

OLOVO U KRVI I ERITROCITNI PROTOPORFIRIN U STAKLARSKIH RADNIKA IZLOŽENIH OLOVU

TIHOMIR RATKAJEC

*Dispanzer za medicino dela,
prometa in športa, Rogaška
Slatina, Slovenija*

Primljeno 28. ožujka 1997.

U dvadeset pet radnika izloženih olovnom oksidu u razdoblju od 1988. do 1994. godine istražena je povezanost pokazatelja izloženosti olovu (olovo u krvi – PbK, dehidrataza delta-aminolevulinske kiseline – DDALK, eritrocitni protoporfirin – EP) s danima izloženosti, potrošnjom alkohola ocijenjenom u "jedinicama alkohola" i vrijednostima gama-glutamilttransferaze (GGT) te s navikom pušenja. PbK je analiziran metodom ET-ASS, DDALK standardiziranom europskom metodom, a EP spektrofotometrijskom metodom. Podaci o uživanju alkohola, pušenju i trajanju izloženosti dobiveni su iz upitnika. U statističkoj obradi upotrijebljene su metoda korelacije po Spearmanu i metoda centralne vrijednosti.

Rezultati su pokazali statistički značajnu povezanost između EP i broja dana izloženosti olovnoj prašini u posljednja tri mjeseca ($r=+0,42$; $t=2,2$; $p<0,05$). Radnici koji piju prosječno više od 50 g alkohola na dan imali su višu centralnu vrijednost PbK (2,4 $\mu\text{mol/L}$) od radnika koji piju količine alkohola manje od te (1,9 $\mu\text{mol/L}$). Nađena je razlika centralne vrijednosti PbK kod radnika s GGT iznad odnosno ispod normalne vrijednost 0,66 $\mu\text{kat/L}$ (2,4 $\mu\text{mol/L}$ u odnosu na 2,05 $\mu\text{mol/L}$). DDALK je bila niža kod podskupine radnika s višom GGT od 0,66 $\mu\text{kat/L}$. Pušači su imali više vrijednosti PbK od nepušača. Duljina izloženosti olovnoj prašini utjecala je na vrijednost EP. Kod biološkog monitoringa na vrijednosti PbK utječu pijenje alkohola i pušenje, a na vrijednost EP trajanje izloženosti olovnoj prašini.

Ključne riječi:
biološki monitoring, eritrocitni protoporfirin, olovo u krvi,
pijenje alkohola, staklarski radnici

Kod prekomjerne izloženosti radnika olovu, na rezultate biološkoga monitoringa utječe prije svega razina olova kojoj su radnici izloženi. Međutim ne smiju se zanemariti ni popratni faktori, kao što su pijenje alkohola, higijenske navike kod obavljanja

posla, uvođenje suvremenije opreme i tehnologije, sanacija propusnih mjesta, pa čak i obrazovanje radnika.

Olovo u krvi (PbK) najjednostavniji je test koji odražava recentnu izloženost olovo iz okoline, a eritrocitni protopofirin (EP) pokazatelj je dugotrajnije izloženosti, koji pokazuje njegov efekt na hematopoetski sustav. EP je vjerojatno pokazatelj izloženosti u prethodna 3–4 mjeseca (1). Našli su statistički značajne korelacije između PbK i alkohola u popodnevnom urinu te između cink protoporfirina i alkohola u jutarnjem urinu u radnika na proizvodnji akumulatora (2). Dehidrataza delta-aminolevulinske kiseline (DDALK) enzim je koji sadržava cink. Poznata je njezina osjetljivost na djelovanje olova. Olovo se u kompeticiji s cinkom veže na SH-skupinu enzima (3). Studija provedena na stanovništvu Londona pokazala je pozitivnu korelaciju između vrijednosti gama-glutamyl-transpeptidaze (GGT) i vrijednosti PbK u oba spola (4). Iz eksperimenta na štakorima, kojima su davali olovo i alkohol, autori su zaključili da dugotrajni i teški alkoholizam povećava retenciju olova u krvi i time njegovu toksičnost (5). Rezultati sličnog eksperimenta na štakorima upozorili su na postojanje vjerojatnog sinergizma između pijenja alkohola i olova (6). Pušenje i navika pijenja bili su u svezi s povećanjem vrijednosti olova u krvi u muškaraca, koji žive u industrijskom okolišu španjolske pokrajine Taragone (7).

Svrha je rada bila ispitati povezanost PbK i EP s trajanjem izloženosti olovo, tj. brojem dana izloženosti u prethodnom mjesecu, odnosno u tri prethodna mjeseca prije uzorkovanja, istražiti utjecaj alkohola, pušenja te trajanja izloženosti na PbK i EP.

ISPITANICI I METODE

Na radnim mjestima u mješaonici smjese za staklo, koja sadržava olovni oksid zaposleno je između 25 i 26 radnika. Prosječna je dob radnika 1994. godine bila 36 godina (raspon 27–53), a prosječna izloženost smjesi 9 godina (raspon 2–19). Broj uzoraka po radniku različit je od godine do godine, jer ispitanici, iako upoznati s ciljem analiziranja krvi, ne pristupe svake godine analizi. Svi radnici žive u okolici tvornice do 5 km udaljenosti i sličnih su prehrambenih i higijenskih navika. Radnici obavljaju različite zadatke u pripremi smjese za staklo. Štetna prašina nastaje najčešće na kritičnim radnim mjestima, kao što su miješanje smjese u miješalici, ručno punjenje u otvore sustava za prijenos smjese, čišćenje tla i odvoz razbijenog stakla. Sadržaj prašine iz radnog okoliša analiziran je na polarizacijskom mikroskopu s transparentnom svjetlošću i faznim kontrastom 1987. godine (Inštitut za varstvo pri delu Maribor). Izmjerena je koncentracija olova i olovnog oksida na uzetim uzorcima filtera 1988. i 1993. godine (Kemijски inštitut Ljubljana). Također je izmjerena koncentracija ukupne i respirabilne prašine 1988, 1991. i 1993. godine. Uzorci prašine su skupljani aparaturom Gravicon VC 25 s brzinom usisa 22,5 m³/s.

PbK je analiziran metodom ET-ASS provjerenom od British-CEC i UNEP/WHO quality control programme (8), DDALK standardiziranom europskom metodom (9) i EP spektrofotometrijskom metodom verificiranom od CDC Erythrocyte Protoporphyrin Proficiency Testing Programme (10). Analize je izvršio Institut za medicinska

istraživanja i medicinu rada Zagreb. Ukupno je bilo učinjeno 119 analiza vrijednosti, PbK, DDALK i EP u razdoblju od 1988. do 1994. godine.

Ocjenu ekspozicije 25 radnika olovnoj prašini učinili smo na osnovi upitnika. Tehnolog je točno vodio evidenciju o prisutnosti pojedinog radnika na poslu na kritičnim radnim mjestima. Za statističku obradu korelacije PbK i ekspozicije uzeti su dani prisutnosti mjesec dana prije uzorkovanja, a za korelaciju EP i ekspozicije dani prisutnosti 3 mjeseca prije uzorkovanja. Budući da je svaki radnik imao više ponovljenih mjerenja PbK, EP, DDALK (od 2 do 7) u razdoblju od 1988. do 1994. godine, pošlo se od pretpostavke da najduža izloženost (izražena u danima) daje najvišu vrijednost PbK i EP. Takva najviša vrijednost reprezentirala je ispitanika, te je kao takva promatrana s obzirom na pijenje alkohola, pušenje i radnu izloženost.

Ocjena količine popijenoga alkohola dobivena je upitnikom kojim se koristio specijalist medicine rada kod periodičkih pregleda od 1988. do 1994. godine, istovremeno s analizom GGT u krvnom serumu. Pretrage GGT bile su indicirane na temelju kliničkoga pregleda te nisu učinjene kod svakog pregleda. Pretpostavka je bila da povećan GGT pokazuje štetnu naviku pijenja alkohola.

Jedna jedinica alkohola definirana je kao količina od 1 dl vina (s 11 volumnih postotaka alkohola) ili pola litre piva ili 0,3 dl žestokoga pića. Najviše vrijednosti PbK i EP radnika koji piju više od 5 jedinica alkohola na dan (50 g) uspoređivane su s najvišim vrijednostima PbK i EP radnika, koji piju na dan manje količine od te. Također su uspoređivane najviše vrijednosti PbK i EP radnika koji su imali GGT viši od 0,66 μ kat/L s onima s nižom vrijednošću GGT. Referentna vrijednost GGT za muškarce je 0,66 μ kat/L (11). Uspoređivane su i vrijednosti PbK kod nepušača i pušača. Pušači su pušili 5-30 cigareta na dan. Podaci o navici pušenja dobiveni su istovremeno kada i podaci o navici pijenja.

Uspoređene su vrijednosti PbK i EP s obzirom na trajanje izloženosti olovnoj prašini na kritičnim radnim mjestima.

Za povezanost vrijednosti PbK, EP i dana izloženosti upotrijebljena je metoda korelacije po Spearmanu, na razini 5% vjerojatnosti. Za testiranje razlika između podskupina radnika glede prosječne dnevne konzumacije alkohola, pušenja, vrijednosti GGT i radne izloženosti upotrijebljena je metoda centralne vrijednosti (medijan).

REZULTATI

(I uzorcima prašine u zraku kojoj su radnici izloženi utvrđen je ovaj sastav: 60-75% kalcita, 10-35% natrijeva, kalijeva karbonata, 1% olovnoga oksida, 1-2% metalnih djelića, 4-12% nedefiniranih djelića i suhog silicijeva pijeska.

Izmjerena je ukupna zaprašenost 2,6 mg/m³, 4,87 mg/m³ i 4,32 mg/m³ (dopustiva je do 15 mg/m³). Respirabilna prašina bila je 0,15 mg/m³ (dopustiva je do 5 mg/m³). Koncentracija olova u prašini skupljenoj na filtru bila je 0,13 i 0,06 mg/m³ (dopustiva je do 0,15 mg/m³), a olovnog oksida 0,007 mg/m³. Najviše vrijednosti PbK i EP raspodijeljene su (distribuirane) asimetrično, što prikazuje slika 1.

PbK $\mu\text{mol/L}$

1	0235778888
2	0111233334678
3	5
4	2

EP $\mu\text{mol/LE}$

1	112348899
2	124447
3	245589
4	39
5	5
6	
7	5

Slika 1 Raspodjela najvećih vrijednosti PbK ($\mu\text{mol/L}$) i EP ($\mu\text{mol/LE}$) u 25 radnika
 Figure 1 The distribution of the highest PbB ($\mu\text{mol/L}$) and EP ($\mu\text{mol/LE}$) values in 25 workers

Srednja je vrijednost PbK bila 2,1 $\mu\text{mol/L}$ (interkvartilne vrijednosti 1,8–2,3), EP 2,4 $\mu\text{mol/LE}$ (interkvartilne vrijednosti 1,8–3,5). Najviše vrijednosti PbK ne pokazuju korelaciju s danima izloženosti, dok je korelacija između najviših vrijednosti EP s danima izloženosti statistički značajna ($r=+0,42$; $t=2,2$; $p<0,05$). 11 ispitanika koji su pili alkohol u količini većoj od 50 g na dan i bili izloženi prašini 9 godina, imalo je srednju vrijednost PbK 2,4 $\mu\text{mol/L}$ (EP 2,4 $\mu\text{mol/LE}$), dok su oni (14 ispitanika) koji su pili manje od 50 g na dan imali PbK 1,9 $\mu\text{mol/L}$, odnosno EP 2,8 $\mu\text{mol/LE}$ i bili izloženi prašini 6 godina. Osam radnika koji su imali GGT viši od 0,66 $\mu\text{kat/L}$ (raspon 0,73–2,44) imalo je srednju vrijednost PbK 2,4 $\mu\text{mol/L}$, a 11 radnika s nižom vrijednošću GGT od 0,66 $\mu\text{kat/L}$ (raspon 0,16–0,65), 2,05 $\mu\text{mol/L}$. Srednja vrijednost EP za navedenu prvu podskupinu bila je 2,4 $\mu\text{mol/LE}$, a za drugu 3,5 $\mu\text{mol/LE}$. Prva podskupina bila je izložena prašini 8,5 godina, a druga 7 godina.

Obje analize sugeriraju zaključak da pijenje alkohola ne utječe na vrijednost EP u krvi. Radnici s višom vrijednosti GGT od 0,66 $\mu\text{kat/L}$ imali su nižu srednju vrijednost DDALK (15,2 EU) od radnika s nižom vrijednosti GGT (17,9 EU). 11 radnika pušača imalo je višu srednju vrijednost PbK (2,3 $\mu\text{mol/L}$) u usporedbi sa srednjom vrijednošću 14 radnika nepušača (1,9 $\mu\text{mol/L}$). Radnici koji su bili izloženi duže od 8 godina (što predstavlja medijanu vrijednost) imali su srednju vrijednost PbK 2,1 $\mu\text{mol/L}$ (EP 2,7 $\mu\text{mol/LE}$), a oni izloženi kraće PbK 2,2 $\mu\text{mol/L}$ (EP 2,4 $\mu\text{mol/LE}$). PbK s DDALK pokazalo je statistički značajnu negativnu korelaciju ($r=-0,53$; $t=2,9$; $p<0,05$).

RASPRAVA

S obzirom na to da se u ovom radu nije radilo o uravnoteženom broju uzoraka (broj mjerenja nije bio jednak za svakoga ispitanika), distribucija mjerenja bila je nepravilna, a uzorak malen, u obradi podataka odlučili smo se za metodu centralne vrijednosti – medijan. Od svih skupljenih podataka u razdoblju 1988.–1994. držeći se najdulje ekspozicije izabrana je pripadna vrijednost PbK, EP te je tako nastala distribucija *steam leaf*.

Provedeno je ispitivanje pokazalo ono što je već bilo uočeno u nekim istraživanjima, da je EP pokazatelj prosječne ekspozicije u prethodna 3–4 mjeseca (1). Analiza je pokazala čak i više od toga, da je EP viši ako je izloženost duža, dok vrijednosti PbK ne ovise o dužoj izloženosti.

Ispitivanje koncentracije olova u krvi u općoj populaciji španjolske pokrajine Taragone pokazalo je utjecaj dobi, pušenja i pijenja alkohola na dobivene vrijednosti (7). Engleska studija u civilnog stanovništva Londona upozorila je na nisku korelaciju između vrijednosti cink-protoporfirina i alkohola u urinu u osoba izloženih malim količinama olova, ali je zato pokazala pozitivnu korelaciju između vrijednosti PbK i GGT u oba spola. Teški alkoholičari imali su oko 40% više vrijednosti olova u krvi u usporedbi s prosječno izmjerenim vrijednostima (4). Kao što je prikazano u rezultatima naše studije, uočena je povezanost koncentracija olova u krvi i pijenja alkohola te koncentracije GGT.

Srednje vrijednosti olova u krvi bile su više za 10–20% kod radnika koji piju alkohol više od 50 g na dan. Radnici koji su grupirani u podskupinu ljudi s većom navikom pijenja bili su izloženi duže vrijeme olovnoj prašini, ali ta izloženost nije utjecala na srednje vrijednosti PbK, no utjecala je na vrijednost EP. Budući da su pušači imali više vrijednosti PbK od nepušača, možemo zaključiti o određenom utjecaju pušenja na taj pokazatelj.

Radnici koji piju veće količine alkohola od 50 g na dan imaju i niže vrijednosti DDALK. Isto tako su vrijednosti DDALK negativno korelirale s vrijednostima PbK. *Rempel* opisuje široku individualnu osjetljivost prema intoksikaciji olovom, što se vidi u pojavi simptoma trovanja kod nekih pojedinaca već kod vrijednosti PbK 1,95 $\mu\text{mol/L}$, a kod drugih tek nad 3,40 $\mu\text{mol/L}$ (1). Naši rezultati analize aktivnosti enzima DDALK kod istih radnika tijekom sedmogodišnjeg razdoblja pokazali su kod jednog radnika uvijek nisku vrijednost (1,4–5,8 EU), čak kada su se PbK i EP približili normalnim vrijednostima. Takav rezultat sukladan je s mišljenjem o postojanju dvaju izoenzima DDALK, gdje izoenzim 1–1 ili 1–2 lakše veže olovo, te su osobe s tim alelom osjetljivije na djelovanje olova (12). Tireozinemija, alkoholizam, šećerna bolest, pušenje, jetrena i bubrežna insuficijencija mogu također uzrokovati nisku vrijednost DDALK (13), što pokazuje njegovu nespecifičnost kao pokazatelja izloženosti olovu. U ovom radu jedan je ispitanik, kronični ovisnik o alkoholu, imao vrlo niske vrijednosti DDALK u razdobljima pretjeranog pijenja (1,6–3,1 EU) i koje su se u razdoblju apstinencije poboljšale (20,9 EU). Zahvaljujući stalnom biološkom monitoringu i nastojanju za poboljšanjem radnih uvjeta, u poduzeću je došlo do tehnoloških promjena: godine 1988. izvršena je ugradnja naprave za usisavanje prašine kod punjenja sustava, godine 1990. uveden je pneumatski transport smjese i promijenjen oblik granulata olovnog oksida, 1992. ugrađena je naprava za usisavanje prašine kod ručnog vaganja smjese,

od 1993. godine radnici moče razbijeno staklo prije odvoza, da se manje praši, od 1994. godine to se povremeno čisti specijalnim vakuumskim strojem. Također su preuređeni garderobni prostori, više puta je izvršeno poučavanje radnika o opasnosti od olova.

ZAKLJUČAK

EP je dobar pokazatelj izloženosti olovnoj prašini u 3 mjeseca prije uzorkovanja krvi za analizu. Pijenje alkohola u količini većoj od 50 g na dan, povećava vrijednost olova u krvi i snižuje vrijednost dehidrataze delta-aminolevulinske kiseline, dok na vrijednost EP ta štetna navika ne utječe. Na vrijednost EP ima veći utjecaj dužina izloženosti olovnoj prašini. Dobiveni rezultati imaju praktičko značenje kod interpretacije rezultata rutinskoga biološkog monitoringa.

LITERATURA

1. Rempel D. The Lead-Exposed Worker. *J Am Med Assoc* 1989;262:532-4.
2. Cezard C, Demarquilly C, Boniface M, Haguenoer JM. Influence of the degree of the exposure to lead on relations between alcohol consumption and the biological indices of lead exposure: epidemiological study in a lead acid battery factory. *Br J Ind Med* 1992;49:645-8.
3. Telišman S, Pizent A, Prpić-Majić D. Lead interference in zinc metabolism and the lead and zinc humans as a possible explanation of apparent individual susceptibility to lead. In: RJ Allan, JO Nriagu eds. *International Conference: Heavy Metal in the Environment*. Toronto, September 1993, vol 2:404-7.
4. Staessen J, Yeoman WB, Fletcher AE et al. Blood lead concentration, renal function and blood pressure in London civil servants. *Br J Ind Med* 1990;47:442-7.
5. Tandon SK, Flora SJ. Dose and time effects of combined exposure to lead and ethanol on lead body burden and some neuronal, hepatic and haematopoietic biochemical indices in the rat. *J Appl Toxicol* 1989;9:347.
6. Flora SJ, Kumar D, Sachan SR et al. Combined exposure to lead and ethanol on tissue concentration of essential metals and some biochemical indices in rat. *Biol Trace Elem Res* 1991;28:157-64.
7. Schuhmacher M, Domingo JL, Llobet JM et al. Lead concentration and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in the blood of the general population of Tarragona Province, Spain. *Sci Total Environ* 1992;116:253.
8. Stoeppler M, Brandt K, Rains TC. Contributions to automated trace analysis. Part II. Rapid method for the automated determination of lead in whole blood by electrothermal atomic-absorption spectrophotometry. *Analyst* 1978;103:714-22.
9. Berlin A, Schaller KH. European Standardized Method for the determination of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z Klin Chem Biochem* 1974;12:389-90.
10. Chisolm JJ, Brown DH. Microphotofluorometric determination of free erythrocyte protoporphyrin. *Clin Chem* 1975;21:1669-82.
11. Zorec-Karloušek M, Wraber-Herzog B. CDT, GGT in metanol v krvi; kazalci prekomernega uživanja alkohola. In: *Strokovni posvet o medicini prometa, Rogaška Slatina, april 1995*. SZD Sekcija za medicino dela, 1995:101-5.

12. Wetmur JG, Lehnert G, Desnick RJ. The delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism: higher blood lead levels in the lead workers and environmentally exposed children with the 1-2 and 2-2 isozymes. *Environ Res* 1991;56:109.

Summary

LEAD IN THE BLOOD AND ERYTHROCYTE PROTOPORPHYRIN IN GLASS WORKERS

This paper investigates how the indicators of lead exposure (blood lead - PbB, delta-aminolevulinic acid dehydratase - δ -ALAD, erythrocyte protoporphyrin - EP), relate to the exposure duration prior to the analyses, alcohol intake, gamma-glutamyltransferase (GGT), and smoking habits of 25 glass workers exposed to lead oxide over a period between 1988 and 1994.

The PbB was analyzed with the ET ASS method, (ALAD with Standardized European Method) while EP with the spectrofluorometric method. The alcohol intake assessment was based on answers to a medical questionnaire. The results are presented as median values and analyzed by the method of Spearman Correlation.

The findings show correlation between EP and the exposure duration to the lead dust over a period of three months prior to the analyses ($r=+0.42$; $t=2.2$; $p<0.05$). The median value of PbB was higher ($2.4 \mu\text{mol/L}$) in workers who consumed over 50 g of alcohol a day than in workers with lower alcohol consumption ($1.9 \mu\text{mol/L}$). The median value of PbB was higher in workers whose serum GGT surpassed the normal value of $0.66 \mu\text{kat/L}$ and was lower in workers with GGT lower than $0.66 \mu\text{kat/L}$, ($2.4 \mu\text{mol/L}$ and $2.05 \mu\text{mol/L}$, respectively). ALAD was lower in the subgroup of workers with GGT higher than $0.66 \mu\text{kat/L}$. The smokers manifested a higher median PbB value. The PbB values correlated with the alcohol intake and smoking habit, while the EP values correlated with the duration of exposure to lead dust.

Key words:

biological monitoring, erythrocyte protoporphyrin, glass workers, lead in blood

Requests for reprints:

Mr. Tihomir Ratkajec, dr. med.
Dispanzer za medicino dela, prometa in športa
Celjska 10
3250 Rogaška Slatina
Slovenija