

# Exposição profissional ao chumbo: utilização do doseamento do ácido $\delta$ -aminolevulínico urinário na vigilância médica dos trabalhadores

JOÃO PRISTA  
ANTÓNIO DE SOUSA UVA  
PEDRO AGUIAR

O ácido  $\delta$ -aminolevulínico presente na urina (ALA-U) é generalizadamente aceite como um indicador adequado para a vigilância de saúde de trabalhadores expostos a chumbo. A necessidade ou não de recurso a colheitas de urina de 24 horas para um correcto doseamento desse metabolito tem, entretanto, suscitado algumas dúvidas.

Num estudo abrangendo 45 indivíduos (28 dos quais profissionalmente expostos a chumbo inorgânico) efectuou-se o doseamento do ALA em urinas colhidas durante 24 horas e em urina de colheita única.

Confirmou-se a existência de uma boa correlação entre o ALA urinário e a plumbemia e que o tipo de colheita de urina efectuada não influencia significativamente essa associação. Contudo, pela apreciação das variações interindividuais registadas, parece aconselhável que seja privilegiado o doseamento em urinas de 24 horas.

## Introdução

A exposição ao chumbo inorgânico determina, no organismo, efeitos diversos, designadamente na cadeia de síntese da hemoglobina. Trata-se, no essen-

□

João Prista é médico do trabalho; assistente da ENSP/UNL (grupo de disciplinas de Saúde Ocupacional).

António de Sousa Uva é professor auxiliar da ENSP/UNL; coordenador do grupo de disciplinas de Saúde Ocupacional.

Pedro Aguiar é mestre em Probabilidades e Estatística; ENSP/UNL (grupo de disciplinas de Epidemiologia e Estatística).

cial, de efeitos de tipo inibitório ao nível de certas enzimas por virtude da afinidade do metal para os grupos sulfidril desses substratos (*Figura 1*).

A ALA-desidrase (ALA-D) é a enzima mais intensa e precocemente inibida pelo chumbo, seguindo-se, por ordem decrescente, a ferro-quelataase (FERRO-quelataase), a coporfirinogénio-oxidase (CPG-oxidase) e a porfobilinogénio-desaminase (PBG-desaminase) (Duc, Kaminsky e Klein, 1994).

Na sequência desta acção inibitória acumulam-se os respectivos substratos, verificando-se uma elevação dos níveis sanguíneos e da excreção urinária de ácido  $\delta$ -aminolevulínico (ALA-U) e de coproporfirina III (COPRO-U) e dos níveis eritrocitários de protoporfirina IX (PPE).

A diminuição da síntese do heme conduz, por um mecanismo de retroalimentação (*feed-back negativo*), a um aumento da actividade da ALA-sintetase (ALA-S), com a consequente elevação dos níveis de produção de ALA, o que contribui, dada a inibição da sua transformação, para o aumento dos seus níveis no sangue e, consequentemente, da sua excreção urinária.

A elevação da concentração sanguínea de ALA inicia-se quando a inibição da ALA-desidratase (ALA-D) atinge os 85% (Takebayashi *et al.*, 1993).

Segundo Meredith (1978), a elevação do ALA é, em primeiro lugar, função da inibição da ALA-desidratase e, subsequentemente, da estimulação da ALA-sintetase determinada pela diminuição dos níveis de heme (Meredith *et al.*, 1978).

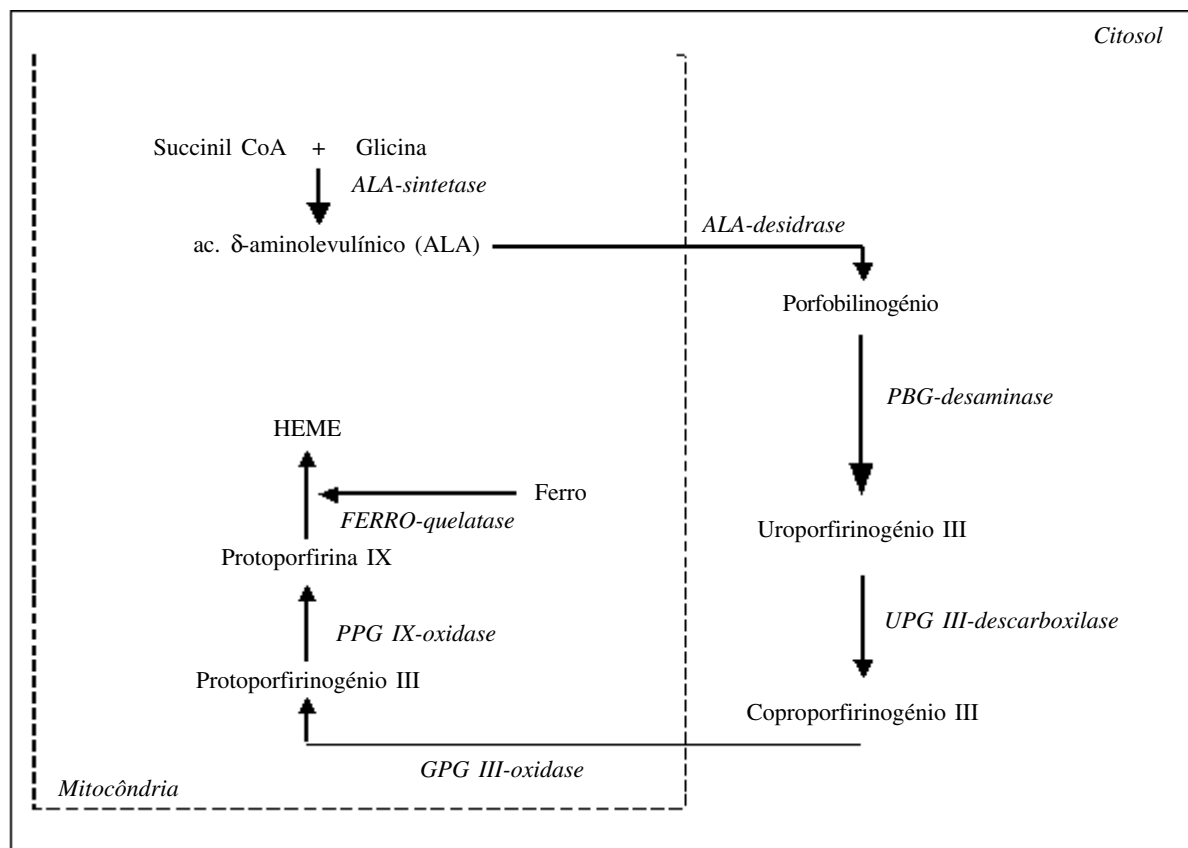
Adicionalmente, tudo leva a crer que existe uma susceptibilidade diferente dos indivíduos relativamente aos efeitos do chumbo sobre a cadeia enzimática da síntese do heme. A enzima ALA-D possui dois alelos co-dominantes designados 1 e 2. Sithisarakul *et al.* (1997) estudaram 65 trabalhadores expostos (44 com genótipo ALAD<sup>1-1</sup> e 21 com genótipo ALAD<sup>1-2</sup>) e verificaram que o ALA plasmático dos indivíduos de genótipo «1-1» era significativamente mais elevado do que o dos indivíduos com genótipo «1-2» ( $p = 0,01$ ), sugerindo, assim, que os portadores do primeiro genótipo poderão ser mais susceptíveis à acção do chumbo (Sithisarakul *et al.*, 1997). No mesmo sentido apontam os trabalhos de Alexander *et al.* (1998), que encontraram níveis de protoporfirina-zinco igualmente mais elevados em indivíduos de genótipo «1-1», comparados com os de genótipo «1-2», apesar de estes registarem maiores valores de plumbemia. Estes autores investigaram também a relação do polimorfismo do ALA com a qualidade do sêmen,

verificando que a contagem e concentração de espermatozoides também indiciam sobre este possível efeito protector do genótipo ALA «1-2» (Alexander *et al.*, 1998).

Com base no conhecimento deste mecanismo, a determinação do ALA na urina tem sido utilizada como indicador biológico na vigilância de saúde de trabalhadores expostos a chumbo. E numerosos trabalhos têm investigado o tipo de informação que esta quantificação oferece, designadamente no que respeita à sua relação com a dose interna de chumbo aferida pela plumbemia. No essencial, a investigação tem confirmado uma aceitável ou boa correlação entre ALA-U e plumbemia (Duydu e Vural, 1998; Takebayashi *et al.*, 1993; Tomokuni, Ichiba e Fujishiro, 1993; Witting, Binding e Müller, 1987; Sithisarakul, 1998).

Segundo Lauwerys, a elevação do ALA-U evidencia-se a partir de plumbemias de 40 µg/dL (Lauwerys, 1999). Estudos anteriores de Selander e Cramer

**Figura 1**  
Síntese do heme (adaptado de Duc, Kaminsky e Klein, 1994)



**Nota:** O sombreado referencia as enzimas onde se manifesta o efeito inibitório do chumbo.

Citosol

Mitocôndria

(1970), citados pelo IPCS (International Programme on Chemical Safety), já referiam que existe uma boa correlação entre o ALA urinário e a plumbemia a partir de valores de 18 µg/dL, mas que se torna mais forte a partir de 40 µg/dL (IPCS, 1995).

A concentração urinária de ALA na população, em geral, não ultrapassa os 4,5 mg/g de creatinina. Uma taxa de 10 mg/g de creatinina será atingida quando a plumbemia se situa em 60 µg/dL e uma de 15 mg/g de creatinina quando esta é cerca de 70 µg/dL (Lauwerys, 1999). Estes limiares estão de acordo com as investigações de L'Étorneau *et al.* (1988), que concluíram que a utilização de um limiar de 5mg/g de creatinina para o ALA-U permitiria detectar todos os casos de plumbemias iguais ou superiores a 65 µg/dL (L'Étorneau, Plante e Webber, 1988).

Em geral, quando a exposição cessa, a plumbemia e o ALA-U decrescem paralelamente; no entanto, pode registar-se um decréscimo mais lento das taxas de ALA-U (Lauwerys, 1999).

O doseamento do ALA-U como indicador de efeito da interação do chumbo com o organismo parece, assim, ser adequado na vigilância da saúde de trabalhadores expostos. Contudo, as condições de recolha das amostras urinárias têm suscitado alguma atenção. A excreção urinária do ALA-U é influenciada pelos ritmos biológicos, pelo que a sua concentração na urina não é uniforme ao longo do dia. Além disso, o ALA é instável em face da luz, sofrendo reacções de decomposição (Vyskocil, Viau e Brodeur, 1993; Osha, 1993). Nesta perspectiva, a determinação da concentração de ALA urinário deverá obrigar a colheitas de urina de 24 horas em frascos escuros e opacos, o que se poderá traduzir numa desvantagem da sua utilização em programas de vigilância da

exposição ocupacional a chumbo, face à incomodidade prática da sua concretização.

Neste sentido, o presente estudo objectiva dar resposta às seguintes hipóteses:

- Os valores de ALA quantificados em urina colhida durante 24 horas e os correspondentes valores determinados em urina de colheita única são diferentes;
- Os valores de ALA na urina de 24 horas são melhor correlacionados com a plumbemia do que os valores de ALA em urina de colheita única.

## População e métodos

O estudo abrangeu 45 trabalhadores com uma idade média de 45,89 anos (mínimo, 28; máximo, 59).

A colheita de urina de cada trabalhador para determinação do ALA foi efectuada em frasco opaco durante 24 horas. Adicionalmente, foi igualmente efectuada colheita única de urina imediatamente a seguir à última amostra integrante da urina de 24 horas.

A todos os indivíduos foi ainda colhido sangue para doseamento da plumbemia por espectrofotometria de absorção atómica.

O doseamento do ALA urinário foi efectuada pelo método cromatográfico-espectrofotométrico ( $\lambda = 553$  nm) com utilização do reagente de Ehrlich.

## Resultados

Os resultados obtidos nos doseamentos efectuados apresentam-se na *Tabela I*.

**Tabela I**  
**Resultados no total de indivíduos (n = 45)**

	ALA (urina de 24 horas) mg/g de creatinina	ALA (urina de colheita única) mg/g de creatinina	PbS µg/dL
Mínimo	0,17	0,18	5,30
Máximo	19,62	12,30	97,70
Média	2,97	2,73	45,12
Desvio-padrão	3,26	2,34	22,04

Considerando apenas os indivíduos com plumbemias iguais ou superiores a 40 µg/dL (62%), os mesmos resultados apresentam-se na *Tabela II*.

Verificou-se, comparando os valores de ALA-U na urina de 24 horas e na urina de colheita única em cada indivíduo, haver diferenças que não correspondem a nenhum padrão uniforme (*Figura 2*).

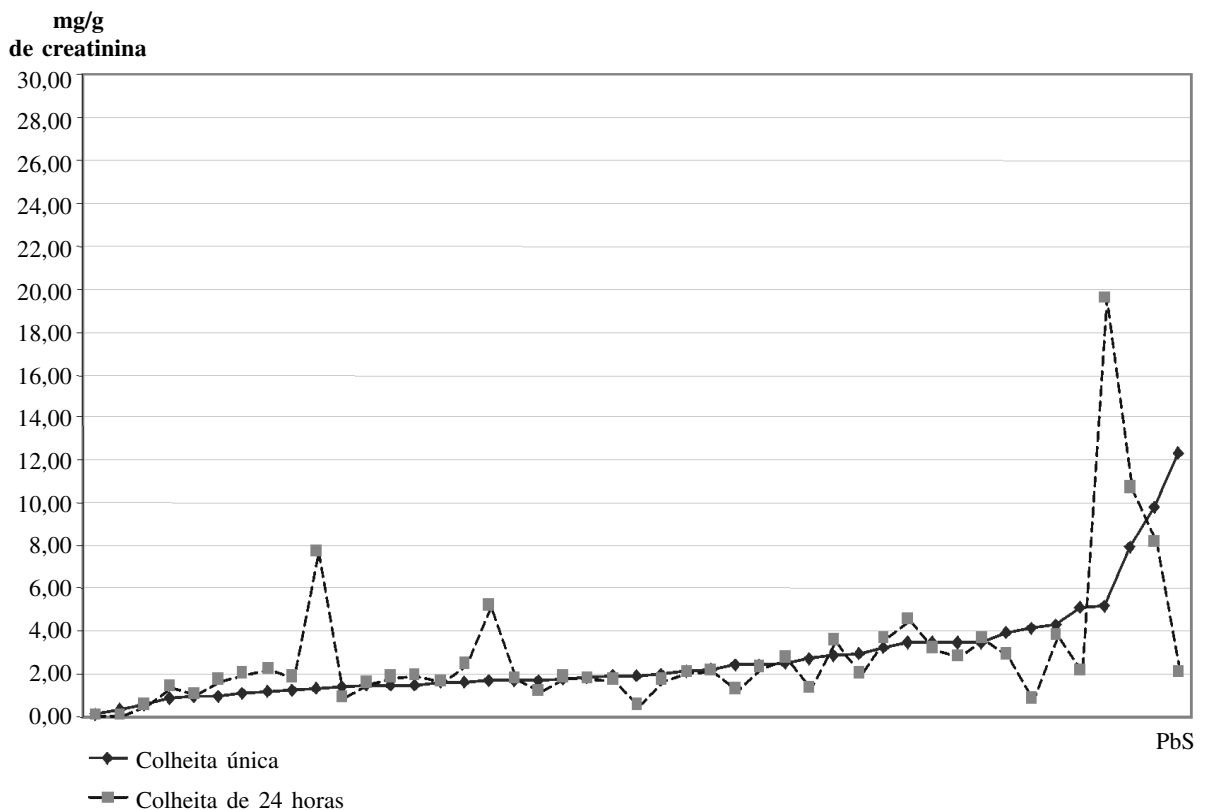
Contudo, pela aplicação do teste *t* de *student* para amostras emparelhadas, constata-se que as diferenças não são estatisticamente significativas ( $p = 0,60$ ).

Admitindo como não realizadas as condições mínimas de aplicabilidade de um teste paramétrico, efectuou-se um teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas, confirmando-se o resultado anterior ( $p = 0,67$ ).

**Tabela II**  
Resultados nos indivíduos com PbS igual ou superior a 40 µg/dL ( $n = 28$ )

	ALA (urina de 24 horas) mg/g de creatinina	ALA (urina de colheita única) mg/g de creatinina	PbS µg/dL
Mínimo	0,17	0,18	42,20
Máximo	19,62	12,30	97,70
Média	3,59	3,28	59,86
Desvio-padrão	3,98	2,79	11,99

**Figura 2**  
Valores do ALA-U (colheita de 24 horas e colheita única)



Por seu turno, quer no total do grupo estudado, quer no subgrupo de expostos, verifica-se uma boa associação (apreciada pelo respectivo coeficiente de correlação de Spearman) entre os valores do ALA-U nos dois tipos de colheita, bem como entre cada um destes e a plumbemia (*Tabela III e Tabela IV*).

### Discussão e conclusões

Os valores de ALA determinados quer em urina colhida durante 24 horas, quer em colheita única, não mostraram diferenças significativas entre si. A correlação dos valores do ALA urinário com a plumbemia revelou-se, entretanto, de grau aceitável,

sendo melhor se considerada para valores de PbS iguais ou superiores a 40 µg/dL.

Deste modo, de acordo com os dados do presente estudo, pode confirmar-se da adequabilidade da utilização do ALA urinário como indicador de efeito da exposição profissional ao chumbo e, numa base de análise de grupo, parece ser indiferente o recurso a colheitas de 24 horas ou a colheita única da urina.

A constatação, contudo, de alguns resultados de diferença assinalável (*Figura 2*) conduz ao entendimento de que a colheita de 24 horas será aconselhável, dado que, numa base de avaliação individual, salvaguarda possíveis variações relacionadas com as flutuações próprias do ritmo circadiano.

**Tabela III**  
Correlações verificadas no total de resultados ( $n = 45$ )

Associação	Coefficiente de correlação	Probabilidade de significância
ALA (24 horas)/ALA (c. única)	0,59	$p < 0,001$
ALA (24 horas)/plumbemia	0,44	$p < 0,001$
ALA (c. única)/plumbemia	0,49	$p = 0,003$

**Tabela IV**  
Correlações verificadas nos indivíduos com PbS igual ou superior a 40 µg/dL ( $n = 28$ )

Associação	Coefficiente de correlação	Probabilidade de significância
ALA (24 horas)/ALA (c. única)	0,60	$p = 0,001$
ALA (24 horas)/plumbemia	0,51	$p = 0,005$
ALA (c. única)/plumbemia	0,51	$p = 0,006$

## □ Bibliografia

ALEXANDER, B. H. *et al.* — Interaction of blood lead and  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase genotype on markers of heme synthesis and sperm production in lead smelter workers. *Environmental Health Perspectives*. 106 : 4 (1998) 213-216.

DUC, M.; KAMINSKY, P.; KLEIN, M. — Intoxication par le plomb et ses sels. In *Encyclopedie medecine chirurgie toxicologie-pathologie professionnelle*. Paris : Editions Techniques, 1994, 1-10.

DUYDU, Y.; VURAL, N. — Urinary excretion of lead and  $\delta$ -aminolevulinic acid in workers occupationally exposed to tetraethyl lead. *Biological Trace Element Research*. 63 (1998) 185-194.

HIGASHIKAWA, K., *et al.* — Blood lead level to induce significant increase in urinary  $\delta$ -aminolevulinic acid level among lead-exposed workers : a statistical approach. *Industrial Health*. 38 (2000) 181-188.

IPCS — Inorganic lead. Geneva : International Programme on Chemical Safety. WHO, 1995 (*Environmental Health Criteria*, 165).

KLAASSEN, C. D., *et al.* — Cassarett and Doull's toxicology : the basic science of poisons. 5<sup>th</sup> ed. New York : McGraw-Hill, 1996.

LAUWERYS, R. — Toxicologie industrielle et intoxications professionnels. 4<sup>ème</sup> ed. Paris : Masson, 1999.

LÉTORNEAU, G. G.; PLANTE, R.; WEBER, J. P. — Blood lead and maximal urinary excretion of delta-aminolevulinic acid. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 49 : 7 (1988) 342-345.

MAKINO, S.; TSURUTA, H.; TAKATA, T. — Relationship between blood lead level and urinary ALA level in workers exposed to very low levels of lead. *Industrial Health*. 38 (2000) 95-98.

MEREDITH, P. A., *et al.* — Delta-aminolevulinic acid metabolism in normal and lead-exposed humans. *Toxicology*. 9 (1978) 1-9.

SITHISARANKUL, P., *et al.* — Aminolevulinic acid dehydratase genotype mediates plasma levels of the neurotoxin, 5-aminolevulinic acid, in lead-exposed workers. *American Journal of Industrial Medicine*. 32 (1997) 15-20.

SITHISARANKUL, P., *et al.* — Urinary 5-aminolevulinic acid (ALA) adjusted by creatinine : a surrogate for plasma ALA? *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 40 : 10 (1998) 901-906.

SOLLIWAY, B. M., *et al.* — A multidisciplinary study of lead-exposed subjects : delayed target detection P-300 latency, an electrophysiological parameter, correlates with urinary  $\delta$ -ALA. *Environmental Research*. 67 : 2 (1994) 168-182.

TAKEBAYASHI, T., *et al.* — Evaluation of  $\delta$ -aminolevulinic acid in blood of workers exposed to lead. *British Journal of Industrial Medicine*. 50 (1993) 49-54.

TOMOKUNI, K.; ICHIBA, M.; FUJISHIRO, K. — Interrelation between urinary  $\delta$ -aminolevulinic acid (ALA), serum ALA and blood lead in workers exposed to lead. *Industrial Health*. 31 (1993) 51-57.

USA. OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH AGENCY — OSHA regulations (Standards — 29 CFR) : medical surveillance guidelines — 1926.62 App. C. Washington, D. C. : OSHA, 1993 [www.osha-slc.gov](http://www.osha-slc.gov).

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.

WITTING, U.; BINDING, N.; MULLER, G. — Evaluation of a new specific analysis of urinary delta-aminolevulinic acid in man. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 59 (1987) 375-383.

## □ Summary

OCCUPATIONAL EXPOSURE TO LEAD: USE OF  $\delta$ -AMINOLEVULINIC ACID IN URINE FOR HEALTH SURVEILLANCE PROGRAMS OF EXPOSED LEAD WORKERS

ALA-U ( $\delta$ -aminolevulinic acid in urine) is generally accepted as a good biologic biomarker for health surveillance programs of exposed lead workers. The necessity of 24 hours urine samples to measure this metabolite has, in the meantime, suggested some discussion.

A study on 45 individuals (28 of them occupationally exposed to lead) has been conducted with measurement of ALA in 24 hours urine samples and in urine of one single sample.

A good correlation between ALA-U and blood lead was confirmed, as well as the fact that the method of collecting urine has not significant influence on this association. Nevertheless, the observed inter-individual differences advise the option for the 24 hours samples measurement.