrit procedure as a screening technique for increased lead absorption in young children. *The Journal of Pediatrics*. 84 : 4 (1974) 490-496.
- DALLY, S. — Plomb et santé : quelques données récentes. INRS. *Documents pour le medecin du travail*. 33 (1988) 9-15.
- DUC, M.; KAMINSKY, P.; KLEIN, M. — Intoxication par le plomb et ses sals. In *Encycl. Med. Chir.* — Toxicologie-pathologie professionnelle. Paris : Éditions Techniques, 1994. 1-10.
- EISINGER, J., *et al.* — Zinc protoporphyrin in blood as a biological indicator of chronic lead intoxication. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*. 1 (1978) 897-910.
- EUROPEAN UNION. SCOEL — Recommendation from Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for lead and its inorganic compounds. Brussels : Scientific Committee on Occupational Exposure Limits, 2000.
http://europa.eu.int/comm/employment_social/health_safety/publicat/sum_83_lead.pdf.
- FERNANDEZ, E. G.; GONZALEZ, M. D.; ARANA, J. M. — Consideraciones para la evaluación fiable de la intoxicación por plomo inorgánico. *Medicina y Seguridad del Trabajo*. T.xxx : 120 (1982) 232-247.
- FISCHBEIN, A. — Lead poisoning : I. some clinical and toxicological observations on the effects of occupational lead exposure among firearms instructors. *Israel Journal of Medical Sciences*. 28 : 8-9 (1992) 560-572.
- FISCHBEIN, A., *et al.* — Fluorometric zinc protoporphyrin determination in blood : a practical method for the detection of chronic lead poisoning. New Jersey : City University of New York. Mount Sinai School of Medicine. Environmental Sciences Laboratories. Department of Community Medicine, 1982.
- GOYER, R. A. — Lead. In KLAASSEN, C. D., *et al.* — Cassarett and Doull's toxicology : the basic science of poisons. 5th ed. Cap. 23. New York : McGraw-Hill, 1996.
- GRANDJEAN, P.; JORGENSEN, P. J.; VISKUM, S. — Temporal and interindividual variation in erythrocyte zinc-protoporphyrin in lead exposed workers. *British Journal of Industrial Medicine*. 48 : 4 (1991) 154-257.
- GRANDJEAN, P.; LINTRUP, J. — Erythrocyte-zn-protoporphyrin as an indicator of lead exposure. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratorial Investigation*. 38 (1978) 669-675.
- GRAZIANO, J. H. — Validity of lead exposure markers in diagnosis and surveillance. *Clinical Chemistry*. 40 : 7 (1994) 1387-1390.
- GRUNDER, F. I.; MOFFIT, A. E. — Blood as a matrix for biological monitoring. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 43 (1982) 271-274.
- HARADA, K.; MIURA, H. — Free erythrocyte protoporphyrin (FEP) and zinc protoporphyrin (ZnP) as biological parameters for lead poisoning. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 53 (1984) 365-377.
- HASTKA, J., *et al.* — Central role of zinc protoporphyrin in staging iron deficiency. *Clinical Chemistry*. 40 : 5 (1994) 768-773.
- HODGKINS, D. G., *et al.* — The effect of airborne lead particle size on worker blood-lead levels : an empirical study of battery workers. *Journal of Occupational Medicine*. 33 : 12 (1991) 1265-1273.
- HORIGUCHI, S., *et al.* — A 40-year review of health of workers at a lead reclamation factory. *Journal Science of Labour*. 69 : 1 (1993) 1-12.
- HRYHORCZUK, D. O., *et al.* — The fall of zinc protoporphyrin levels in workers treated for chronic lead intoxication. *Journal of Occupational Medicine*. 27 (1985) 816-820.
- IPCS — INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY — Inorganic lead. Geneva : WHO, 1995 (Environmental Health Criteria; 165).
- JACOBS, J. M., *et al.* — Formation of zinc protoporphyrin in cultured hepatocytes : effects of ferrochelatase inhibition, iron chelation or lead. *Toxicology*. 125 (1998) 95-105.
- JOSELOW, M. M.; FLORES, J. — Application of the zinc protoporphyrin (ZP) test as a monitor of occupational exposure to lead. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 38 (1977) 63-66.
- KAMMHOLZ, L. P., *et al.* — Rapid protoporphyrin quantitation for detection of lead poisoning. *Pediatrics*. 50 : 4 (1972) 625-631.
- KARACIC, V.; PRPIC-MAJIC, D.; TELISMAN, S. — The relationship between zinc protoporphyrin (ZPP) and free erythrocyte protoporphyrin (FEP) in lead-exposed individuals. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 47 : 2 (1980) 165-177.
- KENTNER, M.; FISCHER, T. — Exposure to lead at work : significance of different biomonitoring parameters. *Occupational Hygiene*. 1 (1994) 219-240.
- KESER-STANKOVIC, M., *et al.* — Comparative values of enzymatological and hematological tests early exposure to lead. *Folia Medica*. Vol. xvii (1982) 99-104.
- KONONEN, D. W. — First year changes in blood lead and zinc protoporphyrin levels within two groups of occupational lead workers. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 52 : 4 (1991) 177-182.
- LABBÉ, R. F. — History and background of protoporphyrin testing. *Clinical Chemistry*. 23 : 2 (1977) 256-259.
- LABBÉ, R. F.; VREMAN, H. J.; STEVENSON, D. K. — Zinc protoporphyrin : a metabolite with a mission. *Clinical Chemistry*. 45 : 12 (1999) 2060-2072.
- LABRÈCHE, F. P.; P'AN, A. Y. S. — La valeur relative de certains tests de dépistage du saturnisme selon le degré d'exposition au plomb. *Revue d'épidémiologie et santé publique*. 32 (1984) 322-329.
- LANDRIGAN, P. J. — Toxicity of lead at low dose. *British Journal of Industrial Medicine*. 46 (1989) 593-596.
- LANDRIGAN, P. J. — Lead. In ROSENSTOCK, L.; CULLEN, M. R., ed. lit. — Textbook of clinical and environmental medicine. Philadelphia : WB Saunders, 1994.
- LAUWERYS, R. — Plomb. In *Toxicologie industrielle et intoxications professionnels*. 4^{ème} ed. Paris : Masson, 1999. 255-295.
- LEE, B.-K., *et al.* — A comparison of different lead biomarkers in their associations with lead-related symptoms. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 73 (2000) 298-304.
- LEUNG, F. Y.; BRADLEY, C.; PELLAR, T. G. — Reference intervals for blood lead and evaluation of zinc protoporphyrin as a screening test for lead toxicity. *Clinical Biochemistry*. 26 : 6 (1993) 491-496.

LEVIN, S. M.; GOLDBERG, M. — Clinical evaluation and management of lead-exposed construction workers. *American Journal of Industrial Medicine*. 37 (2000) 23-43.

MARCUS, A. H.; SCHWARTZ, J. — Dose-response curves for erythrocyte protoporphyrin vs. blood lead : effects of iron status. *Environmental Research*. 44 (1987) 221-227.

MARQUÉS MARQUÉS, F. — Plomo : criterios toxicológicos actuales para la vigilancia medica de trabajadores expostos. Madrid : Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 1993 (Documentos Técnicos; 71 : 92).

MARSH, W. L.; NELSON, D. P.; KOENIG, H. M. — Free erythrocyte protoporphyrin (FEP) I : normal values for adults and evaluation of the hematofluorometer. *American Journal of Clinical Pathology*. 79 : 6 (1983) 655-660.

MASCI, O., *et al.* — Blood lead concentration and biological effects in workers exposed to very low lead levels. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 40 : 10 (1998) 886-894.

MEDINILLA, J.; ESPIGARES, M. — Environmental and biological monitoring of workers exposed to inorganic lead. *Journal of Society of Occupational Medicine*. 41 (1991) 107-112.

METS, J. T. — Biological monitoring of occupational exposure to lead with a zinc protoporphyrin (ZPP) meter. *South African Medical Journal*. 60 : 23 (1981) 891-896.

NELSON, J. C., *et al.* — The ratio of erythrocyte zinc-protoporphyrin to protoporphyrin IX in disease and its significance in the mechanism of lead toxicity on haeme synthesis. *Annals of Clinical Biochemistry*. 35 (1998) 422-426.

NICULESCU, T., *et al.* — La protoporphyrine érythrocytaire libre dans l'exposition et l'intoxication professionnelles par le plomb. *Archives des Maladies Professionnelles*. 45 : 2 (1984) 87-90.

PARSONS, P. J., *et al.* — An interlaboratory comparison of control materials for use with hematofluorometers. *Clinical Chemistry*. 35 : 10 (1989) 2059-2065.

PIOMELLI, S., *et al.* — The FEP (free erythrocyte porphyrins) test : a screening micromethod for lead poisoning. *Pediatrics*. 51 : 2 (1973) 254-259.

PRISTA, J. — Exposição profissional ao chumbo : utilização da protoporfirina-zinco (PPZ) na vigilância de saúde de trabalhadores expostos. Lisboa : Escola Nacional de Saúde Pública, 2002. Dissertação de candidatura ao grau de doutor em Saúde Pública na especialidade de Saúde Ocupacional pela Universidade Nova de Lisboa.

PRISTA, J.; PINTO, R.; AGUIAR, P. — Determinação da protoporfirina-zinco por hematofluorímetro portátil : investigação sobre validade dos dados. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 20 : 1 (2002) 5-10.

PRISTA, J.; UVA, A. S. — Vigilância biológica de trabalhadores expostos a chumbo : comparação de alguns indicadores de efeito. *Jornal das Ciências Médicas*. (2004). A publicar.

REIGART, J. R.; WHITLOCK, N. H. — Longitudinal observations of the relationship between free erythrocyte porphyrins and whole blood lead. *Pediatrics*. 57 : 1 (1976) 54-59.

ROLFE, P. B., *et al.* — Use of zinc protoporphyrin measured by the protofluor-z hematofluorometer in screening children for elevated blood lead levels. *American Journal of Diseases of Children*. 147 (1993) 66-68.

SAKAI, T. — Biomarkers of lead exposure. *Industrial Health*. 38 (2000) 127-142.

SARYAN, L. A.; ZENZ, C. — Lead and its compounds. In ZENZ, C., ed. lit. — Occupational medicine. 3rd edition. Cap. 38. St. Louis : Mosby Year Book, Inc., 1994.

SASSAROLI, M., *et al.* — Distribution of non-heme porphyrin content of individual erythrocytes by fluorescence image cytometry and its application to lead poisoning. *Citometry*. 13 (1992) 339-345.

SCHÄLLER, K. H. — Inorganic lead. In WHO — Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. Geneva : WHO, 1996. 112-131.

SCHUMACHER, C., *et al.* — An assessment of some biomarkers indicative of occupational exposure to lead. *Trace Elements and Electrolytes*. 14 : 3 (1997) 145-149.

SCHWARTZ, B. S., *et al.* — Comparison of measures of lead exposure, dose, and chelatable lead burden after provocative chelation in organolead workers. *Occupational and Environmental Medicine*. 51 (1994) 669-673.

STANTON, N. V., *et al.* — Empirically determined lead-poisoning screening cutoff for the protofluor-z hematofluorometer. *Clinical Chemistry*. 35 : 10 (1989) 2104-2107.

SUGA, R. S.; FISCHINGER, A. J.; KNOCH, F. W. — Establishment of normal values in adults for zinc protoporphyrin (ZPP) using hematofluorometer : correlation with normal blood lead values. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 42 : 9 (1981) 637-642.

TIMÁR, M., *et al.* — Biological monitoring in lead exposure. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 1 : 1 (1995) 53-62.

TRUCHON, G. — Guide de surveillance biologique : prélèvements et interprétation des resultants. 5^{ème} édition. Montréal : Institut de Recherche en Santé et Sécurité du Travail du Québec, 1999.

TURCK, D. S., *et al.* — Sensitivity of erythrocyte protoporphyrin as a screening test for lead poisoning. *The New England Journal of Medicine*. 326 : 2 (1992) 137-138.

URBIETA, M. T. — Metabolitos del plomo : elección del parámetro y método analítico. IV Simposium de Higiene Industrial, 1982.

USA. OSHA — OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH AGENCY — OSHA regulations (standards — 29 CFR) : medical surveillance guidelines — 1926.62 App C, 1993 www.osha-slc.gov.

VAN HEERDEN, H. G.; METZ, J. T. — Health surveillance of employees on a lead mine, 1979-1989. *South African Medical Journal*. 79 (1991) 387-390.

VYSKOCIL, A.; VIAU, C.; BRODEUR, J. — La surveillance biologique de l'exposition au plomb : une mise à jour. *Travail et santé*. 9 : 1 (1993) S2-S7.

WALDRON, H. A. — Lead. In WALDRON, H. A., ed. lit. — Metals in the environment. London : Academic Press, 1980.

WILDT, K.; BERLIN, M.; ISBERG, P. E. — Monitoring of zinc protoporphyrin levels in blood following occupational lead exposure. *American Journal of Industrial Medicine*. 12 : 4 (1987) 385-398.

ZHANG, J. — Investigation and evaluation of zinc protoporphyrin as a diagnostic indicator in lead intoxication. *American Journal of Industrial Medicine*. 24 (1993) 707-712.

ZWENNIS, W. C.; FRANSSEN, A. C.; WIJNANS, M. J. — Use of zinc protoporphyrin in screening individuals for exposure to lead. *Clinical Chemistry*. 36 : 8 (1990) 1456-1459.

□ Summary

TEMPORAL VARIATION MEASUREMENTS OF ZINC-PROTOPORPHYRIN (ZPP) IN WORKERS EXPOSED TO LEAD

Zincprotoporphyrin (ZPP) measurement has been indicated as a first option indicator in biological monitoring programs of workers exposed to lead. ZPP presents a high degree of association with blood lead levels and, in a given moment, represents the metabolic effect of lead with ferrochelatase (an enzyme that catalyzes the incorporation of iron binding into the protoporphyrin) during the last three months.

Studying 67 male workers exposed to lead, authors observed the variation of PPZ in relation to blood lead levels determined in a given moment in time (t_0) and in successive moments: around 30 days after (t_1), 60 days after (t_2) and 90 days (t_3) after. Results obtained allow to conclude that in workers enduringly exposed to lead (with blood lead levels between 30 and 78 $\mu\text{g/dL}$) PPZ did not change significantly during the period considered. Thus, it might be concluded that results of ZPP in a given moment are representative of exposition level to lead (inferred by internal dose level) at least in relation to the period of the last three months, corresponding to the organic response to that dose.