

OPĆI ASPEKTI BIOLOŠKOG MONITORINGA I
RELATIVNA VRIJEDNOST BIOLOŠKIH INDIKATORA
ZA PROFESIONALNU I EKOLOŠKU EKSPOZICIJU
ANORGANSKOM OLOVU

SPOMENKA TELIŠMAN

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Prilježeno 5. II 1979)

Prikazani su osnovni činioci koji određuju međusobni odnos između vanjske ekspozicije, unutarnje ekspozicije i učinaka po zdravlje i istaknuta je odgovarajuća prednost biološkog monitoringa pred ambijentalnim monitoringom u svrhu prevencije i zaštite zdravlja. Uključivanjem faktora interindividualnih razlika i direktnim mjerenjem unutarnje ekspozicije kojoj su proporcionalni učinci po zdravlje, prednost biološkog monitoringa je u upozoravanju na segmente populacije povećanog rizika bilo zbog individualne preosjetljivosti uzrokovane endogenim ili egzogenim faktorima, bilo zbog povećane razine ekspozicije. Ekonomski je aspekt prednosti biološkog monitoringa pred ambijentalnim monitoringom u mnogo manjem potrošku financijskih sredstava, kadra i opreme pri čemu dobivene informacije egzaktnije određuju efektivnu ekspoziciju i opasnost po zdravlje. Prikazani su faktori koji određuju izbor najprikladnijih indikatora, bioloških uzoraka, frekvencije ispitivanja i vrstu populacije za primjenu biološkog monitoringa za profesionalnu, kao i za ekološku ekspoziciju toksičnim agensima. Naglašena je prednost bioloških dopuštenih granica pred ambijentalno dopuštenim granicama za prevenciju neželjenih učinaka kod profesionalne i kod ekološke ekspozicije.

Prikazane su osnovne karakteristike bioloških indikatora povećane apsorpcije anorganskog olova, njihova relativna vrijednost pri ocjeni svježc ili integralne ekspozicije i apsorpcije, te vrijednost u pretskazivanju i ocjeni učinaka po zdravlje. Za namjenu na razini probira (screening) populacije bez poznate povećane ekspozicije olovu, u svrhu isključivanja moguće štetne razine ekspozicije predloženo je određivanje aktivnosti D-DALK. Za prevenciju štetnih učinaka u populaciji za koju je poznato da povećana ekspozicija postoji predloženo je simultano određivanje

olova u krvi kao specifičnog indikatora doze, te D-DALK i EP/ZPP u krvi koji u kombinaciji predstavljaju specifični indikator učinka olova. Za ocjenu i dokumentaciju štetnosti po zdravlje uzrokovane pretjeranom ekspozicijom predložena je upotreba kompletnog seta bioloških indikatora: olovo, D-DALK i EP/ZPP u krvi, DALK i KP u urinu, uz određivanje Hb, Hct i po mogućnosti brzine provodljivosti perifernih živaca.

I. BIOLOŠKI MONITORING: PRIMJENA ZA PROFESIONALNU I EKOLOŠKU EKSPOZICIJU TOKSIČNIM AGENSIMA

Posljednih nekoliko godina došlo je do vrlo značajne promjene u osnovnom pristupu ocjeni i kontroli zdravstvene zaštite populacija izloženih štetnim tvarima, kako u radnoj tako i u općoj životnoj okolini. Tome su naročito pridonijela nova saznanja o učincima na organizam čovjeka uzrokovanim dugotrajnom ekspozicijom relativno niskim koncentracijama, za koje se donedavno smatralo da nisu štetne po ljudsko zdravlje, kao i opći trend pooštavanja kriterija uključivanjem različitih supkliničkih učinaka i potencijalnih kasnih učinaka u faktore rizika o kojima treba voditi računa pri donošenju zdravstvenih standarda. Razvoj osjetljivih kliničkih metoda i testova, kao što su npr. mjerenja brzine provodljivosti motornih živaca, te različiti testovi promjene ponašanja, uz nagli razvoj osjetljivih laboratorijskih metoda za određivanje niskih koncentracija štetne tvari, njenih metabolita, ili ranih specifičnih bioloških pokazatelja u tjelesnim tekućinama, omogućili su porast saznanja, u kvalitativnom i u kvantitativnom smislu, o međusobnom odnosu *vanjske ekspozicije* (npr. koncentracija štetne tvari u zraku radne okoline), *unutarnje ekspozicije* (npr. koncentracija štetne tvari u krvi radnika) i *učinka na zdravlje* proporcionalnog odgovarajućoj razini ekspozicije. Da ovaj odnos ni u kojem slučaju nije jednostavan, a još manje poznat za veliku većinu štetnih tvari kojima je okružen čovjek moguće je objasniti navođenjem samo nekoliko najznačajnijih od mnogobrojnih faktora koji ga definiraju (1,2).

Vanjska ekspozicija, u općenitom smislu, određena je poznavanjem koncentracije agensa u svemu što je u direktnom kontaktu s čovjekom, kao i poznavanjem trajanja svake pojedine vrste ekspozicije. Čovjek može biti izložen određenom štetnom agensu preko kontaminiranog zraka, hrane, vode, alkoholnih pića, kozmetičkih proizvoda, dima duhana, istovremeno ili postepeno, i to preko različitih putova (respiratorni trakt, gastrointestinalni trakt, koža) s različitim promjenama intenziteta, trajanja i frekvencije. Krajnje je teško, često čak i nemoguće kvantitativno izmjeriti *ukupnu vanjsku ekspoziciju* na direktan način. Kada bi to i bilo moguće, još uvijek ne bi bilo dovoljno za ocjenu efektivne doze primljene u organizmu, tzv. *efektivnog vanjskog tereta*, koji po definiciji podrazumijeva »raspoloživu količinu primljenu u organizam

po jedinici vremena u određenom vremenskom periodu». U slučaju ekspozicije inhalacijom količina *efektivnog vanjskog tereta* ovisna je o sastavu kontaminiranog zraka u odnosu na veličinu čestica i o intenzitetu fizičke aktivnosti eksponirane osobe, a određena je koncentracijom u udahnutom zraku, koncentracijom u izdahnutom zraku, minutnim respiratornim volumenom, količinom uslijed sekundarne ingestije, postotkom apsorpcije i duljinom ekspozicije.

Ulaskom *efektivnog vanjskog tereta* različitim putovima u organizam čovjeka dolazi do apsorpcije agensa, zatim distribucije, metabolizma i ekskrecije. Na taj način stvara se tzv. opterećenje tijela štetnim agensom, u kojem različiti izvori vanjske ekspozicije, kao i različiti putevi ulaska u organizam gube relativno značenje jer organizam integrira *vanjsku ekspoziciju* u jedinstveni *ukupni unutarjni teret* koji odgovara *unutarnjoj ekspoziciji*. Navedeni biološki mehanizmi koji definiraju odnos *vanjske ekspozicije* i *unutarnje ekspozicije* štetnom agensu većim su dijelom određeni individualnim karakteristikama u antropometriji (visina, tjelesna težina) i farmakokinetici (dob, tip respiracije, urođena pogreška metabolizma, genetički ili stečeni kapacitet redukcije enzima i sl.) uz ranije spomenuti faktor intenziteta fizičkog napora. Pored toga, *unutarnja ekspozicija* ovisna je i o prepatologiji, odnosno o bazičnim vrijednostima opterećenja tijela štetnom tvari prije početka nove ekspozicije, kao i o mogućoj interakciji s ostalim konstituentima miješane ekspozicije, faktorima prehrane i sl. *Ukupni unutarjni teret* obično je raspoređen u različitim »odjeljcima« tijela, najčešće su to: krv, meka tkiva (organi), mišići, koža+kosa, kosti, a ovisno o agensu, ili čak njegovu kemijskom obliku, biološki poluživoti* u svakom od ovih »odjeljaka« mogu se značajno razlikovati. To praktično znači da, usprkos velikom ukupnom opterećenju tijela štetnim agensom, odnosno velikom *ukupnom unutarnjem teretu*, *unutarnji teret na mjestu učinka* štetne tvari, a time i odgovarajući učinak na zdravlje čovjeka, može biti relativno malen. Karakterističan primjer za to je anorgansko olovo, koje se relativno čvrsto veže i deponira u kostima, pa iako olovo u kostima najviše doprinosi ukupnom opterećenju organizma olovom ili *ukupnom unutarnjem teretu*, ono nema učinka na samu kost, a time gotovo nikakvog značenja po zdravlje čovjeka. U slučaju anorganskog olova mnogo je značajnija količina olova u koštanoj srži, mozgu, bubregu, tj. *unutarnji teret na mjestu učinka*, jer je stvarna *doza* olova u tim organima, u kombinaciji s trajanjem ekspozicije, odgovorna za odgovarajući učinak na zdravlje čovjeka.

Međusobni odnos između *unutarnje ekspozicije* i *učinka na zdravlje* definiran je nizom dodatnih karakterističnih veličina. To su: *kritična koncentracija* (određena koncentracija štetnog agensa u stanici koja uzrokuje neželjene funkcionalne promjene); *kritična koncentracija za*

* biološki poluživot = vrijeme potrebno da se koncentracija određene tvari u određenom biološkom mediju smanji na polovicu.

organ (srednja koncentracija štetne tvari u organu u vrijeme kada bilo koja od njegovih stanica dosegne kritičnu koncentraciju); *kritični organ* (određeni organ koji prvi postigne svoju kritičnu koncentraciju — kritični organ ne mora nužno biti i organ s najvišom srednjom koncentracijom štetnog agensa); *doza* (količina agensa primljena u tijelu po jedinici vremena u određenom vremenskom periodu); *učinak*, općenito (biološka promjena uzrokovana ekspozicijom, odnosno dozom): *kritični učinak* (biološka promjena u kritičnom organu — kritični učinak ne mora nužno biti i najznačajniji učinak na organizam kao cjelinu); *supkritični učinak i odgovarajuća supkritična koncentracija* (promjene registrirane biokemijskim ili drugim testovima izazvane ekspozicijom nižom od one koja izaziva kritičnu koncentraciju u kritičnom organu, a učinci izazvani tim koncentracijama ne znače smanjenje stanične funkcije); *odnos doza — učinak* (međusobni odnos doze ili procjene doze i gradacije specifičnog pokazatelja učinka, u pojedincu ili u populaciji); *odnos doza — odziv* (međusobni odnos doze ili procjene doze i relativnog broja izraženog najčešće u obliku postotka, osoba sa specifičnim intenzitetom ili količinom specifičiranog pokazatelja učinka, u populaciji). Taj način terminologije, kao i detaljne definicije pojedinih pojmova (3) prihvaćeni su na osnovi prijedloga Potkomiteta za toksikologiju metala Permantentne komisije i Međunarodnog udruženja medicine rada, kako bi se izbjegla zbrka u literaturi nastala upotrebom istih termina za različite pojmove i obrnuto.

Očito je da međusobni odnos između ekspozicije štetnom agensu, količine štetnog agensa u organizmu i odgovarajućih štetnih učinaka po zdravlje čovjeka ovisi o nizu individualnih činilaca, od kojih su najznačajnije razlike u farmakokinetici (kod iste razine vanjske ekspozicije unutarnja ekspozicija toksičnom agensu može biti različita zbog povećane respiracije, npr. trudnice, ili povećane apsorpcije, npr. mala djeca) i o farmakodinamici (kod iste razine unutarnje ekspozicije učinak toksičnog agensa na organizam može biti različit zbog povećane osjetljivosti uslijed endogenih faktora, npr. urođena pogreška metabolizma, ili egzogenih faktora, npr. sinergističko djelovanje faktora miješane ekspozicije). Čitav ovaj vrlo složen odnos za *pojedince* je praktično definiran poznavanjem odnosa *doza — učinak*, a budući da se u pojedinih osoba odnosi doza — učinak međusobno razlikuju i u nagibu, tj. relativnom porastu intenziteta učinka na jedinicu doze, i u vrijednosti doze kod koje još nema mjerljiva učinka, ove interindividualne razlike obuhvaćene su i izražene odnosom *doza — odziv* koji jednoznačno definira određenu *populaciju*.* To praktično znači da je poznavanje

* Bitna razlika sastoji se u tome da *odziv* označava broj »reaktora« ili »nereaktora« u jednoj populaciji, koji su svi primili istu dozu i pokazuju isti stupanj specifičnog biološkog učinka, dok *učinak* označava definiranu biološku reakciju koja u nekim slučajevima može biti mjerljiva na kontinuiranoj skali (3).

njem ovih odnosa moguće predvidjeti odgovarajuće učinke po zdravlje za svaku očekivanu razinu ekspozicije, odnosno kreirati zdravstvene standarde na temelju egzaktnih zdravstvenih pokazatelja. Iako u klasičnom smislu doza označava količinu agensa danu npr. eksperimentalnoj životinji, a u kontekstu primijenjene fiziologije može biti definirana kao količina ili koncentracija određenog agensa na mjestu učinka, logično je da u medicini rada, isto kao i u ekološkoj medicini, raspoložemo samo procjenom doze (osim u ispitivanjima na autopsijskim slučajevima). Pritom procjena doze može biti izvedena na dva osnovna načina: mjerenjem *vanjske ekspozicije* tzv. *ambijentalnim monitoringom* i mjerenjem *unutarnje ekspozicije* tzv. *biološkim monitoringom*. Za razliku od *ambijentalnog monitoringa*, koji podrazumijeva »sistematsko sakupljanje ambijentalnih uzoraka, kao što su: zrak, hrana, voda za analizu koncentracije štetne tvari«, i direktno mjeri *vanjsku ekspoziciju*, odnosno poznavanjem koncentracija, količine, frekvencije i duljine ekspozicije indirektno daje procjenu *unutarnje ekspozicije*, *biološki monitoring* po definiciji podrazumijeva »sistematsko sakupljanje bioloških uzoraka za koje analiza štetne tvari ima neposrednu primjenu« i direktno mjeri *unutarnju ekspoziciju* pomoću analize bioloških uzoraka (4).

Prednosti biološkog monitoringa pred ambijentalnim monitoringom u načelu su velike kako u teorijskom tako i u posve praktičnom smislu (1,2). Osnovna karakteristika i prednost je u medicinsko-biološkom pristupu, koji osigurava mnogo veću mogućnost zdravstvene zaštite. Direktnim mjerenjem unutarnje ekspozicije biološki monitoring uzima u obzir i individualne karakteristike u apsorpciji, distribuciji i retenciji štetne tvari u organizmu, individualni faktor težine fizičkog napora i respiratorni minutni volumen, kao i individualnu prepatologiju. Pored toga, sa stanovišta zaštite zdravlja primarnu vrijednost imaju podaci o količini štetne tvari u organizmu kojoj su proporcionalni učinci po zdravlje, dok je poznavanje same vanjske ekspozicije od manjeg značenja. Prednost biološkog monitoringa pred ambijentalnim monitoringom je i u mnogo manjoj varijabilnosti bioloških pokazatelja u odnosu na varijabilnost koncentracije štetnog agensa u, npr. zraku i hrani, što podrazumijeva mnogo bolju reprezentativnost jednokratnog uzorka u odnosu na trenutačno opće stanje, a pravilnim izborom bioloških pokazatelja moguće je dobiti egzaktne podatke bilo o svježoj, aktualnoj, bilo o integralnoj ekspoziciji, odnosno apsorpciji tijekom duljeg razdoblja. Konačno, nimalo manje važna prednost biološkog monitoringa je i u činjenici da mnogo manjim utroškom materijala, opreme, stručnog osoblja i financijskih sredstava osigurava točniju ocjenu ekspozicije, rizik po zdravlje, a time i zaštitu zdravlja ispitivane populacije (1,2).

Biološki monitoring pokriva vrlo široko područje primjene, a u osnovi se može podijeliti na dva područja: u okviru medicine rada, i u okviru ekološke medicine, odnosno medicine narodnog zdravlja. U oba slu-

čaja biološki monitoring ima prednost pred ambijentalnim monitoringom naročito u slučaju populacija povećanog rizika, jer uzimajući u obzir interindividualnu varijabilnost izravno upozorava na segmente ispitivane populacije kojima je potrebno posvetiti posebne zaštitne i zdravstvene mjere, neovisno o općim mjerama poduzetim za većinu populacije. Potrebno je naglasiti bitnu razliku između biološkog monitoringa i klasične zdravstvene studije, iako u praksi biološki monitoring često paralelno prate elementi zdravstvene studije, naročito kod populacija povećanog rizika zbog individualne preosjetljivosti ili zbog poznate povećane razine ekspozicije. Biološki monitoring primarno određuje količinu *štetne tvari* ili njenog *metabolita* u biološkom uzorku, a vrlo iznimno se služi određivanjem biokemijskog *učinka*, i to samo u onim slučajevima kada je taj učinak u razumnoj mjeri specifičan i vrlo visoko korelira s apsorbiranom količinom štetne tvari. Mnogi zdravstveni učinci nisu specifični za agense koji su ih uzrokovali, i kao takvi ne mogu poslužiti u svrhu biološkog monitoringa — za razliku od zdravstvene studije koja zdravstveni status evaluira utvrđivanjem poremećaja ili izraženih učinaka po zdravlje neovisno o činiocima koji su ih uzrokovali.

Svoj nagli uspon na području medicine rada kao i na području medicine okoliša biološki monitoring zahvaljuje nekolicini osnovnih uzroka, u prvom redu: a) porastu razumijevanja farmakokinetike, b) brzom unapređenju analitičkih tehnika, i c) uviđanju da biološki monitoring po svemu sudeći ima velike prednosti pred ambijentalnim monitoringom. Razumije se, i biološki monitoring ima još uvijek svojih slabosti: kočnica još bržem usponu i primjeni biološkog monitoringa na oba ova područja je nedovoljno poznavanje adekvatnih bioloških pokazatelja za veliku većinu štetnih tvari kojima je izložen čovjek, kao i često vrlo složeni analitički zahtjevi, visokostručan kadar i skupa oprema. Ovi posljednji razlozi nikako ne bi smjeli biti prepreka društvu da zaštiti zdravlje radnika i stanovništva adekvatnom primjenom svih raspoloživih mjera i saznanja suvremene medicine, to više što su konkretna iskustva na primjeru olova (5,6) pokazala da primjena biološkog monitoringa znači mnogo bolju zaštitu uz mnogo manje utrošenih sredstava ako je organizacijski dobro provedena, tj. ako je centralizirana u visoko specijaliziranoj zdravstvenoj instituciji s potrebnim iskustvom, kadrom i opremom.

Biološki monitoring se prvo razvio u medicini rada. Ekspozicijski testovi su dio aktivnosti medicine rada, pa većina iskustava potječe iz uobičajene primjene bioloških indikatora povećane apsorpcije štetne tvari za evaluaciju specifičnosti zdravstvenih učinaka. U rutinskoj primjeni biološkog monitoringa ključno je ispitati pravi pokazatelj u pravom biološkom uzorku u pravo vrijeme i u pravoj populaciji. Što je »pravo« određuje specifična svrha svakog programa, potrebe i praktične okolnosti (2).

Izbor »pravog pokazatelja« u »pravom biološkom uzorku« ovisi o specifičnosti zahtijeva. Pojedini biološki pokazatelji u određenom biološkom uzorku bolje odražavaju nedavnu ekspoziciju jer im je biološki poluživot u tom mediju relativno kratak (npr. koncentracija olova u krvi), dok u drugom biološkom uzorku istog organizma mogu bolje održavati integralnu ekspoziciju, a time i neke učinke koji su proporcionalni dugotrajnijem ili kumulativnom djelovanju otrova na organizam (npr. koncentracija olova u zubima ili kosi u odnosu na promjene ponašanja u djece). Općenito vrijedi pravilo da se varijabilnost ekspozicije manje odražava na pokazatelje u krvi nego u mokraći, pa se indikatori u krvi smatraju reprezentativnijim pokazateljima u odnosu na odgovarajuće učinke po zdravlje (2).

»Pravo vrijeme«, odnosno potrebna učestalost periodičkog biološkog monitoringa ne slijedi nikakvo opće pravilo, već ovisi o varijabilnosti i intenzitetu ekspozicije, o toksičnosti agensa i farmakokinetičkim svojstvima (kratko ili dugo vrijeme biološkog poluživota). Veća varijabilnost i intenzitet ekspozicije, veća toksičnost, kao i kraće vrijeme biološkog poluživota odabranog pokazatelja zahtijevaju veću frekvenciju biološkog monitoringa.

Izbor »prave populacije« također ovisi o namjeni ispitivanja, tj. je li posrijedi ispitivanje na razini probira (screening) populacije za koju nije poznato da je izložena povišenim koncentracijama štetne tvari, ili populacije za koju je postojanje takve ekspozicije poznato. Na području ekološke medicine, odnosno medicine narodnog zdravlja, to je izbor tipičnih predstavnika određene populacije u omjeru u kojem su zastupani u ukupnoj populaciji, da bi se utvrdio nivo ekspozicije štetnom agensu i potencijalni učinak za zdravlje ukupne populacije, te da bi se utvrdile skupine povećanog rizika unutar te populacije. Najčešće je to, međutim, namjerni izbor populacije povećanog rizika, bilo zbog povećane razine apsorpcije, bilo zbog povećane osjetljivosti. U skladu s tim, u medicini rada »screening« se provodi na svim radnicima koji bi teoretski, na bilo koji način, mogli biti eksponirani određenom štetnom agensu, dok se u pravilu obavezno primjenjuje na sve radnike s poznatom povećanom razinom ekspozicije.

Praktična svrha i potrebe programa biološkog monitoringa mogu se u načelu podijeliti na tri osnovne vrste od kojih svaka ima određene specifične zahtjeve (2), i to na: A) isključivanje štetne ekspozicije, B) određivanje razine ekspozicije u populaciji povećanog rizika, C) praćenje toka mogućih učinaka u individualnim slučajevima pretjerane ekspozicije.

A) Za isključivanje štetne ekspozicije dovoljna je upotreba jednog ili više bioloških indikatora, koji ne moraju biti u najstrožem smislu specifični, niti metode izuzetno točne. Adekvatnim određivanjem dopuštene razine vrijednosti bioloških indikatora, uzevši u obzir faktor moguće nespecifičnosti biološkog indikatora i manje točnosti upotrijeb-

ljene metode, možemo sa sigurnošću isključiti postojanje štetne ekspozicije i istovremeno upozoriti na segmente ispitivane populacije u kojoj je takva ekspozicija moguća.

B) Za određivanje razine ekspozicije u populaciji povećanog rizika potrebno je upotrijebiti kompleksniji set bioloških indikatora i uključiti indikatore učinka na zdravlje (npr. hemoglobin za olovo, proteine u urinu za kadmij, krvnu sliku za benzen, lipidogram i EKG za ugljik-monoksid, i sl.). U ovom slučaju biološki indikatori moraju biti maksimalno specifični, a metode točne. U okviru medicine rada potrebno je, naravno, da liječnik pregledom dobije makar osnovnu predodžbu o subjektivnom i objektivnom zdravstvenom stanju radnika.

C) Primjena biološkog monitoringa u svrhu ocjene pretjerane ekspozicije i praćenja toka učinaka štetnog agensa na ugroženu osobu (npr. prilikom oporavka od kliničkog otrovanja) u tom je slučaju dio općih kliničkih ispitivanja, koja uključuju širok spektar različitih testova.

Praktične okolnosti koje diktiraju način i opseg provedbe određenog programa biološkog monitoringa najčešće su ograničene iznosom raspoloživih financijskih sredstava, potrebnog kadra i opreme. Ako se ima na umu da biološki monitoring daje mnogo relevantnije podatke o potencijalnom učinku na zdravlje, da u određenim slučajevima može učiniti ambijentalni monitoring suvišnim (npr. ako se primjenom biološkog monitoringa u ekološkoj medicini utvrdi da razina ekspozicije nije štetna po zdravlje), te da u odnosu na provedbu ambijentalnog monitoringa znači uštedu vremena, kadra i budžeta, (1,2,5,6), pravilnom organizacijom i centralizacijom u odgovarajućim specijaliziranim ustanovama moguće je zadovoljiti i ove zahtjeve.

Budućnost biološkog monitoringa je u definiranju zdravstvenih standarda pomoću *bioloških dopuštenih granica* za profesionalnu i ekološku ekspoziciju štetnim agensima, dok će *ambijentalne dopuštene granice*, kao npr. maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) štetne tvari u zraku, vodi, hrani, služiti samo u svrhe tehničkih mjera kontrole (inžinjerina) i opće preventive.

Različiti aspekti teorijske i praktične naravi biološkog monitoringa bili su predmetom razmatranja nekoliko međunarodnih skupova, naročito u odnosu na olovo o kojem su već postojeća saznanja omogućila relativno najviše praktičnog iskustva i primjene u odnosu na ostale profesionalne i ekološke hazarde. Zdravstveni standardi izraženi u obliku *bioloških dopuštenih granica* za profesionalnu, a i za ekološku ekspoziciju olovu definirani su i uspješno se primjenjuju u više zemalja već nekoliko godina. Najnoviji projekt Svjetske zdravstvene organizacije pod naslovom »Program internacionalno preporučenih dopuštenih granica na zdravstvenoj osnovi za profesionalnu ekspoziciju kemijskim agensima« (WHO: Programme on Internationally Recommended

Health-Based Permissible Levels for Occupational Exposure to Chemical Agents) uključuje *biološke dopuštene granice*, a prva četiri kemijska agensa koji se razmatraju u okviru ovog programa su metali: olovo, kadmij, živa i mangan.

II. BIOLOŠKI MONITORING: RELATIVNA VRIJEDNOST BIOLOŠKIH INDIKATORA ZA PROFESIONALNU I EKOLOŠKU EKSPOZICIJU ANORGANSKOM OLOVU

Upotreba bioloških indikatora povećane apsorpcije olova svakodnevna je praksa u medicini rada, pa većina iskustava o njihovoj relativnoj vrijednosti u odnosu na odgovarajuće učinke po zdravlje (odnos doza — učinak/odziv) potječe upravo iz ispitivanja profesionalno izložene populacije. Naša iskustva (T. Beritić i sur., Odjel za profesionalne bolesti, IMI Zagreb) temelje se na 30-godišnjoj tradiciji istraživanja profesionalnog i alimentarnog otrovanja olovom, a nekoliko posljednjih godina i na istraživanjima ekološke ekspozicije olovu.

Biološki indikatori doze

U velikoj većini ispitivanja kao biološki indikator doze upotrebljava se koncentracija olova u krvi, rjeđe olovo u urinu, dok se koncentracija olova u urinu nakon EDTA-provokacijskog testa, olovo u kosi ili olovo u zubima ne upotrebljavaju rutinski u preventivne i dijagnostičke svrhe, već služe gotovo isključivo za istraživačke namjene.

Određivanje olova u krvi služi kao primarna specifična metoda za ocjenu apsorpcije olova (7), odnosno kao referentni pokazatelj s kojim trebaju biti uspoređivani svi ostali pokazatelji (8). Kod interpretacije pojedinačnog nalaza olova u krvi ne smije se zanemariti da je količina olova u krvi odraz dinamičke ravnoteže između ekspozicije, količine u tkivima i ekskrecije, te da reflektira samo jednu točku u vremenu i može odražavati dozu koja je stabilna, raste ili pada (3). Pored toga, analiza olova u krvi podložna je kontaminaciji i, u mnogo slučajeva, značajnim analitičkim varijacijama (9). Većina olova u krvi (oko 90% ili više) nalazi se u eritrocitima, pa homogenost analiziranog uzorka značajno utječe na rezultate. Zbog izuzetne osjetljivosti na metodološke pogreške izrazito kompleksnih analitičkih zahtjeva i vrlo skupe opreme, analizu olova u krvi treba isključivo obavljati u visokospecijaliziranim laboratorijima s velikim iskustvom na tom području, jer je vrlo dobro poznato da čak i u takvim laboratorijima točnost i preciznost nije uvijek dostatna (10–13). Takvi visokospecijalizirani laboratoriji trebaju pokrivati vrlo široko područje, često i čitavu državu, a kontrola kvali-

tete treba obavezno sadržavati stalnu upotrebu internacionalnih referentnih uzoraka krvi nepoznate koncentracije biološki vezanog olova. Točnost analize olova kontrolira se slanjem dobivenih rezultata u internacionalne centre koji šalju referentne uzorke, a na temelju obrade dobivenih rezultata usporedbom s točnim vrijednostima preporučuju se eventualne promjene u analitičkom postupku, stalno izmjenjuju iskustva i usavršava postupak.

Koncentracija olova u krvi se jednodušno smatra najpouzdanijim indikatorom doze, odnosno *efektivnog vanjskog tereta*, a u kojoj mjeri ona reflektira *ukupni i unutarnji teret i unutarnji teret na mjestu učinka*, tj. biološki aktivno olovo, nije još dovoljno poznato. Naša iskustva pokazuju da olovo u krvi, kao pojedinačan pokazatelj, u određenim slučajevima može dati potpuno krivu sliku intenziteta otrovanja olovom (14,15), te da znakovi i simptomi kliničkog otrovanja olovom mogu biti prisutni i kod koncentracija olova u krvi ($Pb \leq 60 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ krvi) koje se smatraju dopuštenim za profesionalnu ekspoziciju anorganskim olovom (8). Manja relativna vrijednost olova u krvi pri ocjeni učinka olova na organizam izražena je naročito u slučajevima varijabilne ekspozicije olovu, što je u praksi vrlo čest slučaj. Povišen nalaz olova u krvi dokaz je svježih, često momentalne ekspozicije, dok su učinci izazvani olovom posljedica integrirane prosječne apsorpcije u duljem vremenskom periodu. U prilog tome govore podaci odnosa doza-činak, izraženog kao međusobni odnos koncentracije olova u krvi i osjetljivih indikatora učinka olova na sintezu hema. Naša iskustva, stečena ispitivanjem populacije profesionalno i/ili ekološki eksponirane olovu (neobjavljeni rezultati), pokazuju različite odnose između olova u krvi i aktivnosti dehidrataze delta-aminolevulininske kiseline (D-DALK), odnosno olova u krvi i koncentracije protoporfirina u eritrocitima (EP) ovisno o razini integralne ekspozicije. Kod višeg nivoa ekspozicije simultani nalazi D-DALK i EP odgovarali su relativno višim vrijednostima olova u krvi od nađenih, što je upućivalo da viša razina ekspozicije u duljem vremenskom periodu proizvodi »dodatni učinak« koji je nemoguće predvidjeti iz nalaza olova u krvi. Slične razlike u odnosima olovo u krvi — D-DALK kod različitih nivoa ekspozicije moguće je uočiti i iz rezultata Sakuraija i sur. (16). Istovremeno, naši rezultati pokazuju značajnu korelaciju između EP ili D-DALK i koncentracije hemoglobina, dok u istih ispitanika korelacija između olova u krvi i koncentracije hemoglobina nije bila značajna. U prilog takvih opažanja govore i podaci drugih autora, koji su našli značajnu korelaciju karakterističnih znakova i simptoma učinka olova u odnosu na koncentraciju Zn-protoporfirina u eritrocitima (ZPP), dok istovremeno korelacija s olovom u krvi nije bila značajna (17,18) ili je bila manje značajna (19,20). Pomoću koncentracije ZPP bilo je moguće razlikovati trajanje i intenzitet ekspozicije u duljem vremenskom periodu, za razliku od simultanih nalaza olova u krvi koji su pretežno odražavali svježih, nedavnu ekspoziciju olovu (17).

Iz navedenih podataka očito je da olovo u krvi ne odražava u dovoljnoj mjeri biološki aktivno olovo, bilo da ne odražava integralnu apsorpciju kojoj su proporcionalni učinci, bilo da se zbog relativno kratkog biološkog poluživota u krvi normalizira brže od olovom izazvanih učinaka. Idealan odnos koncentracije olova u krvi, kao indikatora doze, i ostalih karakterističnih indikatora učinka olova moguć je isključivo u slučajevima dugotrajne stabilne ekspozicije olovu, kada je postignuto stanje ravnoteže pa je odnos doza — učinak valjan i pouzdan. Upravo zbog moguće varijabilnosti ekspozicije, odnosno nedostataka pouzdanih informacija o duljini ekspozicije i vremenu proteklom nakon prestanka ekspozicije, olovo u krvi nije pouzdan indikator integralne apsorpcije, a još manje toksičnog učinka na organizam čovjeka, naročito ako se ocjena donosi na temelju pojedinačnog, jednokratnog nalaza olova u krvi u određenog ispitanika.

Koncentracija olova u urinu također pretežno reflektira nedavnu ekspoziciju, ali značajno više varira od koncentracije olova u krvi. U usporedbi s olovom u krvi, pojedinačan nalaz olova u urinu je mnogo manje reprezentativan pokazatelj razine ekspozicije kao i intenziteta učinka olova.

Koncentracija olova u urinu nakon EDTA*-provokacijskog testa najbolje odražava mobilno olovo u tkivima. Pretpostavlja se da je »kclatabilno« olovo locirano pretežno u mekim tkivima i da najbolje reprezentira biološki aktivno olovo. Pomoću EDTA-provokacijskog testa utvrđeno je da mobilna frakcija ukupnog unutarnjeg tereta olova u organizmu raste eksponencijalno dok olovo u krvi raste linearno u rasponu 8—75 μg Pb/100 ml krvi (21). Standardizirani uvjeti u odnosu na dozu i brzinu aplikacije EDTA mogli bi služiti za točniju ocjenu intenziteta otrovanja olovom, naročito u spornim slučajevima.

Koncentracije olova u kosi i olova u zubima odražavaju pretežno integralnu apsorpciju i mogu reflektirati dugotrajnu ekspoziciju ili prošlu ekspoziciju u ranijem vremenskom periodu (zubi). Zbog problema vanjske kontaminacije (kosa) i metodoloških poteškoća (kosa i zubi) nisu pogodni indikatori ukupnog unutarnjeg tereta olova u organizmu (3), svakako ne za rutinsku primjenu u preventivne i dijagnostičke svrhe.

Biološki indikatori učinka

U odnosu na biološke indikatore doze, biološki indikatori učinka olova imaju zajedničku karakteristiku da nisu strogo specifični za ekspoziciju, odnosno apsorpciju olova. Djelovanje olova na organizam može se očitovati učincima na mnogobrojne organe i sisteme (22). Najznačajniji učinci olova posljedica su poremećaja hematološkog, neurološkog

* EDTA = etilen-diamin-tetraoctena kiselina

i renalnog sistema. Djelovanje rastućih koncentracija olova najranije se očituje poremećajem sinteze hema, pa se koštana srž smatra kritičnim organom. Moguće je da se u određenim okolnostima (fetus ili vrlo mala djeca) učinci prvobitno javljaju zbog poremećaja centralnog nervnog sistema, koji je u tom slučaju kritični organ. Poremećaji funkcije bubrega javljaju se najčešće kod znatno viših koncentracija olova (3).

Za prevenciju neželjenih učinaka olova najčešće nije dovoljno uzeti kliničke učinke kao kriterij za ocjenu da li je takva namjera postignuta. Mnogi klinički simptomi javljaju se određenom frekvencijom i u normalnoj populaciji. Lagani porast od takve normalne frekvencije vrlo je teško opaziti pomoću statističke epidemiološke analize. U pravilu, mnogo je prikladnije uzeti neki supkritični ili rani učinak kao kriterij da bi se izbjegli bilo kakvi učinci u populaciji (23). Budući da je koštana srž kritični organ za ekspoziciju čovjeka anorganskom olovu, a kritični učinak olova je poremećaj sinteze hema, u dijagnostičke i preventivne svrhe upotrebljavaju se gotovo isključivo biološki indikatori učinka olova na sintezu hema: aktivnost dehidrataze delta-aminolevulinske kiseline (D-DALK) i koncentracija protoporfirina (EP) ili Zn-protoporfirina (ZPP) u eritrocitima, te koncentracija delta-aminolevulinske kiseline (DALK) i koproporfirina (KP) u urinu. Različiti hematološki pokazatelji povećane apsorpcije olova, kao što su bazofilno punktirani eritrociti, retikulociti, sniženje koncentracije hemoglobina i sl., pored nedovoljne specifičnosti, već se dulje vrijeme smatraju nedostatno osjetljivim za prevenciju štetnih učinaka olova. Iako nepouzdan indikator učinka olova, bazofilno punktirani eritrociti ipak imaju neku vrijednost pri otkrivanju kliničkog otrovanja olovom, naročito kada se povišeni broj bazofilno punktiranih eritrocita nađe u rutinskom krvnom razmazu.

Kao odraz učinka olova na periferni centralni i nervni sistem, u novije je vrijeme naročita pažnja posvećena kliničkim testovima mjerenja brzine provodljivosti motornih živaca, kao i testovima promjene ponašanja. Ovi testovi iako osjetljivi na relativno niske koncentracije olova, još se rijetko upotrebljavaju rutinski u dijagnostičke i preventivne svrhe. Elektromiografski utvrđeno smanjenje brzine nervne provodljivosti smatra se kritičnim učinkom čak i u slučajevima kada je izostala pojava simptoma (8).

Sniženje aktivnosti D-DALK je najosjetljiviji biološki indikator ranog učinka olova. Prema raspoloživim saznanjima parcijalna inhibicija D-DALK, sama po sebi, nema posljedica po zdravlje čovjeka i općenito se smatra supkritičnim učinkom olova. Sniženje aktivnosti D-DALK u pojedinačnim slučajevima postaje mjerljivo već kod koncentracija olova u krvi $Pb < 20 \mu g/100 \text{ ml}$ (24—26), što je unutar granica olova u krvi za normalnu populaciju. Aktivnost D-DALK je gotovo potpuno inhibirana kod koncentracija $Pb > 70 \mu g/100 \text{ ml}$. Semilogaritamski odnos aktivnosti D-DALK i olova u krvi ($\log D-DALK/\text{lin Pb}$) pokazuje visokozna-

čajnu negativnu korelaciju, koja u pojedinim slučajevima, vjerojatno zbog vrlo stabilne ekspozicije olovu, može doseći vrijednost korelacijskog koeficijenta (r) i do $r > 0,8$ (29,30). Upravo zbog negativnog semi-logaritamskog odnosa između D-DALK i olova u krvi, aktivnost D-DALK je najosjetljiviji pokazatelj u području niskih koncentracija olova, kada pokazuje nagli pad aktivnosti proporcionalno porastu olova u krvi. Iako do sniženja aktivnosti D-DALK dolazi istovremeno s početkom ekspozicije, odnosno apsorpcije olova, regeneracija aktivnosti D-DALK ne prati sniženje koncentracije olova u krvi nakon prestanka ekspozicije olovu, već ostaje dulje vrijeme snižena (31, 32). Sniženje aktivnosti D-DALK nije strogo specifično za djelovanje olova jer je opaženo kod akutnog i kroničnog alkoholizma (33, 34), ali inhibicijsko djelovanje alkohola je značajno manje izraženo nego kod olova.

Na temelju navedenih osnovnih karakteristika nije teško uočiti glavne prednosti D-DALK kao biološkog indikatora učinka olova: kao brz i vrlo osjetljiv pokazatelj apsorpcije olova, naročito u području relativno niskih koncentracija, D-DALK idealno može poslužiti za prevenciju štetnih učinaka olova na organizam. Istovremeno, zbog relativne stabilnosti u odnosu na olovo u krvi nakon prestanka ekspozicije olovu, D-DALK može vrlo dobro poslužiti i za otkrivanje povećane apsorpcije olova u prošlosti. Ovim prednostima potrebno je nadodati da je to jedini biološki indikator apsorpcije olova za koji postoji standardizirana analitička metoda (35), što je osnovni preduvjet da dobiveni rezultati budu usporedivi, te da je moguće direktno iskoristiti mnogobrojna objavljena kvantitativna iskustva dobivena ispitivanjem odnosa doza — učinak/odziv. Nedostatak D-DALK kao biološkog indikatora je kratkotrajna stabilnost u uvjetima *in vitro*, pa analizu treba izvršiti unutar 3 sata nakon vađenja krvi, odnosno najkasnije 24 sata ako je uzorak pohranjen na $+4^{\circ}\text{C}$.

Porast koncentracije eritrocitnih porfirina (EP) je po osjetljivosti drugi po redu indikator rastućih koncentracija apsorbitanog olova (29), a općenito je prihvaćeno da od svih raspoloživih bioloških indikatora najbolje odražava kelatabilno, tj. biološki aktivno olovo u organizmu (8). Međutim, kao i ostali biološki indikatori učinka, porast koncentracije EP nije strogo specifičan za povećanu apsorpciju olova, već je karakterističan i za izvanredno rijetku eritropoetsku protoporfiriju, ali i za vrlo čestu sideropeničnu anemiju i druga patološka stanja s deficitarnim željezom. EP se najvećim dijelom sastoji od protoporfirina IX, tj. onog tipa porfirina koji najviše raste prilikom apsorpcije olova (36, 37). Utvrđeno je da je kod povećane apsorpcije olova kao i kod stanja s deficitarnim željezom protoporfirin pretežno keliran s cinkom (38), dok je kod eritropoetske protoporfirije pretežno slobodan, u nekeliranom obliku (38—40). Kod povećane apsorpcije olova kompleksno vezanje protoporfirina s cinkom posljedica je interferencije olova sa sistemom ferokelataze, koja katalizira kompleksno vezanje željeza na pro-

toporfirin i stvaranje hema, koji se zatim inkorporira u globinske lance i stvara hemoglobin. Zbog interferencije olova, ioni cinka zauzimaju mjesto željeza u jednom dijelu porfirinskih molekula, pa umjesto hema nastaje Zn-protoporfirin (ZPP), koji zauzima mjesto hema u maloj frakciji hemoglobina, obično $<10^{-3}$. Za razliku od eritropoetske protoporfirije kod koje je slobodni protoporfirin labavo vezan na hemoglobin (39), kod povećane apsorpcije olova i kod deficijencije željeza ZPP je vjerojatno čvrsto vezan na mjestu hema (40), što uzrokuje period latencije između početka apsorpcije olova i stvaranja protoporfirina u koštanoj srži u odnosu na pojavu protoporfirina u perifernoj krvi (27), kao i posljedica da koncentracija ZPP u perifernoj krvi reprezentira prosječni učinak apsorpcije olova i nedostatka željeza u posljednja 3-4 mjeseca (41).

Činjenica da ZPP-globin fluorescira a hemoglobin ne, bila je osnova konstrukciji ZPP-hematofluorometra, instrumenta koji na brz i vrlo jednostavan način direktno očitava koncentraciju ZPP u krvi. Primjena ovog instrumenta trebala bi konačno omogućiti standardizaciju metode za određivanje EP kao biološkog indikatora apsorpcije olova. Upravo zbog širokog spektra upotrebljivanih metoda koje određuju ili ukupne porfirine, ili ukupne protoporfirine, nakon razaranja kompleksa s cinkom izražene kao slobodni eritrocitni protoporfirin (SEP), ili Zn-protoporfirin (ZPP), a sve skupa ponekad izraženo na jedinicu volumena krvi, eritrocita ili koncentraciju hemoglobina — usprkos mnogobrojnim istraživanjima kvantitativni međusobni odnos olova u krvi i EP (odnos doza — učinak/odziv) nije još dovoljno poznat. Utvrđen je semilogaritamski odnos koncentracije EP, izražene bilo kao SEP ili ZPP (42) s koncentracijom olova u krvi ($\log EP/\ln Pb$) koji pokazuje visokoznačajnu pozitivnu korelaciju s koeficijentom korelacije i do $r=0,904$ za SEP (43), odnosno $r=0,852$ za SEP i odgovarajući $r=0,836$ za ZPP (42). Učinak rastućih koncentracija olova u krvi na porast EP počinje kod približno $Pb \geq 40$ $\mu g/100$ ml (30,43). Utvrđene su razlike u odnosu na spol, tako da žene imaju višu koncentraciju EP u odnosu na muškarce kod iste koncentracije olova u krvi, vjerojatno zbog relativnog deficita željeza (30,44). Povišene vrijednosti EP zaostaju više godina nakon prestanka ekspozicije olovu, a činjenica da na isti način koreliraju s vrijednostima olova u urinu nakon EDTA-provokacijskog testa kao i u vrijeme ekspozicije, potvrđuje vrijednost EP kao najboljeg indikatora biološki aktivnog olova, odnosno upućuje za zaključak da su povišene vrijednosti EP nakon prestanka ekspozicije olovu odraz direktne inhibicije ferokelataze uzrokovane mobilizacijom kumuliranog olova u organizmu (45).

Iako je mjerenje koncentracije EP ili ZPP preporučeno kao najbolji biološki indikator za namjenu na razini probira (screening), s time da povišeni nalazi moraju biti potvrđeni povišenim nalazom olova u krvi (8), naša iskustva pokazuju da EP ili ZPP nije prikladan indikator upra-

vo za tu namjenu. Budući da je nalaz koncentracije EP u perifernoj krvi odraz učinka koji je proizvela određena koncentracija olova u koštanoj srži u vrijeme sazrijevanja eritrocita prije njihova izlaska u cirkulaciju, kod kratkotrajne jake ekspozicije olovu potrebno je 3-4 mjeseca da koncentracija EP u perifernoj krvi dosegne razinu proporcionalnu učinku apsorbirane doze olova, pa je u takvim slučajevima moguće da koncentracija EP prouzroči lažno negativnu ocjenu apsorpcije i učinka olova na organizam (15). Koncentracija EP kao spori indikator koji odražava prosječnu apsorpciju olova u duljem vremenskom periodu, svojom relativnom stabilnošću u odnosu na druge indikatore ima mnogo veće prednosti ako se upotrijebi kao indikator učinka relativno duge poznate ekspozicije olovu, npr. kod ocjene intenziteta ekspozicije i učinka olova u profesionalno eksponiranih radnika. Kombinacijom s ostalim pokazateljima, povišena vrijednost EP uz istovremeno relativno normaliziranje drugih pokazatelja može služiti kao dokaz da je proteklo dovoljno dugo vremena nakon prestanka ekspozicije (46).

Od sastanka u Amsterdamu 1976. g. (8), a naročito prilikom nedavnog 19. internacionalnog kongresa medicine rada u Dubrovniku 1978. godine, izneseni su mnogi dokazi u prilog vjerodostojnosti mjerenja EP u obliku ZPP komercijalnim hematofluorometrom (17, 18, 19, 20, 41, 42). Potrebe za standardiziranim metodom za određivanje EP, radi mogućnosti usporedbe rezultata na internacionalnoj razini, maksimalno su povećale interes za tu vrlo praktičnu metodu. Iako su do sada objavljena mišljenja bila pozitivna, naša najnovija iskustva (pripremljeno za publikaciju) stečena istodobnim određivanjem ZPP i SEP upozoravanju na vrlo jaku interferenciju razgradnih produkata hema, u prvom redu bilirubina, u krvi *in vitro* na vrijednost ZPP, što zahtijeva velik oprez u interpretaciji rezultata. Za biološke indikatore u urinu, DALK a naročito KP, utvrđeno je da nisu dovoljno osjetljivi za prevenciju štetnog djelovanja olova, odnosno za granično područje koncentracije koja se smatra prihvatljivom za profesionalnu ekspoziciju anorganskom olovu ($Pb \leq 60 \mu g/100 \text{ ml}$ krvi). jer kod tih koncentracija dolazi do malih promjena DALK i KP samo kod manjeg dijela eksponirane populacije (8). U odnosu na linearan porast koncentracije olova u krvi porast DALK i KP je također eksponencijalan ($\log DALK/\log Pb$ i $\log KP/\log Pb$), a vrijednosti korelacijskog koeficijenta pokazuju uvijek nižu razinu značajnosti u usporedbi sa D-DALK i EP (29, 30). Manja relativna vrijednost DALK a naročito KP u odnosu na krvne biološke indikatore učinka (D-DALK i EP) uzrokovana je djelomično i velikim varijacijama brzine ekskrecije. Zbog toga jednokratni uzorci urina daju naročito nepouzdan rezultate, a kao najbolji način relativnog smanjenja ovih varijacija preporučuje se sakupljanje 24-satnog uzorka urina. Pored toga, naša iskustva (47) potvrdila su opažanja drugih istraživača (48) da se izlučivanje DALK i KP nakon prekida ekspozicije mnogo brže normalizira od bioloških indikatora u krvi (D-DALK a naročito EP). Kod kroničnog djelovanja olova simultana pojava zna-

kova toksičnog djelovanja olova uz relativno normalizirane vrijednosti DALK i KP upućuje da je prirodni tok otrovanja u regresiji (47). Kao i drugi indikatori učinka, DALK i KP su relativno nespecifični, jer se osim kod povećane apsorpcije olova porast DALK i KP javlja kod određenih vrsta porfirija.

Tablica 1.

Približne kvantitativne vrijednosti bioloških indikatora u odnosu na koncentraciju olova u krvi (srednje vrijednosti za skupinu, kod stabilne ekpozicije)

Olovo u krvi ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	20	30	35	40	60
D-DALK (33) (U/1 E)	35**	25**	20**	17***	10***
SEP (48) ($\mu\text{g}/100\text{ ml E}$) muškarci:			30***	40***	150***
žene:			40***	50***	160***
ZPP (49) (mmol/mol Hb) muškarci:			0.20***	0.25***	0.65*
žene:			0.25***	0.30***	0.70*
DALK (mg/1000 ml)				< 6*	10*
KP ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)				< 70*	100*

* (8); ** (49); *** (Beritić i sur., neobjavljeni rezultati).

Tablica 2.

Promjene uzrokovane olovom u odnosu na koncentraciju olova u krvi (8)

Olovo u krvi ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	<20	21–30	31–40	41–50	51–60	61–70	71–80
Inhibicija D-DALK u eritrocitima	+	+(+)	++	++(+)	+++	+++	+++
Porast EP u eritrocitima	—	(+) ^a	+	++	++(+)	+++	+++
Porast ekskrecije DALK u urinu	—	—	(+)	+	+	++	++(+)
Porast ekskrecije KP u urinu	—	—	—	+	+	++	++(+)
Promjena brzine vodljivosti perifernih živaca	—	—	—	?	+	+(+)	++

Legenda: — bez promjene; + male promjene u maloj proporciji eksponiranih osoba; ++ umjerene promjene u $\geq 50\%$ eksponiranih osoba; +++ izrazite promjene u $\geq 50\%$ eksponiranih osoba; ^a samo žene; () srednje izražen bilo intenzitet, bilo frekvencija.

ZAKLJUČCI I PREPORUKE

Određivanje koncentracije olova u krvi, kao specifičnog pokazatelja apsorpcije olova, potrebno je u svim slučajevima osim na razini screeninga kada je jedini cilj isključivanje moguće štetne apsorpcije olova (8). Ako se biološkim monitoringom žele dobiti egzaktni podaci o razini ekološke ili profesionalne ekspozicije olovu, potrebno je određivanje olova u krvi. Biološke dopuštene granice normalnih vrijednosti za ekološku ekspoziciju olovu, predložene od vodećih eksperata, a koje služe kao normativi u zemljama EZ (49), izražene na temelju odnosa doza — odziv, jesu ove:

$Pb \leq 20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ krvi za 50% populacije

$Pb \leq 30 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ krvi za 90% populacije

$Pb \leq 35 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ krvi za 98% populacije.

Predložena biološka dopuštena granica za profesionalnu ekspoziciju anorganskom olovu (8) je za muškarce $Pb \leq 60 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ krvi, a $Pb \leq 40 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ za žene u reproduktivnom periodu, zbog potencijalnog štetnog učinka na fetus.

A. određivanje aktivnosti D-DALK preporučuje se na razini probira (screening) ekološke ekspozicije olovu kao i za screening profesionalne populacije, kada se želi isključiti mogućnost štetne apsorpcije olova. Vrijednosti D-DALK, određene standardnom metodom (35), koje odgovaraju dopuštenoj granici olova u krvi za ekološku ekspoziciju jesu ove (49):

D-DALK $\geq 35 \text{ U/1 E}^*$ za 50% populacije

D-DALK $\geq 25 \text{ U/1 E}$ za 90% populacije

D-DALK $\geq 20 \text{ U/1 E}$ za 98% populacije.

Vrijednosti koje odgovaraju dopuštenoj granici za profesionalnu ekspoziciju anorganskom olovu su D-DALK $\geq 10 \text{ U/1 E}$ za muškarce i D-DALK $\geq 17 \text{ U/1 E}$ za žene (naši neobjavljeni rezultati).

U slučajevima kada su vrijednosti D-DALK niže od dopuštenih, povećana štetnost ekspozicije treba biti potvrđena određivanjem koncentracije olova u krvi i barem jednog biološkog indikatora učinka (prednost EP ili ZPP u eritrocitima, pred DALK u urinu), no preporučuje se simultano određivanje olova u krvi, EP ili ZPP i D-DALK.

B. Za prevenciju štetnih učinaka olova profesionalno eksponirane populacije, kao i ekološki eksponirane populacije kod koje je utvrđeno postojanje povišene ekspozicije olovu ili povećana osjetljivost na djelovanje olova, potrebno je redovito određivanje koncentracije olova u

* U/1 E = »evropske jedinice« (μmol porfobilnogeni u minuti kod 37 °C na litru eritrocita)

krvi i, zbog činjenice da je olovo u krvi odraz tekuće ekspozicije a ne učinaka, barem jednog pokazatelja učinka olova (prednost EP ili ZPP u eritrocitima, pred DALK u urinu) (8).

Naša iskustva (46) koja smo prezentirali prilikom Drugog internacionalnog sastanka o dopuštenim granicama za profesionalnu ekspoziciju anorganskom olovu, Amsterdam 1976 (8), pokazala su da se kombinacijom informacija dobivenih simultanim određivanjem D-DALK i EP mogu isključiti relativne nespecifičnosti ovih indikatora i istovremeno dobiti korisne informacije o trajanju ekspozicije i intenzitetu apsorpcije olova. Na temelju takvih iskustava provjerenih višegodišnjom praksom, pored olova u krvi, koje dokazuje da povećana ekspozicija postoji, za vjerodostojnu ocjenu integralne apsorpcije i odgovarajućeg rizika po zdravlje preporučuje se simultano određivanje i D-DALK i EP.

C. Za dokumentiranje funkcionalnog poremećaja uzrokovano olovom u individualnim slučajevima potrebno je dobiti kompletnu sliku o mogućem učinku na hematopoetsku koštanu srž i nervni sistem, što pored olova u krvi zahtijeva određivanje čitavog seta pretraga: EP ili ZPP i D-DALK u krvi, DALK i KP u urinu, hemoglobina i hematokrita, te po mogućnosti i test brzine nervne vodljivosti. Iako bi na određeni način pojedini pokazatelji trebali dati istovrsne odgovore na pitanja o intenzitetu i trajanju ekspozicije, odnosno o svježoj apsorpciji, integralnoj apsorpciji u duljem vremenskom periodu, te o proporcionalnim učincima — zbog značajnih interindividualnih i intraindividualnih varijacija pojedinih bioloških indikatora potrebno je da na temelju kompletnog spektra pretraga konačnu ocjenu o značajnosti po zdravlje donese specijalista medicine rada odnosno iskusan kliničar.*

Literatura

1. Zielhuis, R. L.: General aspects of biological monitoring. CEC, WHO, EPA: International Workshop on »The Use of Biological Specimens for the Assessment of Human Exposure to Environmental Pollutants«. Luxembourg 18—22 April 1977., u tisku.
2. Zielhuis, R. L.: Biological monitoring. Guest lecture given at the 26th Nordic Symposium on Industrial Hygiene, Helsinki, October 1977, Scand. J. Work. Environ. Health, 4 (1978) 1.
3. A consensus report from an international meeting organized by the Subcommittee on the Toxicology of Metals of the Permanent Commission and International Association on Occupational Health, Tokyo, November 18—23, 1974, by Task Group on Metal Toxicity, u: G. F. Nordberg (ur.), Effects and dose-response relationships of toxic metals, Elsevier, Amsterdam 1976, str. 7.

* U pripremi je prikaz slučajeva kojima se stavovi izneseni u ovom prikazu mogu ilustrativno dokumentirati.

4. Commission of the European communities, World Health Organization, U. S. Environmental Protection Agency: International Workshop on »The Use of Biological Specimens for the Assessment of Human Exposure to Environmental Pollutants, Luxembourg 18–22 April 1977, u tisku.
5. Commission of The European Communities, Western Health Board (Ireland): Seminar on Biological Sampling for Monitoring Population Exposure to Lead, Galway (Irska) 1975, Galway Annual (Special Edition).
6. Taylor, J. F., Higgins, R. I.: A cost benefit analysis of medical and occupational hygiene monitoring techniques available for the control of the health of the lead worker, Proceedings 19th International Congress on Occupational Health, Dubrovnik 25–30 September 1978, u tisku.
7. World Health Organization, Environmental Health Criteria 3, Lead, WHO, Geneva 1977.
8. Zielhuis, R. L.: Second International Workshop Permissible Levels for Occupational Exposure to Inorganic Lead, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 39 (1977) 59.
9. Pierce, J. O., Koirtjohann, S. R., Clevenger, T. E., Lichte, F. E.: The determination of lead in blood, a review and critique of the state of the art, 1975., International Lead Zinc Organization, New York 1976.
10. Keppler, J. F., Maxfield, M. E., Moss, W. D., Tietjen, G., Linch, A. J.: Interlaboratory evaluation of the reliability by blood lead analysis, Amer. Ind. Hyg. Assoc. J., 31 (1970) 412.
11. Berlin, A., Del Castilho, P., Smeets, J.: European intercomparison programmes, Proceedings International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Commission of the European Communities, Luxembourg 1978, str. 1033.
12. Berlin, A., Lauwerys, R., Buchet, J. P., Roels, H., Del Castilho, P., Smeets, J.: Intercomparison programme on the analysis of lead, cadmium and mercury in biological fluids, Proceedings International Symposium Recent Advances in the Assessment of the Health Effects of Environmental Pollution, Paris 1974, str. 141.
13. Lauwerys, R., Buchet, J. P., Roels, H., Berlin, A., Smeets, J.: Intercomparison programme of lead, mercury and cadmium analysis in blood, urine and aqueous solutions, Clin. Chem., 21 (1975) 551.
14. Beritić, T.: Lead concentration found in human blood in association with lead colic, Arch. Environ. Health, 23 (1971) 289.
15. Beritić, T., Telišman, S., Karačić, S., Prpić-Majić, D., Keršanc, A., Pongračić, J.: Blood lead in clinical lead poisoning, 19th International Congress on Occupational Health, Dubrovnik 1978, Abstracts, str. 38.
16. Sakurai, H., Sugita, M., Tsuchiya, K.: Biological response and subjective symptoms in low level lead exposure, Arch. Environ. Health, 29 (1974) 157.
17. Valciukas, J. A., Lilis, R., Eisinger, J., Blumberg, W. E., Fischbein, A., Selikoff, I. J.: Behavioral indicators of lead neurotoxicity: results of a clinical field survey, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 41 (1978) 217.
18. Fischbein, A., Blumberg, W. E., Davidow, D., Moses, M.: Health effects of exposure to lead among cable spicers — a comparative study of biological indicators of low-level lead, 19th International Congress on Occupational Health, Dubrovnik 1978, Abstracts str. 60.
19. Grandjean, P., Lintrup, J.: Erythrocyte-Zn-protoporphyrin as an indicator of lead exposure, Scand. J. Clin. Lab. Invest., 38 (1978) 669.

20. Litis, R., Eisinger, J., Blumberg, W., Fischbein, A., Sarkozi, L., Kon, S., Selikoff, I. J.: Hemoglobin levels in the medical surveillance of lead exposed workers: relationships with blood lead, zinc protoporphyrin, serum iron and total iron binding capacity, 19th International Congress on Occupational Health, Dubrovnik 1978, Abstracts str. 87.
21. Chisolm, J. J. Jr., Mellits, E. D., Barrett, M. B.: Interrelationships among blood lead concentration, quantitative daily ALA-U and urinary lead output following calcium EDTA, u: Nordberg, G. F (ur.): Effects and dose-response relationships of toxic metals, Elsevier, Amsterdam, 1976, str. 416.
22. Beritić, T.: Olovo, u: Stanković, D. (ur.): Medicina rada, Udruženje za medicinu rada SFRJ i »Dom štampe« Zenica, Sarajevo 1978, str. 172.
23. Nordberg, G., Norseth, T.: Critical organ concept and indicators of early effects in evaluating and establishing dose-response relationships for toxic metals, u: Nordberg, G. F. (ur): Effects and dose-response relationships of toxic metals, Elsevier, Amsterdam 1976, str. 131.
24. Hernberg, S., Nikkanen, J., Mellin, G., Lilius, H.: δ -aminolevulinic acid dehydratase as a measure of lead exposure, Arch. Environ. Health, 21 (1970) 140.
25. Haeger-Aronsen, B., Abdulla, M., Fristedt, B. J.: Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydrase activity in red blood cells, Arch. Environ. Health, 23 (1971) 440.
26. Tola, S.: The effect of blood lead concentration, age, sex and time of exposure upon erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydratase activity, Work Environ., Health, 10 (1973) 26.
27. Sassa, S., Granick, J. L., Granick, S., Kappas, A., Levere, R. D.: Studies in lead poisoning. I. Analysis of erythrocyte protoporphyrin levels by spectrofluorimetry in the detection of chronic lead intoxication in the subclinical range, Biochem. Med., 8 (1973) 135.
28. Wada, O., Takeo, K., Yano, Y., Ono, T., Nagahashi, M., Seki, H.: δ -aminolevulinic acid dehydratase in low level lead exposure, Arch. Environ. Health, 33 (1976) 211.
29. Alessio, L., Bertazzi, P. A., Monelli, O., Toffoletto, F.: Free erythrocyte protoporphyrin as an indicator of the biological effect of lead in adult males. II. Comparison between free erythrocyte protoporphyrin and other indicators of effect, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 37 (1976) 80.
30. Alessio, L., Castoldi, M. R., Buratti, M., Maroni, M., Bertazzi, P. A.: Behaviour of some indicators of biological effect in female lead workers, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 40 (1977) 283.
31. Prerovska, J., Teisinger, J.: Excretion of lead and its biological activity after termination of lead exposure, Brit. J. Industr. Med., 27 (1970) 352.
32. Haeger-Aronsen, B., Abdulla, M., Fristedt, B. J.: Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in red blood cells. II. Regeneration of enzyme after cessation of lead exposure. Arch. Environ. Health, 29 (1974) 150.
33. Moore, M. R., Beattie, A. D., Thompson, G. G., Goldberg, A.: Depression of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity by ethanol in man and rat, Clin. Sci., 40 (1970) 81.
34. Dimov, D., Prpić-Majić, D., Beritić, T., Keršanc, A., Karačić, V.: Utjecaj ekoloških faktora na pojavu toksičnih porfirija. I. Alkoholizam i aktivnost dehidrataze δ -aminolevulininske kiseline, Arh. hig. rada toksikol., 23 (1972) 11.
35. Berlin, A., Schaller, K. H.: European standardized method for the determination of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in blood, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 12 (1974) 389.

36. Granick, S., Sassa, S., Granick, J. L., Levere, R. D., Kappas, A.: Assays for porphyrins, Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 69 (1972) 2382.
37. Piomelli, S.: Free erythrocyte porphyrins in the detection of undue absorption of Pb and Fe deficiency, Clin. Chem., 23 (1977) 264.
38. Lamola, A. A., Yamane, T.: Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia, Science, 186 (1974) 936.
39. Piomelli, S., Lamola, A., Poh-Fitzpatrick, M. B., Seaman, C., Harber, L. C.: Erythropoietic protoporphyria and lead intoxication: the molecular basis for difference in cutaneous photosensitivity. I. Different rates of disappearance of protoporphyrin from erythrocytes, both *in vivo* and *in vitro*, J. Clin. Invest., 56 (1975) 1519.
40. Lamola, A. A., Piomelli, S., Poh-Fitzpatrick, M. B., Yamane, T., Harber, L. C.: Erythropoietic protoporphyria and lead intoxication: the molecular basis for difference in cutaneous photosensitivity. II. Different binding of erythrocyte protoporphyrin to hemoglobin, J. Clin. Invest., 56 (1975) 1528.
41. Blumberg, W. E., Eisinger, J., Lamola, A. A., Zuckerman, D. M.: Zinc protoporphyrin level in blood determined by a portable hematofluorometer: a screening device for lead poisoning, J. Lab. Clin. Med., 89 (1977) 712.
42. Alessio, L., Castoldi, M. R., Buratti, M., Calzaferrri, G., Odone, P., Ivana, C.: Confronto fra un metodo estrattivo ed un metodo a lettura diretta per la determinazione fluorimetrica della protoporfirina eritrocitaria, Med. Lav., 69 (1978) 563.
43. Alessio, L., Bertazzi, P. A., Toffoletto, F., Foà, V.: Free erythrocyte protoporphyrin as an indicator of the biological effect of lead in adult males. I. Relationship between free erythrocyte protoporphyrin and indicators of internal dose of lead, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 37 (1976) 73.
44. Stuijk, E. J.: Biological response of female volunteers to inorganic lead, Int. Arch. Arbeitsmed., 33 (1974) 83.
45. Alessio, L., Bertazzi, P. A., Moneli, O., Toffoletto, F.: Free erythrocyte protoporphyrin as an indicator of the biological effect of lead in adult males. III. Behavior of free erythrocyte protoporphyrin in workers with past lead exposure, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 38 (1976) 77.
46. Beritić, T., Prpić-Majić, D., Karačić, V., Telišman, S.: ALAD/EP rati as a measure of lead toxicity, J. Occup. Med., 19 (1977) 551.
47. Beritić, T., Markičević, A., Telišman, S., Karačić, V., Pongračić, J. Keršanc, A.: Delta-aminolevulinic acid and coproporphyrine in urine in the delayed action of lead, 19th International Congress on Occupational Health, Dubrovnik 1978, Abstracts, str. 37.
48. Schlegel, H., Kufner, G., Leinberger, H.: Das Verhalten verschiedener Parameter der Hämsynthesestörung am Menschen bei experimenteller Aufnahme anorganischer Bleiverbindungen, Proceedings International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam 1972, CEC Luxembourg, 1973, str. 569.
49. Council directive of 29 March on biological screening of the population for lead, Official Journal of the European Communities No. L 105 (1977) 10-17.
50. Cripps, D. J., Peters, H. A.: Fluorescing erythrocytes and porphyrin screening tests on urine, stool, and blood, Arch. Dermatol., 96 (1967) 712.
51. Aviv Associates: New blood test can screen for lead poisoning, Aviv Assoc., 1975.

Summary

GENERAL ASPECTS OF BIOLOGICAL MONITORING AND RELATIVE VALIDITY OF BIOLOGICAL INDICATORS FOR OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL EXPOSURE TO INORGANIC LEAD

Basic factors determining the interrelationship between external exposure, internal exposure and health effects are presented, and an advantage of biological over environmental monitoring in the prevention and protection of health is pointed out. By taking into account interindividual variations and direct measurement of internal exposure to which health effects are proportional the advantage of biological monitoring lies in the possibility of identifying the population segments with increased risk, either because of increased individual susceptibility due to endogenous or exogenous factors, or because of a higher exposure level. The economic advantage of biological monitoring in comparison to environmental monitoring concerns a far lower expenditure of the budget, manpower and instruments, while at the same time the effective exposure and health risk are more exactly determined. The factors determining the choice of the most optimal indicators, biological specimens, monitoring frequency, and type of population for the application of biological monitoring both for occupational and for environmental exposure to toxic agents, is discussed. The advantage of biological over environmental permissible limits for the prevention of undesirable effects in occupational and environmental exposure is emphasized.

Basic characteristics of biological indicators of increased lead absorption, their relative validity in the assessment of recent, or integral exposure and absorption, and validity in the prediction and assessment of health effects are also presented. The determination of ALAD is recommended for the screening of the population with no known increased lead exposure, to exclude the possibility of undesirable level of exposure. For the prevention of undesirable effects in a population with an evidently increased exposure level, the simultaneous determination of blood lead as the specific indicator of dose, and of combined ALAD and EP/ZPP as the specific indicator of lead induced effects, is suggested. For the assessment and documentation of health impairment due to intolerable exposure the use of a complete set of biological indicators: lead, ALAD and EP/ZPP in blood, ALA and CP in urine, as well as the determination of Hb, Hct and, if possible, peripheral nerve conduction velocity is considered most appropriate.

*Institute for Medical Research and
Occupational Health, Zagreb*

*Received for publication
February 5, 1979.*