



Mestrado em Ciências Forenses

Universidade do Porto

Nível de exposição de trabalhadores a metais presentes em poeiras de pedreiras e fábricas de granito na zona de Ponte de Lima. Tentativa de avaliação do risco.

Sandra Isabel Soares Castro de Sousa

Porto 2013

**Dissertação elaborada no âmbito do Mestrado em Ciências Forenses da
Universidade do Porto, Faculdade de Farmácia do Porto.**

Orientadora

Professora Doutora Maria de Lourdes Pinho de Almeida Souteiro Bastos (FFUP)

“O homem pode acreditar no impossível, mas nunca pode acreditar no improvável.”

Oscar Wilde

Agradecimentos

Na verdade, ao iniciar este trabalho de pesquisa/tese, na minha mente bailava um leve pressagio do impossível, ou quase impossível.

Se calhar o improvável...

Mas se a vida é uma constante busca ... eu, elemento activo, também sentia a necessidade de procurar!

O saber mais... o entender mais.

A reflexão nas questões do dia a dia...

As incógnitas por descobrir...

Tudo fluía... ora numa perspectiva de busca e aprendizagem ... ora numa perspectiva de satisfação...

O pensar já está... já chega... Porém, nós nunca estamos sozinhos. Felizmente envolvidos por uma parentalidade que, tal como o polvo, tem braços de tal forma envolventes que nos “obrigam” a crescer em sabedoria, compreensão, autenticidade...

De outra forma não seria possível este trabalho, que tanto “trabalho” nos conseguiu proporcionar.

A esta forte teia de amigos que me ajudou dedico a minha estima, o meu carinho, o meu apreço... o meu trabalho...

Agradeço: à Dr^a Maria de Lourdes Bastos

- à Senhora Engenheira Maria Elisa Soares

- à minha amiga Dina

- aos meus colaboradores de Paredes de Coura

- aos meus amigos pedreiros

- à equipa do laboratório Unilabs

- à Universidade

- à minha família... a todos que comigo estiveram nestes anos de luta e de pesquisa, de trabalho no terreno, que me levaram a acreditar que o impossível pode ser provável.

Obrigada

Índice

Agradecimentos	IX
Índice	XI
Índice de figuras	XVII
Índice de tabelas	XIX
Lista de Abreviaturas	XXI
Resumo	XXIII
Abstract	XXV
Introdução	27
 METAIS 	35
1. Metais em estudo	37
1.1. Metais a considerar no estudo	37
1.2. Alumínio	39
1.2.1. Toxicidade do alumínio	39
1.2.2. Toxicocinética do alumínio	42

1.2.3. Revisão de estudos de biomonitorização do alumínio	43
1.3. Cádmio	48
1.3.1. Toxicidade do cádmio	48
1.3.2. Toxicocinética do cádmio	50
1.3.3. Revisão de estudos de biomonitorização do cádmio	53
1.4. Crómio	55
1.4.1. Toxicidade do crómio	55
1.4.2. Toxicocinética do crómio	57
1.4.3. Revisão de estudos de biomonitorização do crómio	58
1.5. Chumbo	60
1.5.1. Toxicidade do chumbo	60
1.5.2. Toxicocinética do chumbo	63
1.5.3. Revisão de estudos de biomonitorização do chumbo	64
1.6. Silício	67
1.6.1. Toxicidade do silício	67
1.6.2. Toxicocinética do silício	71
1.6.3. Revisão de estudos de biomonitorização do silício	72
2. Monitorização de biomarcadores de efeito	74
3. Objetivo do estudo	77

 PARTE EXPERIMENTAL 	79
4. Materiais e métodos	81
4.1. Localização da zona de estudo e constituição da rocha granítica	81
4.2. Recolha de amostra de pó de granito	83
4.2.1. Pré-tratamento das amostras de granito	84
4.3. Materiais e reagentes	86
4.4. Equipamento	87
4.5. População seleccionada para o estudo	88
4.6. Colheita e preparação das amostras biológicas	89
4.6.1. Colheita das amostras biológicas	89
4.6.2. Preparação das amostras biológicas para doseamento de metais	90
4.7. Validação do método de absorção atómica	91
4.8. Análise dos metais nas amostras biológicas	98
 RESULTADOS E DISCUSSÃO 	101
5. Resultados	103
5.1. Teores de metais nas amostras biológicas	103
5.1.1. Alumínio	103
5.1.2. Cádmio	105
5.1.3. Crómio	107

5.1.4. Chumbo	109
5.1.5. Silício	111
5.2. Avaliação dos parâmetros bioquímicos	113
5.2.1. Biomarcadores de efeito em sangue e urina e possível relação com a exposição a metais no grupo de trabalhadores	113
5.2.2. Biomarcadores de efeito	115
5.2.2.1. β_2 – microglobulina	115
5.2.2.2. Creatinina e ureia	117
5.2.2.3. Albumina	119
5.2.2.4. Fosfatase alcalina	122
5.2.2.5. Proteínas totais na urina de 24horas	123
5.2.2.6. Porfirinas	124
5.3. Análise dos Inquéritos	131
5.3.1 Análise demográfica	133
5.3.2 Análise de algumas questões colocadas no inquérito em função dos biomarcadores avaliados	135
6. Discussão geral	141
Conclusões	147
Referências Bibliográficas	151

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema da monitorização biológica e ambiental (adaptado de Angerer Gündel, 1996)	P.32
Figura 2. Esquema de exposição do organismo a uma toxina ambiental/ocupacional (adaptado de Budnik, 2009)	P.32
Figura 3. Transporte, ligação proteica e toxicidade do cádmio (adaptado de Klaassen, 2008)	P.51
Figura 4. Metabolismo e distribuição de cádmio no organismo humano (adaptado de Godt <i>et al.</i> , 2006)	P.52
Figura 5. Mecanismo de interrupção da biossíntese do grupo heme provocado pelo chumbo (adaptado de Lin <i>et al.</i> , 2008)	P.62
Figura 6. Mapa do Concelho de Ponte de Lima	P.81
Figura 7. Concentração média de β_2 -microglobulina nos dois grupos	P.116
Figura 8. Valores médios de Creatinina e ureia nos dois grupos	P.118
Figura 9. Valores de Creatinina nos trabalhadores em função do número de anos de exposição	P.118
Figura 10. Percentagem de trabalhadores com valores de albumina situados entre 3,5 a 4,9 g/dL	P.119
Figura 11. Distribuição dos indivíduos do grupo Controlo e do grupo de Trabalhadores (percentagem) em função dos valores sanguíneos de Albumina	P.120
Figura 12. Percentagem de trabalhadores, em função dos valores de Albumina, no grupo de pedreiros que trabalhavam em ambiente confinado e a céu aberto	P.121

Figura 13. Valores médios de Fosfatase alcalina nos dois grupos	P.122
Figura 14. Valores de Proteínas totais nos dois grupos	P.123
Figura 15. Biossíntese do grupo heme (adaptado de Marshall, 1998)	P.125
Figura 16. Representação dos valores de porfirinas totais em $\mu\text{g/urina}$ de 24h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.126
Figura 17. Representação dos valores de Coproporfirinas I em $\mu\text{g/urina}$ 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.127
Figura 18. Concentração de Coproporfirina I em indivíduos que exerciam actividade em ambiente confinado	P.128
Figura 19. Concentração de Coproporfirina I em indivíduos que exerciam actividade em céu aberto	P.128
Figura 20. Número de indivíduos (grupo dos Trabalhadores) com valores de Coproporfirina I elevados ($>25\mu\text{g/urina}$ 24 h) em função da faixa etária	P.129
Figura 21. Representação dos valores das Uroporfirinas em $\mu\text{g/urina}$ de 24h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.130
Figura 22. Representação dos valores de Coproporfirinas III em $\mu\text{g/urina}$ de 24h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.130
Figura 23. Percentagem de Trabalhadores por número de anos de trabalho	P.134
Figura 24. Número de fumadores <i>versus</i> não fumadores no grupo de Trabalhadores	P.136
Figura 25. Número de anos como fumador	P.136
Figura 26. Percentagem de indivíduos Trabalhadores com patologias	P.137
Figura 27. Periodicidade de realização de Raios-X	P.138
Figura 28. Valorização do uso da máscara	P.139
Figura 29. Valorização de análises laboratoriais	P.139
Figura 30. Valorização de opinião dos efeitos das poeiras no tracto respiratório	P.140

Índice de Tabelas

Tabela 1. Concentração de metais minoritários em amostras de granito e pó colhidas em diferentes pedreiras	P. 38
Tabela 2. Valores de limite de exposição (adaptado de Krewski D., 2007)	P.40
Tabela 3. Causas de morte em 2004 em Vermont, Itália. (adaptado de Vacek P., 2010)	P.70
Tabela 4. Análise química dos elementos majoritários da pedra granítica de Bertandos (adaptado de Tese de doutoramento de Ribeiro , 2006)	P.82
Tabela 5. Análise química dos elementos vestigiais da pedra granítica de Bertandos (adaptado de Tese de doutoramento de Ribeiro , 2006)	P.82
Tabela 6. Concentração de cádmio, crómio níquel e chumbo em amostras de pó de diferentes pedreiras	P.85
Tabela 7. Concentração de soluções padrão utilizadas para a realização da Curva de Calibração	P.91
Tabela 8. Estudo da Linearidade de resposta	P.92
Tabela 9. Limites de Detecção e de Quantificação do método para os vários metais	P.93
Tabela 10. Valores de Referência retirados da literatura	P.94
Tabela 11. Avaliação da Precisão em soluções padrão dos metais e em amostras biológicas	P.95
Tabela 12. Valores obtidos para o estudo da Exatidão do método	P.97
Tabela 13. Condições de análise dos metais por EAA/AE	P.99

Tabela 14. Concentrações de Alumínio ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina.	P.103
Tabela 15. Concentrações de Cádmio ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina.	P. 105
Tabela 16. Concentrações de Crômio ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina.	P.107
Tabela 17. Concentrações de Chumbo ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina.	P.109
Tabela 18. Concentração de Silício ($\mu\text{g/mL}$) em amostras de sangue, soro e urina.	P.111
Tabela 19. Valores de referência dos parâmetros bioquímicos*	P.114
Tabela 20. Valores de β_2 -microglobulina no grupo de Trabalhadores e no grupo Controlo	P.116
Tabela 21. Tabela resumo dos valores de Creatinina e Ureia	P.117
Tabela 22. Tabela resumo dos valores de Albumina no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.120
Tabela 23. Valores de Fosfatase Alcalina (ALP) nos grupos de Trabalhadores e Controlo	P.122
Tabela 24. Valores de Proteínas totais em urina de 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.123
Tabela 25. Valores de Porfirinas totais em urina de 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.126
Tabela 26. Valores de Coproporfirinas I em urina de 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.127
Tabela 27. Valores de Uroporfirinas em urina de 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.130
Tabela 28. Valores de Coproporfirinas III em urina de 24 h no grupo de Trabalhadores e Controlo	P.130
Tabela 29. Número de indivíduos por grupos etários	P.134
Tabela 30. Distribuição das tarefas realizadas pelos trabalhadores	P.135

Lista de Abreviaturas

Al	Alumínio
Cd	Cádmio
Cr	Crómio
Pb	Chumbo
Si	Silício
IARC	Agência Internacional de Pesquisa do Cancro
TLVs	(Threshold limit values) Valores máximos de exposição
ACGIH	Conferência Americana de Higienistas industriais governamentais
CC16	Célula Clara 16
RBP	Proteína ligada ao retinol
NAG	N-Acetil- Glucosamina
Cd-MT	Ligação Cádmio-Metalotioneína
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ALA	Ácido δ -aminolevulínico
ALAD	Ácido δ -aminolevulínico desidratase
BAL	Líquido de lavagem Bronco-alveolar
ALP	Fosfatase Alcalina
HNO ₃	Ácido Nítrico
HF	Ácido Fluorídrico
HCl	Ácido Clorídrico
Mg (NO ₃) ₂	Nitrato de Magnésio
Pd (NO ₃) ₂	Nitrato de Paládio
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogénio
ROS	Espécies Reativas de Oxigénio

A Toxicologia Ocupacional é uma área científica da Toxicologia que se dedica à avaliação da exposição dos trabalhadores a contaminantes no seu ambiente de trabalho, à caracterização do perigo daí decorrente, fornecendo resultados que sirvam de suporte ao cumprimento da regulação em vigor e, mesmo, contribuindo para que essa regulação possa ser actualizada em função do risco caracterizado através de avaliações de parâmetros de exposição e de efeito. Neste contexto assume características eminentemente forenses.

Neste trabalho pretendeu-se avaliar a extensão da exposição de trabalhadores de pedreiras de granito a metais com características tóxicas presentes nas poeiras inaladas (alumínio, cádmio, chumbo, crómio e silício). Estes metais foram seleccionados com base na constituição mineral maioritária do granito (óxidos de silício e de alumínio) e na constituição minoritária em metais pesados com efeitos tóxicos reconhecidos, nomeadamente chumbo, cádmio e crómio.

Assim, tivemos como base de estudo um grupo de pedreiros (30 indivíduos) do Concelho de Ponte de Lima, onde a exploração e manipulação do granito é mais expressiva e representativa no país. O grupo controlo era constituído por 20 homens de faixa etária semelhante e com actividades profissionais diversas.

O estudo consistiu na recolha de sangue e urina de todos os indivíduos para doseamento dos níveis de metais (biomarcadores de exposição), sendo também determinados vários parâmetros bioquímicos nos mesmos fluidos biológicos (biomarcadores de efeito) numa tentativa de correlacionar a eventual exposição excessiva aos metais em estudo com a resposta tóxica no organismo. Os biomarcadores de efeito seleccionados foram a albumina, β_2 -microglobulina, creatinina, ureia, fosfatase alcalina, proteínas totais de urina de 24h, porfirinas totais, coproporfirinas e uroporfirinas, nos mesmos materiais biológicos. Em simultâneo, foi efectuado um inquérito para recolha de informações demográficas, de saúde, e outras.

Da análise dos metais nos líquidos biológicos destaca-se que os trabalhadores apresentavam, na urina, valores médios significativamente mais elevados de silício,

alumínio e chumbo (10,2 µg/mL; 5,86 µg/L; e 4,19 µg/L, respectivamente) quando comparados com os do grupo controlo (3,38 µg/mL; 0,86 µg/L; 2,29 µg/L, respectivamente). Os resultados obtidos no grupo de trabalhadores, mais altos do que no grupo controlo, indiciam uma exposição adicional dos trabalhadores em consequência da inalação de poeiras contaminadas, tendo como consequência uma eliminação aumentada de silício, alumínio e chumbo. No entanto, os valores encontravam-se próximos dos valores de referência.

Todos os outros valores de todos os metais estudados se encontravam próximos dos valores de referência publicados na literatura para sangue/soro e urina e eram semelhantes, em termos de média, nos dois grupos.

Relativamente aos biomarcadores de efeito determinados no sangue e urina, encontravam-se dentro dos intervalos considerados normais, não se tendo encontrado diferenças significativas entre os dois grupos. Refere-se, apenas, que foi encontrada uma correlação positiva entre os valores de albumina no sangue e as concentrações de alumínio no grupo de trabalhadores.

Quanto à avaliação do risco dos trabalhadores relativamente à exposição ao alumínio, cádmio, chumbo, crómio e silício resultante do pó de granito, a legislação existente não nos permite tirar conclusões abrangentes para todos os metais, pois é apenas existente para os níveis de chumbo no sangue. No entanto, sendo os seus níveis aproximados dos valores de referência, conclui-se que a exposição está dentro de níveis aceitáveis. A corroborar esta percepção está o facto de não se terem encontrado alterações significativas nos biomarcadores de efeito. Acresce que os trabalhadores estão conscientes da importância do uso de medidas de protecção e da realização de exames médicos e laboratoriais, o que permite uma monitorização periódica da sua saúde.

Se Ponte de Lima é um cartão-de-visita do nosso País, merece agora ainda mais um louvor pelo esmero com que desenvolve as atividades profissionais em estudo – Pedreiras.

Palavras chave:

Toxicologia Ocupacional, Biomonitorização, Biomarcadores de efeito, Biomarcadores de exposição, Avaliação do risco.

Abstract

Occupational Toxicology is a scientific branch of Toxicology dedicated to the exposure evaluation of the workers to contaminants in their work place, characterization of hazard, and furnishing data that support the accomplishment of the actual rules. Data from biomonitoring can contribute to modify the rules depending on the risk characterized with basis on exposure and effect biomarkers. In this context Occupational Toxicology assumes forensic characteristics.

The objective of this work was to evaluate the exposure of granitic stone workers to metals with toxic characteristics presented in the inhaled particles (aluminum, cadmium, lead, chromium, and silicon). These metals were selected based in the main composition of granitic stones (silicon and aluminum oxides) as well as in the minor heavy metal composition with recognized toxic effects, such as lead, cadmium and chromium.

For this study a group of stoners was studied (30 men) from Ponte de Lima, north of Portugal, where the extraction and manipulation of the granite stone is more expressive and representative. A control group constituted by 20 men with similar age and with different professional activities was also included.

This study consisted in the collection of blood and urine from all the individuals for monitoring the metals concentration (exposure biomarkers), as well as for the determination of several biochemical parameters in the same biological fluids (effect biomarkers) to try to correlate the possible exposure to the metals with the toxic effects in the organism. The selected effect biomarkers were albumin, β_2 -microglobulin, creatinine, urea, alkaline phosphatase, total proteins in the urine of 24h, total porphyrines, coproporphyrines and uroporphyrines. At the same time, an inquire was done to obtain some demographic information, healthy status, etc.

From the analysis of the metals in biological fluids, stone workers had, in urine, significantly higher medium levels of silicon, aluminum and lead (10,2 µg/mL; 5,86 µg/L; e 4,19 µg/L, respectively), when compared with control group (3,38 µg/mL; 0,86 µg/L; 2,29 µg/L, respectively). This fact revealed an additional exposure of workers to these metals as a consequence of inhalation of particles, resulting in a significantly higher urine excretion. However, the results were similar to the literature reference values.

All the other concentrations found for the others metals were similar to the reference values published in the literature for blood/serum and urine and were similar, in terms of medium, in the two groups.

Referring to the biomarkers of effect determined in blood and urine samples, the results were considered in the normal range, and no significant differences between the two groups were found. It should only be mentioned that it was found a positive correlation between blood albumin values and blood aluminum concentrations in the workers.

Concerning the evaluation of the risk for the workers resulting from the exposure to aluminum, cadmium, lead, chromium and silicon present in the particles from granitic stones, the current legislation doesn't permit to take conclusions for all metals, because it only exists for the lead levels in the blood of workers. However, the levels found for all the metals are in the same range of the reference values; also, significant differences in the biochemical parameters were not found, reinforcing the perception that there is no risk for the workers. Besides, the stone workers are conscientious of the importance of the use of protection equipments as well as the performing of medical and laboratorial analysis, that permits a periodic follow up of their health.

Ponte de Lima is already a card-shirt of our country; after this study it deserves an extra recommendation with basis on the care devoted in the occupational conditions by the quarry activities.

Key Words:

Occupational toxicology, Biomonitoring, Biomarkers of effect, Biomarkers of exposure, Risk evaluation.

Introdução

Os metais encontram-se disseminados no ambiente que nos rodeia, naturalmente ou por interferência humana, em resultado de várias atividades industriais.

Durante séculos, foram desenvolvidos trabalhos na área ambiental, sendo de destacar com maior ênfase os efeitos adversos na saúde humana aquando de uma exposição a perigos químicos e biológicos. Há mais de 500 anos Agrícola (1494-1555) e Paracelsus (1492-1541) denunciaram o derrame de tóxicos naturais responsabilizados por exposição em minas, pedreiras ou metalurgias (in: Thorne, 2008). Ramazzini, entre 1633 e 1714, desenvolveu um tratado sistemático, no qual descreveu os perigos aos quais determinados indivíduos (trabalhadores do metal, mineiros, pedreiros, entre outros) estavam sujeitos (in: Thorne, 2008).

Desde há séculos, portanto, há a consciência das repercussões para a saúde dos trabalhadores resultantes da contaminação do ambiente laboral por vários tipos de poluentes, entre eles os metais. É só no início do século XX, por volta de 1920, que são

dados os primeiros passos da medicina ocupacional. Nesta altura estabeleceram-se ligações entre diversas áreas de forma a perceber-se qual a relação entre exposição /resposta e o desenvolvimento de doenças ocupacionais (Rappaport, 2011).

A Toxicologia Ocupacional é hoje um ramo independente da Toxicologia, podendo definir-se como a ciência que faz a aplicação dos princípios da toxicologia para o entendimento e gestão dos perigos químicos e biológicos para os trabalhadores, no local de trabalho. Nos nossos dias, o principal objetivo desta ciência é prevenir os efeitos adversos que poderão resultar de exposições continuadas dos trabalhadores a variados poluentes, constituindo os metais pesados um grupo muito importante, tanto pela sua grande utilização em vários ramos da indústria, como pelos efeitos tóxicos perfeitamente reconhecidos para alguns deles.

Os metais pesados são talvez os agentes tóxicos mais conhecidos pelo homem (Liu *et al.*, 2008) e são quimicamente definidos como um grupo de elementos situados entre o cobre e o chumbo da tabela periódica, sendo quimicamente muito reativos, tendo alguns deles uma semi-vida biológica muito longa e, portanto, sofrendo o fenómeno de bioacumulação.

O Homem está, nos nossos dias, particularmente exposto aos metais pesados pela via alimentar. No entanto, para os trabalhadores de certas indústrias, a exposição ocupacional é a mais representativa, sendo responsável pela exposição a níveis considerados perigosos, podendo culminar em intoxicações metálicas. Também, o facto de os metais terem em regra tendência a bioacumularem no organismo, pode originar concentrações de risco ao longo dos anos de trabalho, mesmo quando a exposição está dentro dos limites considerados seguros (Threshold Limit Values, TLVs).

Num estudo recente realizado por Gil *et al.*, 2010, em trabalhadores expostos no local de trabalho a vários metais pesados foi demonstrado que as concentrações nos materiais biológicos analisados aumentavam com os anos de trabalho, acumulando-se em amostras alternativas, como cabelos e unhas, que podem ser usadas na biomonitorização em saúde ocupacional, por serem obtidas de forma não invasiva (Gil *et al.*, 2010)

No ambiente laboral, as principais vias de exposição aos poluentes são a via dérmica e a pulmonar, sendo esta considerada a mais perigosa, na medida em que a pele, regra geral, constitui uma barreira eficaz à sua penetração.

Assim, as primeiras medidas de proteção tentadas nos ambientes laborais consistiram na monitorização das poeiras, implementando métodos para medição das partículas a que os trabalhadores estavam sujeitos em minas e fábricas. Embora importante e imprescindível, esta medida de determinação de poeiras em ambiente laboral, só por si, revela-se insuficiente, pois não dá informação sobre o real grau de exposição dos trabalhadores, o qual só pode ser obtido por medição do nível dos poluentes em material biológico dos mesmos (Rappaport, 2011).

Na primeira metade do século XX, diferentes classes profissionais juntaram esforços e tentaram estabelecer uma relação entre a exposição a agentes tóxicos e a resposta fisiológica dos trabalhadores (ex: trabalhadores de minas e trabalhadores de fábricas) para determinadas doenças ditas ocupacionais (Rappaport, 2011). Pelos anos 1920 foram desenvolvidos métodos de medição de partículas de poeiras e químicos em locais de trabalho. Nos anos 1960 foram pela primeira vez recolhidas amostras biológicas dos trabalhadores no local de trabalho, tendo como finalidade um controlo mais apertado da exposição a poeiras em minas e da exposição a químicos em indústrias. Nos nossos dias sabe-se que o problema da exposição a xenobióticos é mais vasto, ultrapassa o ambiente ocupacional, e na sua avaliação devem ter-se em conta todas as fontes de exposição (ambiente em geral, alimentos, etc), que se condensa no conceito de exposoma (Rappaport, 2011).

A partir de 1960, inicia-se uma nova época em que os biomarcadores começam a ser um ponto de partida para a investigação assim como um complemento da mesma. Os biomarcadores permitem identificar e quantificar o risco a que os trabalhadores estão sujeitos, através da determinação/medição de três tipos de biomarcadores: biomarcadores de exposição, de efeito e de suscetibilidade. Os biomarcadores de exposição permitem indicar a exposição humana a um xenobiótico através da medição do mesmo e/ou seus metabolitos diretamente em fluidos biológicos como o sangue, soro ou urina (ex: determinação de metais na urina). Um biomarcador de efeito indica uma alteração biológica num estágio ainda reversível e cujos níveis possam ser sugestivos de uma alteração fisiopatológica precoce (ex: determinação do ácido delta amino-

levulínico (ALA) na urina). Biomarcadores de suscetibilidade são parâmetros endógenos cujos níveis podem indicar uma particular suscetibilidade do indivíduo a um xenobiótico, ou seja, indicam quais os fatores que podem aumentar ou diminuir o risco individual no desenvolvimento da resposta do organismo decorrente da exposição a agentes químicos (Amorim, 2003).

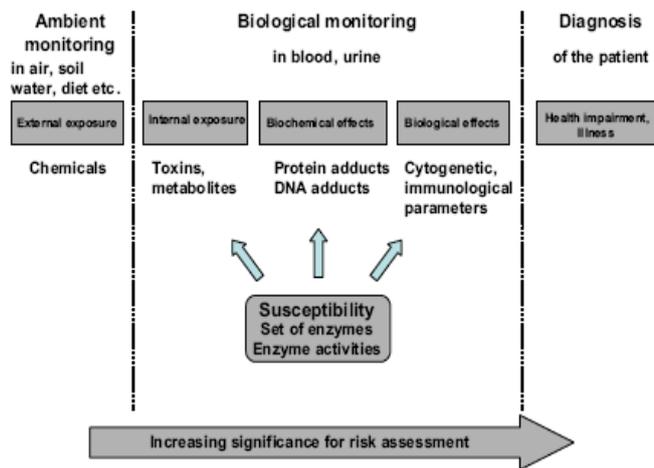
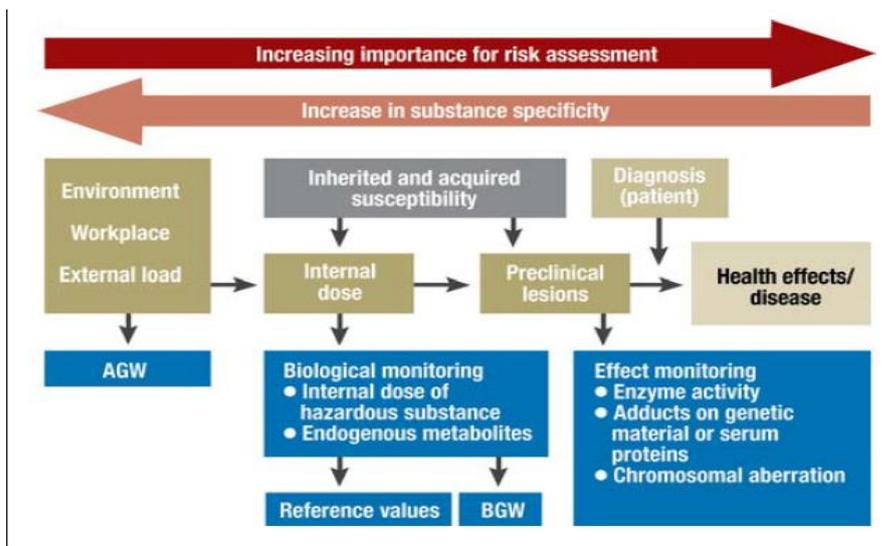


Figura 1. Esquema da monitorização ambiental e biológica (adaptado de Angerer Gündel, 1996)



From external to internal dose. AGW, workplace limit value; BGW, biological guidance value

Figura 2. Esquema de exposição do organismo a um tóxico ambiental/ocupacional (adaptado de Budnik, 2009)

A Toxicologia Ocupacional tem progredido extraordinariamente em resultado de vários avanços, concretamente i) o conhecimento toxicocinético dos poluentes, ii) o desenvolvimento de metodologias analíticas precisas e sensíveis capazes de quantificar sub-níveis de compostos e/ou seus metabolitos nos materiais biológicos humanos, iii) o desenvolvimento da Medicina do Trabalho, permitindo a observação dos trabalhadores por médicos especializados e sensibilizados para a necessidade de monitorização de biomarcadores de exposição e de efeito, indicadores da exposição aos poluentes e respetivos efeitos endógenos, respetivamente (Toxicologia Clínica), e iv) a crescente e restritiva regulamentação internacional sobre a presença de poluentes nos locais de trabalho, com o estabelecimento de níveis de exposição permitidos de cada vez mais baixos para garantir a maior segurança dos trabalhadores.

São vários os organismos internacionais que têm compilado dados de resultados experimentais e de estudos em humanos e com eles têm estabelecido níveis máximos de poluentes em ambiente laboral aos quais os trabalhadores poderão estar expostos durante toda a sua vida, estando subjacente a este conceito 8 h/dia, 5 dias/semana, durante 40 anos, sem correrem riscos apreciáveis para a sua saúde, bem como da sua descendência. Estes níveis ou valores limite de exposição aos metais são estabelecidos pela American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) são conhecidos por TLVs (Threshold Limit Values), e normalmente adoptados pelos Países, devendo as indústrias promover todas as condições para que sejam respeitados. É importante salientar que os TLVs têm vindo a ser analisados e revistos tanto pelas organizações nacionais como internacionais, tendo em vista os estudos experimentais e humanos que vão sendo publicados com informações atualizadas sobre mecanismos de acção dos poluentes e efeitos tóxicos provocados. Neste contexto, a Toxicologia Ocupacional é uma área eminentemente forense (Thorne, 2008).

No âmbito do tema desta dissertação, a toxicologia ocupacional tornou-se deveras importante uma vez que se tentou avaliar o risco a que os trabalhadores da pedra estavam sujeitos. Nesta dissertação há aspetos específicos da exposição ocupacional que devemos realçar. Assim, neste estudo há dois tipos de exposição que devem ser equacionados: i) exposição a céu aberto, nomeadamente na exploração do granito e também no seu polimento (pedreiras artesanais); ii) exposição em ambiente confinado, sobretudo no corte e polimento do granito (fábricas).

Para este trabalho selecionou-se a região Norte de Portugal, mais propriamente o concelho de Ponte de Lima como zona de estudo. Este concelho preza-se por ser a vila mais antiga de Portugal e é nele que a exploração do granito e a sua manipulação é mais representativa. Na verdade, esta vila situada no coração do Minho tem como uma das principais bases de subsistência a manipulação da pedra e a paisagem é marcada por edifícios em granito, tornando-se esta vila um cartão-de-visita para quem a procura.

Uma boa percentagem da população do sexo masculino deste concelho trabalha na extração e manipulação da pedra, quer em pedreiras artesanais que passam de geração em geração, quer em indústrias de pedra que se foram fixando e desenvolvendo nos últimos anos.

É de realçar que as pedreiras artesanais estão à face da estrada, marcando a paisagem, e tornando visível a potencial exposição dos trabalhadores às poeiras que os envolvem de forma densa.

A região de estudo situa-se na zona noroeste do concelho de Ponte de Lima, mais propriamente nas freguesias de Arcozelo, Rendufe e Labruja.

Este trabalho torna-se aliciante na medida em que tentamos perceber o nível de exposição a metais a que estes homens estão sujeitos, e o tipo de controlo que a medicina do trabalho tem desenvolvido ao longo dos anos. Em suma, qual será o risco a que estes indivíduos estão sujeitos?

1. Metais em estudo

1.1. Metais a considerar no estudo

A seleção dos metais a avaliar fundamentou-se em estudos prévios publicados sobre a constituição do granito (Ribeiro, 2005) bem como nos resultados que foram obtidos por nós numa avaliação prévia da constituição metálica de pequenas porções de rocha e pó recolhidas nas respetivas pedreiras, tal como é possível visualizar na Tabela 1. Foram selecionados dois metais maioritários, o silício e o alumínio, por serem os mais representativos da constituição do granito. Foram também selecionados três metais minoritários, chumbo, cádmio, e crómio; os dois primeiros, devido aos seus efeitos particularmente tóxicos no organismo e o crómio por ser um metal altamente controverso, cujos estudos devem ser aprofundados. A importância da biomonitorização

dos metais minoritários selecionados está alicerçada nos numerosos estudos ocupacionais que continuam a publicar-se, bem como na validação de técnicas de análise que possam fornecer resultados fiáveis na avaliação do risco dos trabalhadores (Olmedo *et al.*, 2009).

Tabela 1. Concentração de metais minoritários em amostras de granito e pó colhidas em diferentes pedreiras

	Cádmio µg/kg	Crómio µg/g	Níquel µg/g	Chumbo µg/g
Pedreira 1 (Rendufe) Pó muito fino	51,2	10,4	66,5	26,5
Pedreira 2 (Sequeiros) Pó grosseiro	157,6	9,5	4,6	28,2
Pedreira 3 Pó médio	65,4	8,0	15,2	31,3
Pedreira 4 (Rotunda) Pó muito grosseiro	67,4	7,9	18,0	31,6
Fábrica 5 (Moselos) Pó fino e médio	64,1	7,2	14,2	32,2
Fábrica 6 (Arcozelo) Extracção Pó grosseiro	69,7	7,2	13,8	30,1
Fábrica 6 (Arcozelo) Transformação Pó muito fino	81,9	8,8	13,8	30,1
Fábrica 7 Grão fino Pó muito fino	71,3	4,0	172,0	32,0
Fábrica 7 Pó médio	82,9	6,8	35,2	33,1

1.2. Alumínio

1.2.1. Toxicidade do alumínio

O alumínio é o terceiro metal mais abundante na crosta terrestre, depois do oxigênio e do silício. O alumínio existe naturalmente em silicatos, criolita e outras rochas (Krewski *et al.*, 2007). A população em geral tem elevado contacto com este metal, nomeadamente em utensílios domésticos, material elétrico, medicamentos, produtos fitofarmacêuticos, entre outros.

No contexto deste trabalho, é a exposição ocupacional que nos interessa avaliar, especificamente a sua inalação continuada através das poeiras resultantes da manipulação da pedra (WHO, 1997). A inalação de partículas de poeiras de alumínio por trabalhadores é uma preocupação constante de saúde pública. Na verdade, os valores de referência deste metal em material biológico humano foram variando ao longo dos anos: entre 1980 e 1985 o intervalo de referência era de 1,9 a 10,3 µg/L no

soro e no plasma, enquanto entre 1986 e 1995 o intervalo decrescia para 1,08 a 3,25 µg/L. Estes valores têm tendência a tornar-se cada vez mais baixos uma vez que o alumínio é um metal que inspira reservas, sendo, por isso, necessário estabelecer valores de exposição cada vez mais baixos. A Tabela 2 sumariza os valores em ambientes laborais e outros em diversos países e para diferentes formas químicas do alumínio.

Tabela 2. Valores limite de exposição (adaptado de Krewski *et al.*, 2007)

Established exposure limits for aluminium^a.

Pathway	Exposure Limit	Source of standard
Occupational Inhalation	2 mg/m ³	Aluminium oxide - Poland, TWA MAC
	4 mg/m ³	Aluminium oxide - Switzerland, 2 week TWA
		Respirable dust - Sweden, TWA
	5 mg/m ³	Respirable dust - UK, TWA
		Respirable fraction - OSHA-PEL, 8 hr TWA
	6 mg/m ³	Respirable fraction - NIOSH REL, 10 hr TWA
	10 mg/m ³	Aluminium oxide - Russia, TWA
		Metal dust - ACGIH TLV, 8 hr TWA
		Welding fume - ACGIH, TWA
		Aluminium oxide - ACGIH, TWA
Total dust - NIOSH REL - 10 hr TWA		
Aluminium oxide - Belgium - TWA		
Aluminium oxide - Denmark - TWA		
Aluminium oxide - France - VME		
Total dust - Sweden - TWA		
Total inhalable dust - UK - TWA		
15 mg/m ³	Total dust - OSHA-PEL - 8 hr TWA	
	16 mg/m ³	Aluminium oxide - Poland, STEL MAC
General Population Oral Intake	1 mg/kg-week	FAO/WHO PTWI
	2 mg/kg-day	U.S. MRL (intermediate duration)
Population Drinking Water	0.05 to 0.2 mg/L	U.S. Secondary Drinking Water Regulation
	0.2 mg/L	WHO - Drinking Water Guideline
		European Union - Drinking Water Directive
Injection Fluids	10 µg/L	Australia - Drinking Water Guideline
		U.S. Association for the Advancement of Medical Instrumentation

O alumínio é um metal muito estudado sob o ponto de vista toxicológico, podendo provocar alterações a nível pulmonar, renal, ósseo e neuronal (Krewski *et al.*, 2007).

A nível pulmonar, o alumínio pode provocar fibrose, devendo-se este efeito a uma deposição excessiva de poeiras neste órgão (Elinder, 1991). É de referir que a fibrose pulmonar pode levar a situações mais dramáticas como o cancro do pulmão. O alumínio não é considerado um metal cancerígeno no entanto, a “produção do alumínio” é classificada como cancerígena pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (Krewski *et al.*, 2007).

O alumínio também provoca outros efeitos tóxicos, nomeadamente nefrotoxicidade e osteomalacia, e é assumida uma possível relação entre o metal e a doença de Alzheimer, amplamente estudada nos últimos anos (Rondeau *et al.*, 2008). Rondeau *et al.* (2008) tentaram estabelecer uma relação entre a exposição ao alumínio ou sílica na água para beber e o risco de declínio cognitivo, demência e Alzheimer. Este e outros estudos reforçam a hipótese que a ingestão de alumínio aumenta a expressão de proteína amilóide, um passo que pode ser crítico para o desenvolvimento da doença de Alzheimer.

Halatek *et al.*, 2008, realizaram um estudo em trabalhadores expostos ao alumínio por via inalatória, propondo-se tentar avaliar a alteração da função pulmonar através do doseamento da proteína CC16 no soro, considerada um biomarcador periférico de lesão pulmonar. Fizeram também uma avaliação subjectiva de parâmetros neurológicos na tentativa de relacionar a exposição ao alumínio com neurotoxicidade. Foi encontrada uma forte correlação inversa entre níveis séricos de alumínio e concentrações de CC16. Também os trabalhadores com baixas concentrações de CC16 demonstraram sintomas neurológicos subjectivos e anomalias neurofisiológicas.

Também os trabalhadores mais jovens, e portanto com um período de tempo de exposição mais curto ao metal, apresentaram sintomas mais evidentes e anomalias neurofisiológicas do que os indivíduos que trabalhavam há um período de tempo mais longo. Desta forma, os investigadores concluíram que os sintomas subclínicos neurológicos e os baixos níveis séricos de CC16 podem estar associados a uma interiorização dos iões de alumínio com frações de lípidos no epitélio pulmonar, que em parte ajudará os iões de alumínio a atravessar a barreira hemato-encefálica.

1.2.2. Toxicocinética do alumínio

Diversos estudos evidenciam que a inalação crónica de partículas de pó contaminado com alumínio pode provocar uma acumulação deste metal no organismo, mesmo em pessoas saudáveis, sendo a sua eliminação muito lenta (Jeronymo e Fujimura, 1998).

Em exposição ocupacional, o alumínio é absorvido fundamentalmente via pulmonar e em menor extensão por via dérmica. Segundo Kreswski *et al.*, 2007 a biodisponibilidade do alumínio por exposição inalatória é de cerca de 2%, enquanto numa exposição oral é muito inferior (0,1 a 0,4%).

A inalação do alumínio por trabalhadores da pedra é a via de absorção mais expressiva, sobretudo se não se protegerem com máscaras adequadas.

Após inalação, o alumínio, dependendo do tamanho das partículas, atinge a circulação sanguínea através dos capilares. No plasma, cerca de 80 a 90% do alumínio liga-se à transferrina, uma proteína transportadora de iões com recetores em diversos tecidos (Krewinsky *et al.*, 2007). Alguns investigadores consideram que a transferrina é responsável por um mecanismo de transporte do alumínio através da barreira hematoencefálica (Van Landeghem *et al.*, 1998).

A distribuição do alumínio no organismo humano não é uniforme e depende da idade e das fontes de exposição. Por ordem decrescente, o metal deposita-se em regra nos ossos, pulmão, músculo, fígado, cérebro, coração, rim e baço (Krewinsky *et al.*, 2007).

Cerca de 95% do alumínio presente na corrente sanguínea é eliminado pelos rins e cerca de 2% pela bile (Krewinsky *et al.*, 2007). Assim, a medição da concentração de alumínio na urina fornece indicações sobre o nível de exposição ocupacional ao metal. De facto, tem sido possível estabelecer uma correlação entre os níveis de alumínio na urina de trabalhadores e os seus níveis no ar, ao contrário dos níveis séricos (Krewinsky *et al.*, 2007).

1.2.3. Revisão de estudos de biomonitorização do alumínio

Elinder *et al.*, 1991, realizaram um estudo com um grupo de trabalhadores de fundição, com o objetivo de estudar a acumulação de alumínio no organismo. Para tal, os investigadores procederam ao doseamento do alumínio em amostras de sangue e urina e em amostras de biópsia do osso ilíaco, obtidas de trabalhadores que estavam expostos ao metal há um longo período de tempo. O doseamento de alumínio em amostras de urina e sangue dos trabalhadores mostrou que, quando comparados com indivíduos não-expostos, os primeiros tinham valores francamente mais elevados. Dois indivíduos que trabalhavam há cerca de 20- 21 anos, ou seja, um período de exposição extenso, apresentavam valores de excreção urinária entre 107 a 351 $\mu\text{g Al/L}$, o que equivale a uma concentração dez vezes superior a uma concentração de um indivíduo não exposto ocupacionalmente. Os níveis de alumínio no sangue foram 4-53 $\mu\text{g Al/L}$, muito inferiores aos encontrados na urina. Estes investigadores concluíram que uma

exposição ao alumínio por inalação a longo termo pode originar a acumulação de uma grande concentração deste metal no organismo e que a eliminação é muito lenta, verificando-se durante vários anos após cessação da exposição.

Rossbach *et al.*, 2006, monitorizaram um grupo de soldadores que estavam expostos a alumínio. Neste estudo foram biomonitorizados 62 soldadores de alumínio com idades compreendidas entre 23 e 51 anos. A biomonitorização foi feita anualmente desde 1999 até 2003 por determinação do alumínio em amostras de plasma e urina antes e depois da exposição ao metal. Assim, as amostras designadas “preshift” foram recolhidas antes de começarem um dia de trabalho. As amostras “postshift” foram recolhidas depois de um dia de trabalho.

Na altura de todas as colheitas de amostras de sangue e urina foi feito um questionário relativo às possíveis exposições ao alumínio dentro e fora do local de trabalho: quais as condições de trabalho, quantas horas de trabalho por dia, e quais as possíveis exposições ao alumínio fora do ambiente de trabalho. O estudo foi complementado pela medição individual de poeiras inaladas. No grupo de indivíduos expostos ao alumínio, as amostras de ar foram recolhidas em zonas onde habitualmente costumavam permanecer, ou seja, zonas onde respiravam as partículas de alumínio. As amostras foram recolhidas através de um filtro que posteriormente foi analisado gravimetricamente.

Os valores determinados de exposição interna dos soldadores foram comparados com os valores de um grupo de trabalhadores (60 indivíduos), com idades compreendidas entre 21 e 51 anos e que não estavam expostos a poeiras de alumínio, durante o ano de 1999, 2001 e 2003.

A monitorização das poeiras no ambiente mostrou que os soldadores de alumínio estavam expostos a valores entre 0,11 mg/m³ e 15,60 mg/m³. Relativamente à monitorização biológica, a concentração de alumínio em amostras de plasma dos soldadores encontrava-se entre 0,7 µg/L e 51,0 µg/L. Na urina, os valores de alumínio obtidos encontravam-se entre 1,4 µg/g e 355,4 µg/g de creatinina. A comparação destes valores com os valores controlo mostrou uma diferença estatisticamente significativa.

Os autores tentaram perceber se havia alguma alteração das concentrações de Al entre as amostragens pre e postshift, ou seja, antes e depois de um dia de trabalho e

verificaram que não havia qualquer alteração, quer nas amostras de urina quer nas amostras de plasma. Estes resultados sugerem que quando ocorre uma exposição ocupacional prolongada as amostragens temporárias são de menor importância uma vez que a eliminação do alumínio é muito lenta, isto é, o tempo de semi-vida do alumínio pode durar dias a meses ou anos.

Neste trabalho observou-se uma diminuição de alumínio na urina dos trabalhadores entre 1999 e 2003. Este decréscimo da concentração de alumínio ao longo dos anos também se verificou nas amostras de plasma. Esta redução da exposição interna pode ser explicada pelo aumento dos cuidados na higiene e segurança no trabalho e alterações nos processos de produção.

Deste estudo conclui-se que, em paralelo com a monitorização das poeiras no ambiente de trabalho, é fundamental avaliar a exposição interna dos trabalhadores através de uma monitorização biológica contínua. Essa monitorização deve basear-se na determinação do alumínio em amostras de urina uma vez que é um biomarcador com maior sensibilidade e robustez do que as amostras de plasma.

Kiesswetter *et al.*, 2007, realizaram um estudo longitudinal para avaliar potenciais efeitos neurotóxicos do alumínio, nomeadamente a correlação entre a exposição ocupacional ao alumínio e o desempenho neuro-comportamental de soldadores na indústria de camiões e comboios, durante quatro anos.

O estudo baseou-se na medição repetida dos parâmetros neste período e incidiu sobre 20 trabalhadores de fundição e um grupo controlo da mesma indústria, envolvidos noutras atividades. Os parâmetros medidos foram poeiras no ar, e alumínio no plasma e urina pré- e pós-exposição. O estudo visava essencialmente a validação da monitorização do alumínio como indicador de uma exposição a longo prazo, e por outro lado, as mudanças provocadas a longo prazo no desempenho neuro-comportamental em soldadores de alumínio, quando comparados com um grupo controlo. Os dados neurocomportamentais foram determinados com o apoio de testes específicos fornecidos pela Comissão Europeia, que incluem avaliação da inteligência verbal, raciocínio lógico, comportamento psicomotor, memória e atenção.

No local de trabalho foi determinada uma média de poeiras totais durante a soldadura entre 5 a 8 mg/m³. Os valores de alumínio determinados em amostras de urina

e plasma (preshift: 88-140µg Al/g creatinina na urina e 13-16 µg Al/L plasma) mostraram, por um lado, uma estabilidade a longo prazo e por outro uma elevada sensibilidade aquando das alterações de exposição. Estes autores observaram que os soldadores que tinham vindo a trabalhar nesta profissão há cerca de 15 anos, não apresentavam níveis significativamente maiores, assim como sintomas, quando comparados ao grupo controlo. Com análise estatística mais detalhada (análise da covariância e regressão linear) percebeu-se que nem a correlação entre a biomonitorização e as variáveis da performance, nem a diferença significativa entre trabalhadores expostos a alumínio e o grupo controlo, se mantiveram durante o período de 4 anos de estudo.

No entanto, é de referir as diferenças interindividuais neste estudo e que contribuem para performances neurocomportamentais diferentes. Além disso, o facto de não terem ocorrido alterações no desempenho neurocomportamental e as diferenças encontradas serem insignificantes, leva a concluir que os processos degenerativos provocados pelo alumínio são pouco prováveis ou então aconteceram antes do estudo, ou, simplesmente pararam no início deste.

Em 2009 foi publicado um segundo estudo sobre a exposição de alumínio e saúde neurocomportamental de soldadores de alumínio na indústria automóvel, também ao longo de 4 anos, dando continuidade ao estudo descrito anteriormente (Kiesswetter *et al.*, 2009). Enquanto o primeiro estudo na indústria automóvel examinou o desenvolvimento neurocomportamental de soldadores de alumínio de idade compreendida entre 41 e 45 anos, o presente estudo na indústria automóvel fez o acompanhamento de indivíduos com idades entre 35 e 39 anos.

Embora no primeiro estudo nenhuma alteração de evolução neurocomportamental fosse detetada, mesmo havendo uma exposição mais acentuada ao alumínio, isto não implica que se possa excluir efeitos posteriores ou em diferentes fases da vida.

Estes investigadores procederam de forma idêntica à do primeiro estudo. O estudo longitudinal foi baseado em repetidas medições que foram sendo feitas ao longo de 4 anos. O grupo teste era constituído por 92 soldadores do sexo masculino que trabalhavam na indústria automóvel. O grupo controlo era constituído por 50 trabalhadores da mesma unidade, mas que desempenhavam tarefas sem exposição ao

alumínio. As medições repetidas incluíram a determinação do total de poeiras no ar, e o doseamento de alumínio no plasma e urina antes e depois da exposição ao alumínio (pre e postshift).

Relativamente ao estudo das alterações neurocomportamentais, os investigadores guiaram-se por métodos e sistemas de testes já conhecidos, avaliando desde os sintomas neurotóxicos, à inteligência verbal, memória, atenção, entre outros. Os investigadores tomaram em linha de conta e analisaram diversas variantes, nomeadamente a idade, o consumo de álcool, etc. Além disso, a inter-relação, confiabilidade e validade das medidas de biomonitorização foram examinados.

No presente estudo, os investigadores encontraram valores inferiores de poeiras no ambiente laboral, na ordem de 0,5-0,8 mg/m³, assim como das concentrações de alumínio nas amostras biológicas dos trabalhadores, 23-43 µg de Al/g de creatinina na urina e 5-9 µg de Al/L de plasma (medição preshift).

Neste estudo foi possível apurar uma menor exposição ao alumínio por parte dos trabalhadores. Contudo, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa de exposição interna entre o grupo de trabalhadores expostos e o grupo controlo.

Com este estudo não foi demonstrado que a evolução da performance neurocomportamental ao longo dos 4 anos diferisse entre os dois grupos em estudo.

Os investigadores concluíram que os resultados de biomonitorização do alumínio e neurocomportamentais obtidos neste segundo trabalho estão em linha com os resultados do primeiro estudo publicado. Aplicando os mesmos modelos para avaliar o desempenho neurocomportamental dos soldadores de alumínio, não houve evidência de efeitos adversos em ambos os estudos.

Muitos outros estudos de biomonitorização ocupacional ao alumínio têm sido realizados. Numa revisão de Krewinsky *et al.*, 2007, pode encontrar-se uma grande fonte de resultados sobre este assunto, tanto em humanos como em modelos experimentais.

1.3. Cádmio

1.3.1. Toxicidade do cádmio

O cádmio foi descoberto em 1817 como uma impureza da calamina (carbonato de zinco), derivando daí a sua designação.

O cádmio está presente no ambiente devido a contaminações provocadas principalmente por explorações mineiras, indústria de corantes e pilhas, fundições, como estabilizante de plásticos, em galvanizações e outras atividades industriais.

O cádmio é um metal pesado que mesmo com concentrações residuais é capaz de produzir efeitos tóxicos, nomeadamente a nível pulmonar, renal, hepático, cardiovascular e reprodutivo.

As intoxicações ocupacionais pelo cádmio foram já amplamente documentadas, sendo conhecidas as consequências patofisiológicas resultantes da acumulação deste metal no organismo (Hodgson *et al.*, 2004 e Williams *et al.*, 2000).

A principal exposição aguda a cádmio faz-se por via inalatória em ambientes contaminados normalmente sob a forma de fumos de óxido de cádmio (Liu *et al.*, 2008; Paoliello *et al.*, 2008), podendo causar pneumocite e edema pulmonar.

Em contrapartida, a exposição crónica é provocada não só por via gastrointestinal, a partir da água contaminada e outros alimentos, mas também por via

inalatória, por exemplo através de inalação diária de pós e poeiras em pedreiras e outras atividades industriais. Neste tipo de exposição, os efeitos tóxicos são também preocupantes uma vez que a excreção do metal é bastante lenta, com um tempo de semi-vida de 30 anos no homem, originando acumulação no organismo.

A inalação do cádmio promove alguns fenómenos tóxicos, nomeadamente patologias obstrutivas pulmonares. Uma exposição lenta ao cádmio pode provocar bronquite crónica, fibrose progressiva com acompanhamento de danos alveolares (p ex, enfisema).

Por outro lado, é de referir que o órgão mais afetado pela toxicidade do cádmio é o rim, sendo os túbulos proximais o local inicial da ação tóxica. Numa fase inicial, ocorre degeneração celular tubular renal (processo reversível), que pode progredir para atrofia tubular e fibrose intersticial, sendo este um processo irreversível. A intoxicação pelo cádmio é avaliada pelo dano renal com proteinúria. Esta avaliação é complementada pelo doseamento na urina de algumas proteínas de baixo peso molecular, como por exemplo a β_2 -microglobulina, Metalotioneína (MT), Retinol Binding Protein (RBP), N-Acetil-Glucosamina (NAG) assim como pelo doseamento de proteínas de alto peso molecular como a albumina e a transferrina. A excreção destas proteínas tem sido usada como biomarcadores de efeito de alguns metais como o cádmio, alumínio e chumbo (Liu *et al.*, 2008; Paoliello *et al.*, 2001; Olmedo *et al.*, 2009; Gil *et al.*, 2010).

Outros fenómenos tóxicos têm sido descritos, contudo são meramente secundários quando comparados com os principais efeitos tóxicos de uma exposição prolongada ao cádmio (a toxicidade renal e pulmonar). A estes efeitos nefastos também podem associar-se problemas ósseos devido à fraca mineralização nos ossos com elevada frequência de fraturas, aumento de osteoporose e dor (Atkins P. et Jones L., 2001). Este processo está associado à doença de Itai-Itai (Tsuchiya, 1969).

Por fim, destacam-se também alguns efeitos cardiovasculares e hipertensão provocados por uma exposição crónica ao cádmio, conforme observado em alguns estudos epidemiológicos (Gallagher & Meliker, 2010).

1.3.2. Toxicocinética do cádmio

Em exposições ocupacionais a absorção pulmonar é a principal via de entrada do cádmio (Liu *et al.*, 2008).

Em refinarias de minérios de zinco e chumbo, no fabrico de cimento, nas pedreiras, minas e indústrias envolvendo a combustão de combustíveis fósseis, os valores de partículas no ambiente atingem 2 a 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Liu *et al.*, 2008).

Por via inalatória, o cádmio pode atingir a corrente circulatória numa extensão entre 5 e 35%. No entanto, a quantidade de cádmio absorvido por esta via depende, como para outros metais, de alguns fatores como o tamanho das partículas, a forma química e a solubilidade das partículas retidas.

Associado à absorção por via respiratória surge o cádmio proveniente do fumo dos cigarros, sabendo que 50% de cádmio sob a forma de fumo do tabaco é absorvido via pulmonar. Este é um aspeto relevante a ter em conta na interpretação dos resultados obtidos em trabalhadores e população controlo nos estudos de biomonitorização.

O cádmio inalado atinge a circulação sanguínea usualmente sob a forma de complexos de cádmio-cisteína (Godt, 2006). A cisteína está presente em boa quantidade na metalotioneína, que é uma proteína de baixo peso molecular e com capacidade para se ligar a metais pesados (Bourdineaud *et al.*, 2006)

O cádmio após entrar na corrente sanguínea é conduzido até ao fígado. Neste órgão, o cádmio induz a síntese de metalotioneínas, cuja função é proteger o organismo

de intoxicação por metais pesados, nomeadamente o cádmio, sequestrando-o (Miura, 2009, Liu *et al.*, 2008). Esta ligação entre cádmio e metalotioneína é uma forma de defesa que o organismo humano desenvolveu de forma a suprimir ou atenuar a toxicidade do cádmio e de outros metais. A síntese da metalotioneína é estimulada/induzida aquando da entrada do cádmio nas células humanas (os hepatócitos) e promove a ligação de aproximadamente 80% do cádmio livre (Miura, 2009). Então, as metalotioneínas, ricas em grupos –SH, evidenciam uma grande afinidade para o cádmio (Schnellman, 2008), formando o complexo cádmio – metalotioneína (Cd-MT). É através da corrente sanguínea que este complexo chega ao rim. Devido ao seu baixo peso molecular, o complexo Cd-MT é livremente filtrado no rim pelos glomérulos, e passa de imediato ao túbulo proximal, onde é reabsorvido pelas células epiteliais. Já dentro das células epiteliais do túbulo proximal, o complexo Cd-MT é rapidamente degradado por enzimas lisossomais, libertando o cádmio e a metalotioneína. Este processo volta a estimular a síntese de metalotioneína (Miura, 2009) que volta à circulação sanguínea. E, por outro lado, o cádmio livre causa toxicidade renal (Liu *et al.*, 2008).

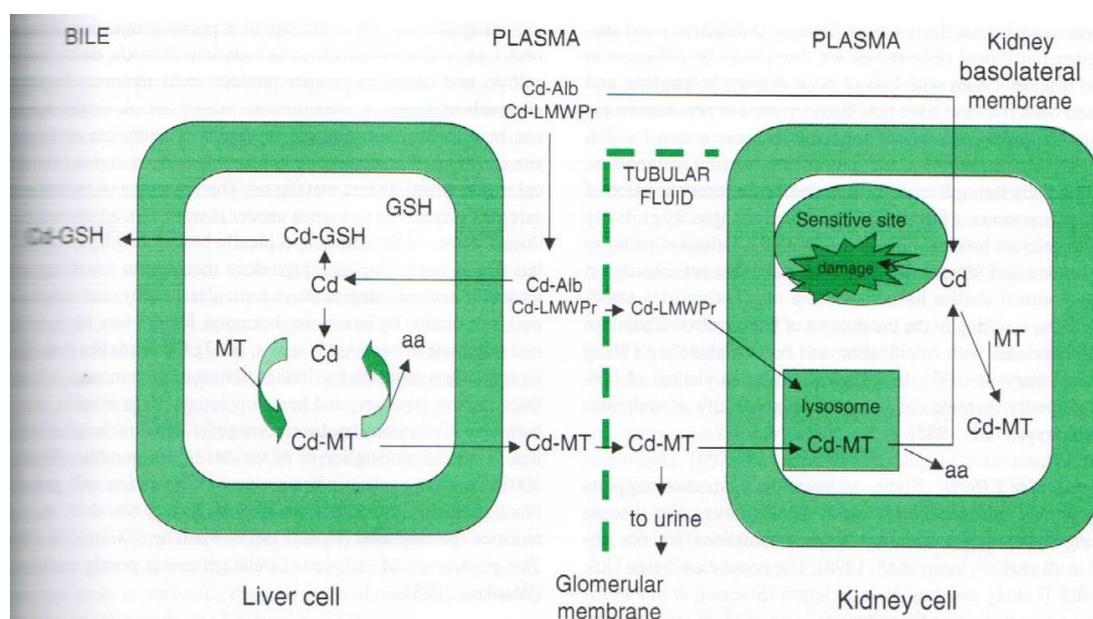


Figura 3. Transporte, ligação proteica e toxicidade do cádmio (adaptado de Liu *et al.*, 2008).

O cádmio é maioritariamente excretado por via urinária, o que faz da urina o material biológico de eleição para caracterizar a exposição a este metal. Contudo, convém salientar que o cádmio tem um tempo de semi-vida muito elevado, o que significa que o metal é excretado lentamente do organismo, depositando-se em reservatórios, como o esqueleto, onde tem um tempo de semi-vida de cerca de 30 anos.

Uma exposição prolongada ao cádmio provoca danos renais, nomeadamente disfunção tubular renal, que pode ser avaliada pelo aumento da excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular, como a β_2 -microglobulina.

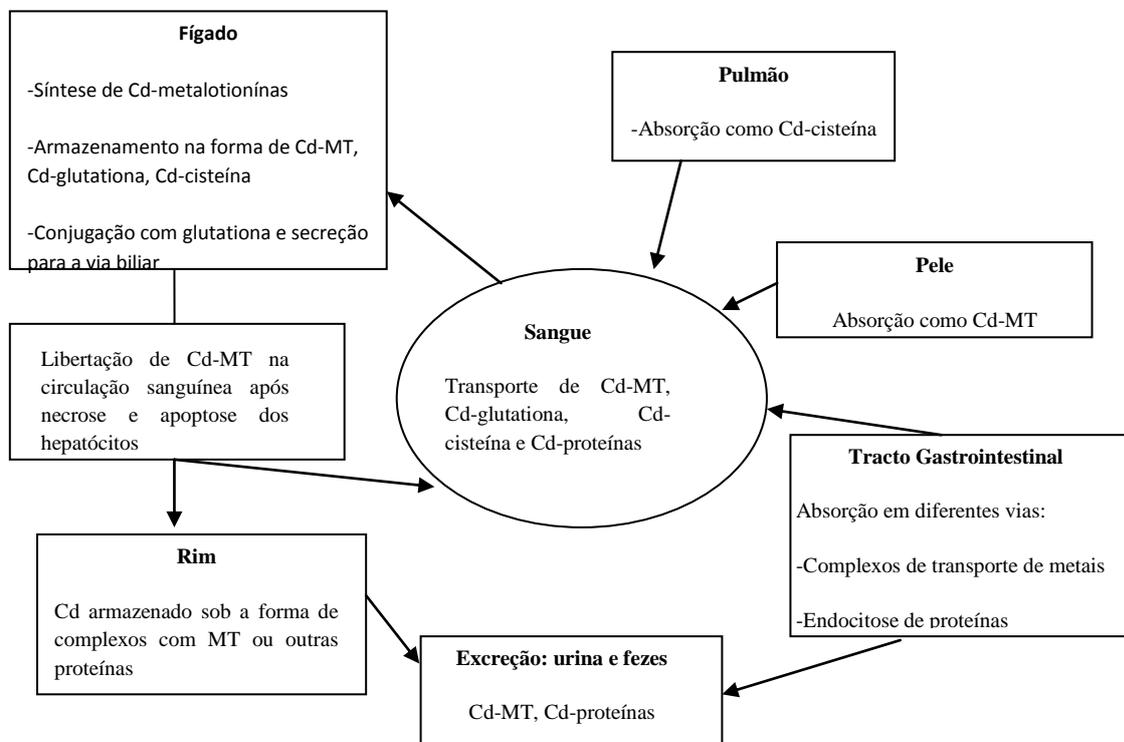


Figura 4. Metabolismo e distribuição de cádmio no organismo humano (adaptado de Godt., *et al*, 2006)

1.3.3. Revisão de estudos de biomonitorização do cádmio

O cádmio é um metal que tem sido estudado ao longo dos anos devido aos seus efeitos tóxicos e a sua capacidade de acumulação no organismo humano. Serão abordados de seguida alguns estudos feitos numa vertente de toxicologia ocupacional.

Está estimado que na Índia cerca de 70.000 pessoas trabalham em minas onde se extraem metais como o cádmio, chumbo, alumínio, entre outros. Estes indivíduos estão sujeitos a uma exposição diária e continuada, isto é, oito horas por dia durante seis dias por semana, a poeiras que contêm na sua constituição metais. A absorção dos metais é predominantemente por via inalatória, e em menor escala por via dérmica. Dhattrak e Nandi (2009) para avaliarem a exposição ao cádmio procederam à biomonitorização do metal em amostras de sangue e urina de trabalhadores expostos e completaram a avaliação com o doseamento de algumas proteínas e enzimas em amostras de urina, por exemplo, RBP e β_2 -microglobulina. Os autores verificaram que, quando os valores de cádmio na urina se encontravam aumentados, havia uma significativa sobrecarga de cádmio no organismo, podendo originar possíveis danos renais. Os investigadores concluíram que os mineiros estão expostos a grandes quantidades de cádmio e alertam para a necessidade de monitorização periódica desta classe profissional, principalmente sob o ponto de vista de monitorização biológica (doseamento de cádmio em amostras de sangue e urina). Porque as manifestações clínicas de uma intoxicação pelo cádmio são pouco expressivas e inespecíficas, é crucial uma monitorização frequente de forma a poder identificar a intoxicação num estágio precoce.

Gil *et al.*, 2010 realizaram a biomonitorização do cádmio e outros metais (crómio, manganês, níquel e chumbo) no sangue total, urina, saliva e cabelo de uma população que estava ocupacionalmente exposta a estes metais. O estudo incidiu sobre

178 indivíduos, sendo recolhidas amostras de sangue total e urina bem como realizado um questionário sobre a sua ocupação e estilo de vida e alimentação. Este questionário tinha como objetivo despistar algumas situações que pudessem interferir com a exposição ocupacional a que os sujeitos estavam a ser alvo. Os valores de cádmio doseados em amostras de sangue na população em estudo foram de $0,49 \pm 0,61 \mu\text{g/L}$ (média \pm desvio padrão) e na urina foram de $0,25 \pm 0,28 \mu\text{g/g}$ creatinina. Foram estabelecidas correlações entre as concentrações de cádmio no sangue e na urina com diferentes parâmetros como o género e com o tabagismo. Não foi detetada qualquer associação significativa entre o género e as diferentes concentrações de cádmio. Quanto ao tabaco, estava diretamente associado com níveis mais altos de cádmio no sangue. Apesar de os níveis de metais encontrados em todas as amostras biológicas colhidas apresentarem uma grande variação, as concentrações médias obtidas dos cinco metais (inclusive o cádmio) eram baixas quando comparadas com outros estudos reportados pela literatura (Gil *et al.*, 2010). Este decréscimo marcado da exposição a metais pesados é observado em países industrializados que têm práticas de higiene e segurança no trabalho mais adequadas.

Em 2001, Paoliello *et al.* debruçaram-se sobre a toxicidade do cádmio e do chumbo, tendo como base de estudo cerca de 295 crianças do estado de São Paulo, as quais viviam relativamente perto de uma mina. Nesta mina eram extraídos depósitos de ouro, prata e chumbo e estava a ser explorada desde o século XVII até 1995, ano em que foi desativada. O objetivo deste estudo era biomonitorizar as crianças que viviam perto destas minas uma vez que o seu metabolismo é mais acelerado que os adultos. Os investigadores procederam à recolha de amostras de sangue nas crianças, nas quais foram doseados o cádmio e chumbo. Verificou-se que estas crianças apresentavam níveis de cádmio muito acima do estabelecido, nomeadamente $11.25 \mu\text{g/dL}$ nas crianças com residência mais próxima das minas e $4.4 \mu\text{g/dL}$ em distâncias superiores, quando comparado com o valor máximo admitido para cádmio $0,5 \mu\text{g/dL}$. A partir destes valores os investigadores concluíram que as crianças ainda estavam perigosamente expostas ao cádmio, mesmo após desactivação da mina.

1.4. Crómio

1.4.1. Toxicidade do crómio

Crómio deriva da palavra grega “chroma” que significa colorido e que está relacionado com os diferentes estados de oxidação que o crómio assume e que lhe conferem diferentes cores. Assim sendo, este elemento é utilizado para o fabrico de aço e de pigmentos, é usado em metalurgia para aumentar a resistência à corrosão e conferir um acabamento brilhante às ligas metálicas, entre outras atividades.

O crómio é parte constituinte do mineral “crocoite”, e por essa razão é tão fácil encontrar este metal em níveis elevados na exploração de minas. O crómio também está presente em grande quantidade em fundições e usos industriais como a galvanoplastia.

O crómio no estado de oxidação 3^+ é um elemento essencial ao nosso organismo, intervindo no metabolismo do colesterol, ácidos gordos e na manutenção dos níveis de glicose. É um cofator da insulina, na medida em que potencia a sua ação e, por isso mesmo, é denominado de “fator de tolerância à glicose”. Apesar da essencialidade atribuída ao crómio trivalente há uma grande controvérsia associada à absorção e ação tóxica deste metal no nosso organismo, sendo por isso importante monitorizar a exposição a este elemento (Zhang, 2011).

As principais vias de exposição ocupacional ao crómio são a via pulmonar, por inalação de partículas e poeiras na indústria metalúrgica, e a via cutânea na indústria química. A via gastro-intestinal está associada ao consumo alimentar habitual, geralmente com níveis vestigiários de crómio, e a situações acidentais, principalmente por contaminação dos alimentos.

O Cr (VI) provoca um espectro de efeitos tóxicos no organismo, nomeadamente irritação no tracto respiratório, ulcerações e perfurações do septo nasal, rinite atrófica, pólipos nasais, cancro nasal e pulmonar, lesões renais (tanto a nível tubular como glomerular), dermatoses e por vezes asma (Carlisle *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2008).

Vários estudos demonstram que a toxicidade do crómio depende do seu estado de oxidação, sendo o Cr (VI) mais tóxico que o Cr (III). Considera-se que uma das razões para o crómio hexavalente ser mais tóxico se baseia na sua capacidade de transpor a membrana das células. Na verdade, o Cr (VI) existe como cromato tetraédrico que se assemelha a aniões como o sulfato e o fosfato, e que atravessam a membrana das células através dos canais proteicos. Por outro lado, o Cr (III) forma complexos octaédricos e não consegue penetrar nas células, o que diminui drasticamente a sua toxicidade. É de referir que no organismo humano o Cr (VI) é reduzido extracelularmente a Cr (III) e conseqüentemente diminui a penetração do crómio nas células, podendo consistir num mecanismo de defesa (Röling, 2006).

O crómio hexavalente que entra nas células sofre redução intracelular a Cr (III), com conseqüente oxidação de pequenas moléculas como a glutatona, e macromoléculas como o DNA (Valko, 2006; Valko, 2007). O Cr (III) resultante forma complexos com moléculas intracelulares. Os complexos formados podem induzir alterações na expressão genética e mutações, das quais podem resultar lesões no DNA e inibição da síntese proteica, podendo originar processos de carcinogénese.

As formas insolúveis de Cr (VI), como o cromato de zinco e o cromato de chumbo, são os carcinogénios mais fortes, provavelmente devido à sua persistência/permanência dentro dos pulmões (Carlisle, 2000).

1.4.2. Toxicocinética do crómio

A toxicocinética dos compostos de crómio depende do estado de oxidação do crómio e da natureza da ligação no composto. Em geral, os compostos de origem natural apresentam-se no estado de oxidação trivalente, e os compostos de origem industrial apresentam-se no estado hexavalente.

Em ambiente laboral, a principal via de introdução de crómio hexavalente e trivalente no organismo é a respiratória, através de poeiras, vapores e fumos.

Contudo, a absorção de crómio pelo organismo depende do tamanho das partículas, da solubilidade das mesmas e da valência do crómio, já que o Cr (VI) atravessa com maior facilidade as membranas celulares, o que não acontece com o Cr (III) (Hedberg *et al.*, 2010). Portanto, nem sempre a maior concentração de crómio é sinónimo de uma maior absorção e, conseqüentemente de uma maior exposição. Vapores e poeiras de Cr (VI) hidrossolúvel são absorvidos em todo o trato respiratório. As partículas de Cr (VI), dependendo das suas características físicas, são também absorvidas.

Partículas com diâmetro inferior a 2 µm penetram até aos alvéolos pulmonares e as de maior tamanho são depositadas na mucosa nasal, traqueia e brônquios e expetoradas pela ação de cílios que revestem o trato respiratório (WHO, 2009). As partículas contendo crómio podem ser retidas nos pulmões durante anos (Liu *et al.*, 2008).

O crómio após ser absorvido é transportado pelo sangue para vários órgãos e tecidos, especialmente o fígado, o rim, o baço, e o pulmão. O Cr (III) liga-se principalmente a proteínas séricas, especialmente a transferrina. Por outro lado, o Cr (VI) penetra rapidamente nos eritrócitos. Uma vez nas células, o crómio hexavalente é reduzido intracelularmente pelo ácido ascórbico, glutatona, e/ou cisteína a crómio trivalente. Pensa-se que a toxicidade do crómio hexavalente resulta dos danos nos componentes celulares durante este processo, incluindo a geração de radicais livres, a quebra na cadeia de DNA e aberrações cromossómicas.

O crómio absorvido nos pulmões é preferencialmente excretado pelos rins através da urina e uma parte é excretado através da via fecal.

1.4.3. Revisão de estudos de biomonitorização do crómio

Zhang *et al.*, 2011, realizaram um estudo em trabalhadores de galvanização para avaliar os efeitos da exposição crónica a baixas concentrações de Cr (VI), e possíveis danos no DNA. Este estudo contou com 157 trabalhadores e 93 controlos, os quais não tinham tido qualquer exposição ocupacional ao crómio. Foi recolhido sangue periférico e os níveis de crómio foram determinados nos eritrócitos. Foram também avaliados os danos de DNA ocorridos nos linfócitos do sangue periférico. Os níveis de 8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine) na urina foram determinados como indicador de stress oxidativo.

A concentração de crómio presente nos eritrócitos do grupo dos trabalhadores (4,41µg/L) era significativamente mais alta que no grupo controlo (1,54 µg/L). O mesmo aconteceu com o biomarcador 8-OHdG na urina, em que o grupo exposto tinha uma concentração de 13,65 µg/g creatinina e o grupo controlo de 8,31 µg/g creatinina.

O estudo permitiu concluir que existia um alto nível de exposição ocupacional ao crómio, assim como se detetavam danos no DNA dos trabalhadores que podem ser considerados biomarcadores de resposta associados aos níveis aumentados de crómio nos eritrócitos.

No estudo de Gil *et al.*, 2010, acima referido para o cádmio, foi também realizada a biomonitorização do crómio nos 178 trabalhadores de uma indústria de ferro e aço que haviam permanecido em atividade nos últimos 6 meses. Amostras de sangue, urina, pêlos axilares e saliva foram recolhidas numa sexta, no final do dia de trabalho, após 5 dias de trabalho consecutivos. O significado da exposição ocupacional ao crómio ficou comprometido pela falta de uma população controlo. As concentrações de crómio foram 1,3 µg/L no sangue, 0,95 µg/g de creatinina na urina, 3,43 µg/g nos pêlos e 3, 11 µg/L na saliva. No entanto, para este metal foi observada uma correlação positiva entre as concentrações de crómio na urina e os valores no sangue e saliva, permitindo propor a saliva como amostra alternativa para biomonitorização ocupacional do crómio, obtida de forma não invasiva.

Gube *et al.*, 2013, procederam a um estudo de biomonitorização do crómio e do níquel em indivíduos saudáveis expostos a emissões de gás formado por processos de galvanização contendo os metais em causa. O estudo tinha a finalidade de relacionar a resposta biológica dos indivíduos com a exposição ao crómio a que eram sujeitos. Assim, 12 homens saudáveis foram expostos durante seis horas a fumos que continham uma concentração de crómio de 1 mg/m³ e de 2,5 mg/m³. Foi feita uma recolha de amostras de sangue e urina antes e depois da exposição. Os resultados mostraram um aumento significativo da concentração de crómio na urina, dependente da dose, depois da exposição ao metal quando comparado aos valores basais. De acordo com os autores, este estudo contribuiu para mostrar uma relação entre a exposição a fumos com crómio e a dose interna, mostrando a importância da monitorização da exposição em ambiente ocupacional.

1.5. Chumbo

1.5.1. Toxicidade do chumbo

O chumbo tem sido amplamente usado pelo homem desde há milénios uma vez que este metal é fácil de extrair e de manusear. Devido à longa utilização assim como ao seu uso tão intenso a história das intoxicações por chumbo é muito abundante.

O chumbo pode provocar uma variedade de efeitos adversos no organismo dependendo do grau de exposição a que o indivíduo foi sujeito (Leroyer *et al.*, 2000) e do tempo de exposição (Lesage *et al.*, 2010), sendo as crianças a faixa da população que, na atualidade, mais atenção merece pelos organismos internacionais de saúde.

Após uma exposição a este metal é frequente o registo de falência renal crónica, com perdas progressivas dos nefrónios (Owda *et al.*, 2003), associado a um diagnóstico de aminoacidúria, glicosúria e fosfatúria, assim como hipertensão arterial, possíveis danos nas arteríolas e capilares, disfunção do sistema reprodutor e anemia (Olewinska *et al.*, 2010).

Em resultado da ação tóxica do chumbo no organismo, várias alterações bioquímicas e/ou moleculares podem acontecer e serem conseqüentemente usadas como biomarcadores de efeito.

Na corrente sanguínea, o chumbo é um potente inibidor da enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALAD) e da ferroquelatase (Barbosa *et al.*, 2005). A ALAD catalisa a condensação de duas moléculas de ácido- δ -aminolevulinico (ALA) para formar fosfobilogénio. A inibição de ALAD promove uma acumulação de ALA. Assim, a ALAD no sangue periférico e o ALA na urina são usados como biomarcadores de efeito resultantes da exposição ao chumbo. Por sua vez, a ferroquelatase catalisa a inserção do ferro na protoporfirina para formar o grupo heme. Conseqüentemente, a inibição de ferroquelatase resulta numa acumulação de protoporfirina IX, que substitui o grupo heme na molécula de hemoglobina e, como o eritrócito contém protoporfirina IX a circular, o zinco é quelatado no local usualmente ocupado pelo ferro. Os eritrócitos contendo zinco-protoporfirinas são intensamente fluorescentes e podem ser complementarmente usados como biomarcadores de efeito no diagnóstico de exposição ao chumbo (Liu *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2005). Estes efeitos também resultam na modificação de concentrações de alguns metabolitos na urina, ALA-U e de coproporfirinas (Barbosa *et al.*, 2005).

Os compostos ALA, coproporfirina III e protoporfirina IX, podem estar alterados como efeito característico do chumbo no organismo humano. Devido ao seu baixo peso molecular, o ALA atravessa as membranas celulares aumentando a sua concentração no soro, sendo excretado em quantidades crescentes na urina.

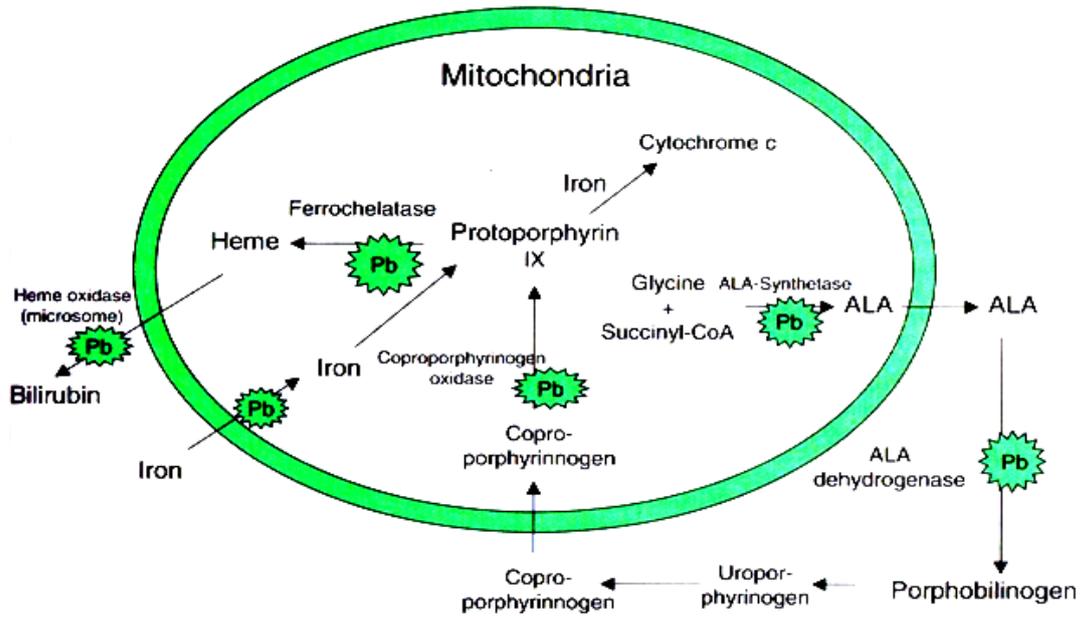


Figura 5. Mecanismo da interrupção da biossíntese do grupo heme provocada pelo chumbo (adaptado de Liu *et al.*, 2008)

Assim, no sistema hematopoiético, os níveis de parâmetros como as porfirinas, coproporfirina e ácido- δ -aminolevulinico (ALA) quando se apresentam alterados, podem ser usados como biomarcadores de efeito tóxico do chumbo (Conterato *et al.*, 2011).

1.5.2. Toxicocinética do chumbo

Em situações de exposição ocupacional, a absorção pulmonar de partículas de chumbo é também a mais importante. À semelhança de outros metais, a absorção do chumbo presente em partículas no ambiente laboral depende do tamanho das mesmas, bem como da sua concentração.

Após entrar na corrente sanguínea, o chumbo liga-se preferencialmente (cerca de 99%) aos eritrócitos, restando uma pequena parte livre no soro (cerca de 1%) que está disponível para se distribuir nos tecidos. Na primeira fase o chumbo acumula-se preferencialmente nos rins e no fígado, sendo posteriormente redistribuído no cabelo e esqueleto.

O tempo de semi-vida do chumbo no sangue varia entre 28 a 36 dias e nos tecidos moles como o fígado e os rins ronda os 40 dias. No esqueleto, o tempo de semi-vida é de 20 a 30 anos (Olewwinska *et al.*, 2010). Assim, dependendo do tipo de exposição ao chumbo, várias amostras biológicas podem ser usadas para avaliar biomarcadores de exposição. Em situações ocupacionais, os materiais mais correntemente usados são o sangue, urina e cabelos.

A principal via de excreção do chumbo é o rim. A excreção renal de chumbo é usualmente através da filtração glomerular com alguma reabsorção tubular renal. Em menor quantidade o chumbo pode ser excretado na bile e suor. A excreção fecal de chumbo respeita essencialmente à fração não absorvida pelo organismo após ingestão.

1.5.3. Revisão de estudos de biomonitorização do chumbo

A biomonitorização do chumbo nas populações em geral e em trabalhadores potencialmente expostos na indústria continua a ser uma preocupação atual em todo o mundo, não obstante nos países desenvolvidos seja assumido que as condições laborais proporcionadas aos trabalhadores conferem total segurança. Por outro lado, estudos de toxicologia molecular e celular têm vindo a mostrar que, mesmo para os TLVs estabelecidos podem resultar lesões que, a longo prazo, se reflitam em perda de qualidade de vida devido ao desenvolvimento de doenças neurológicas, cardiovasculares, ou outras. Reveste-se assim da maior atualidade a biomonitorização deste elemento, sendo um dos metais que continua a merecer a atenção da medicina do trabalho e dos organismos internacionais.

No contexto do presente estudo, não são abundantes os trabalhos publicados referentes a biomonitorização de chumbo em trabalhadores de pedreiras. Referem-se, assim, alguns estudos atuais que mostram a importância da exposição ao chumbo em diferentes cenários relacionados com a atividade industrial.

A monitorização do chumbo em humanos expostos direta ou indiretamente a este elemento em consequência da sua utilização industrial é, porventura, a mais documentada entre todos os metais. Este facto é devido ao seu uso extenso em várias atividades industriais desde exploração mineira, o seu uso em ligas várias, o fabrico de tintas, baterias e sua reciclagem, entre muitas outras aplicações. A profundidade dos estudos tem vindo a evoluir, desde a sua monitorização simples em fluidos biológicos humanos (Haefliger *et al.*, 2009; Conterato *et al.*, 2011), complementando com pesquisa de biomarcadores de efeito (Conterato *et al.*, 2011, Feksa *et al.*, 2012) e de suscetibilidade (Olewinska *et al.*, 2010) bem como a sua correlação com biomarcadores de toxicidade genética (Olewinska *et al.*, 2010).

Haefliger *et al.*, 2009 debruçaram-se sobre um situação anormal que ocorreu no Senegal com a morte de 18 crianças. Estas crianças pertenciam a uma comunidade dos subúrbios de Dakar cujas mães trabalhavam na reciclagem de baterias de chumbo e na recuperação de partículas do metal em areia contaminada. Os investigadores centraram-se no doseamento de biomarcadores de exposição em sangue de familiares das crianças mortas (irmãos e mães). Todas as crianças sujeitas a biomonitorização apresentavam-se contaminadas por chumbo, algumas delas severamente, oscilando os valores sanguíneos entre 39,8 ug/dL e 613,9 ug/dL. Nas mães, os valores oscilaram entre 32,5 e 98,8 ug/dL. Embora por motivos socioculturais não tenha sido possível a colheita de amostras post-mortem das crianças intoxicadas fatalmente, o estudo realizado nos familiares diretos, bem como a correlação com a sintomatologia descrita nas crianças mortas levou à conclusão de intoxicação pelo chumbo como causa de morte. Os investigadores concluíram por uma intoxicação por chumbo através da inalação de partículas contaminadas e pela ingestão de chumbo através do solo e areia contaminados resultante da reciclagem não controlada de baterias.

Um estudo recente no norte de Portugal realizado em trabalhadores que operam em indústrias que usam o chumbo, nomeadamente reciclagem de baterias, mostrou que os níveis de chumbo no sangue estavam significativamente aumentados relativamente aos controlos, embora todos abaixo do valor permitido pela legislação portuguesa (70 ug/dL). Curiosamente, alguns biomarcadores de efeito e de genotoxicidade revelaram-se alterados relativamente à população controlo. A zinco-protoporfirina sanguínea estava significativamente aumentada e o ALA significativamente diminuído, havendo um aumento significativo da frequência das mutações nos trabalhadores expostos (Lestón *et al.*, 2011). Do estudo pode concluir-se que a legislação deve ser revista no que respeita ao TLV permitido para o chumbo pela legislação portuguesa, uma vez que mesmo abaixo deste valor foram caracterizadas alterações bioquímicas e genéticas nos trabalhadores expostos.

No estudo brasileiro de Conterato *et al.*, 2011, foram avaliados biomarcadores de exposição e de efeito em indivíduos expostos ocupacionalmente a chumbo e cádmio. Embora os níveis médios sanguíneos de chumbo se mostrassem dentro dos limites admissíveis para exposições ocupacionais no Brasil (60 ug/dL), os resultados obtidos para alguns marcadores de efeito analisados, significativamente alterados relativamente

ao grupo controlo, permitiram concluir, tal como no estudo anterior, pela necessidade de rever os limites admissíveis de exposição ocupacional ao chumbo no Brasil.

Olewinska *et al.*, 2010, debruçaram-se sobre um grupo de mineiros da região sudeste da Polónia com o intuito de estudarem os níveis de danos no DNA que o chumbo provoca em trabalhadores expostos a este metal. De acordo com os investigadores o chumbo está claramente relacionado com as disfunções fisiológicas, bioquímicas e até comportamentais. Os efeitos genotóxicos do chumbo foram estudados ao longo dos tempos em animais e em humanos mas os seus resultados são contraditórios. Por esta razão Olewinska *et al.* tinham como principal objetivo tentar relacionar a exposição dos trabalhadores ao chumbo com os possíveis danos causados no DNA, que poderiam ser provocados por esta mesma exposição. Para tal, foi doseado o chumbo no sangue e a zincoprotoporfirina, bem como a lesão do DNA nos linfócitos pelo ensaio do cometa.

Os resultados mostraram que a exposição ocupacional ao chumbo está intimamente associada com concentrações de chumbo e de zincoprotoporfirina no sangue significativamente mais altas quando comparadas com as da população controlo. Foram observados também significativos aumentos de quebras de DNA em todos os trabalhadores que apresentavam níveis de chumbo no sangue superiores a 20 ug/dL.

Do que foi possível pesquisar na literatura, não há estudos de biomonitorização de chumbo em trabalhadores da pedra, seja na sua exploração ou no polimento. Da análise feita ao pó das pedreiras em que incidiu o estudo, o chumbo revelou estar presente em níveis médios de 30 ug/g. Dada a exposição continuada dos trabalhadores às poeiras geradas, à sua elevada absorção por via inalatória quando em dimensões adequadas, e ao seu grau de toxicidade, considerámos importante estudar os níveis sanguíneos deste metal, dando assim um contributo para o conhecimento do grau de exposição humana neste tipo de ocupação.

1.6. Silício

1.6.1. Toxicidade do silício

O silício existe primariamente como mineral puro sob a forma de dióxido de silício, mais conhecido por Sílica (Csuros & Csuros, 2000). A sílica, normalmente conhecida como quartzo, é um abundante mineral encontrado em rochas, areia e solo (Brown, 1999). Pode apresentar-se sob a forma cristalina ou amorfa, sendo a primeira considerada a forma biológica mais ativa (Brown, 1999).

O processo de corte e trituração da sílica provoca a fragmentação dos cristais, dando origem a radicais de silício (Si) e de Si-O. Segundo Brown J. *et al.* (2004) a sílica cristalina fracturada pode ter propriedades muito reactivas nos pulmões.

O silício é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre. As suas aplicações são vastas, desde utilizações maciças tais como em ligas, betões e cerâmicas até à manufatura de polímeros de silicone, passando por sistemas como vidros e vernizes (Chang, 1998).

Nos solos cuja constituição é eminentemente granítica, os fenómenos de erosão e, sobretudo, a exploração da pedra originam partículas de diversos tamanhos cuja deposição nos solos e permanência no ar deve ser avaliada. Os pedreiros, mineiros e a população residente nos arredores destes núcleos são os indivíduos mais expostos ao silício, pois contactam direta e diariamente com a sílica, na extração da pedra, corte, polimento, etc. A via de exposição mais importante é a inalação, embora a via transdérmica não seja de excluir se não forem adotadas medidas de proteção eficazes.

Os trabalhadores estão particularmente sujeitos, pois a exposição é diária, as concentrações de poeiras podem ser muito elevadas, e as partículas de dióxido de silício com diâmetros muito reduzidos (menores que 5µm) têm acesso aos alvéolos e passagem à corrente sanguínea.

A exposição às poeiras de sílica por inalação pode provocar inflamação pulmonar e fibrose, correntemente conhecida como silicose. Esta patologia é uma doença pulmonar caracterizada por lesões granulomatosas e fibróticas (Tumane *et al.*, 2010; Golbabaie *et al.*, 2004) podendo originar restrição pulmonar e obstrução respiratória (Kasper *et al.*, 2006).

As partículas de sílica após entrarem pela via pulmonar são depositadas nos espaços alveolares dos pulmões (Brown *et al.*, 2005). As partículas são fagocitadas pelos macrófagos alveolares, que são removidos pelo movimento mucociliar dos macrófagos no tracto respiratório superior ou drenados pelos linfócitos. Contudo, quando ocorre uma exposição elevada a sílica, regista-se um aumento de acumulação de macrófagos que contêm a sílica nos espaços intersticiais e linfáticos do pulmão, o que promove a inflamação e consequente aumento da atividade das células imunitárias, e efeitos imunológicos diversos (Brown *et al.*, 2005).

Neste meio inflamatório, pode surgir um excesso de antigénios que são mais tarde interiorizados pelos macrófagos ativados ou células dendríticas que são capazes de migrar até aos nódulos linfáticos (Brown *et al.*, 2004). Dentro destes nódulos linfáticos locais as células que apresentam antigénios (antigen presenting cell, APCs) carregados com material apoptótico ativam as células T e B, induzindo uma resposta auto-imune.

Brown J. *et al.*, 2005, avaliaram em ratinhos os efeitos de uma proteína cinase inibidora (rotlerin) numa doença autoimune sistémica provocada pela exposição exacerbada a sílica e admitem que a silicose também pode estar associada a um aumento da incidência de doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso e esclerose (Otsuki *et al.*, 2007).

Como foi referido anteriormente, a exposição às poeiras de sílica por inalação pode provocar inflamação pulmonar e fibrose, correntemente conhecida como silicose. Esta patologia é uma doença pulmonar caracterizada por lesões granulomatosas e fibróticas (Tumane *et al.*, 2010; Golbabaie *et al.*, 2004), podendo originar restrição pulmonar e obstrução respiratória (Kasper *et al.*, 2006).

Sob o ponto de vista da toxicologia ocupacional, os trabalhadores são expostos a pequenas e finas poeiras durante longos períodos de tempo (Chaudhury *et al.*, 2010). A silicose é uma doença pulmonar, de origem ocupacional, que se caracteriza pela

exposição a grandes quantidades de sílica livre, mais propriamente quartzo cristalino, e que induz o decréscimo da função pulmonar, através de uma inflamação e consequente fibrose pulmonar. Os indivíduos mais suscetíveis a esta doença são os que desenvolvem actividades em cantaria, pedreiras e na indústria mineira (Kasper *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2005). O potencial de desenvolvimento desta patologia depende da concentração de sílica no ar, do conteúdo de sílica cristalina inalado nas poeiras, do tamanho das partículas, da duração e quantidade de exposição e, sobretudo, do incumprimento das normas de proteção adequadas.

Consoante o tipo de exposição à sílica cristalina, é possível desenvolver uma silicose aguda ou uma silicose crónica. A silicose aguda caracteriza-se por uma exposição de alta densidade, por curtos períodos de tempo (cerca de 10 meses), o que proporciona a formação de uma fibrose pulmonar rapidamente fatal, com quadro radiográfico de infiltração miliar (Kasper *et al.*, 2006). É de referir que esta é uma situação rara no quadro das condições de trabalho atual.

A silicose crónica é a forma mais prevalente de silicose e resulta de uma exposição ocupacional continuada (Langley *et al.*, 2010; Chaudhuy *et al.*, 2010) associada a uma longa latência em que, geralmente, o paciente permanece assintomático durante décadas (Langley *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2006). Estudos epidemiológicos indicam que a silicose crónica está geralmente associada com a exposição ocupacional à sílica cristalina e é principalmente prevalente nos cortadores de pedra (Langley *et al.*, 2010).

As lesões resultantes de uma exposição crónica ou prolongada caracterizam-se por um longo período de latência, cerca de 10 anos, até que se evidencie a sintomatologia que permite diagnosticar a silicose. De facto, a silicose é inicialmente assintomática e apenas apresenta pequenas alterações nos exames de rotina (raios-X) (Langley, *et al.*, 2010) não permitindo um diagnóstico de silicose inequívoco.

A doença é habitualmente diagnosticada pelo historial de exposição ocupacional à sílica e pela presença de opacos e finos nódulos (≤ 1 cm de diâmetro) visíveis por raios-X (Langley *et al.*, 2010).

Vacek P. *et al.* (2010) estudaram a mortalidade em trabalhadores de granito, da zona de Vermont, em resultado da exposição à sílica durante toda a sua vida. Os

investigadores analisaram a causa de morte de cada indivíduo e concluíram que a sílica era capaz de provocar vários danos no organismo humano, como por exemplo, bronquite, asma, neoplasias da cavidade bucal, entre outras. A Tabela 3 indica as causas de morte que os investigadores apuraram em 2004.

Tabela 3. Causas de morte em 2004 em Vermont, Itália. (adaptado de Vacek P., 2010)

Cause of death (ICD-9 codes)	Observed	Expected	SMR	95% Confidence limits	
				Lower	Upper
Tuberculosis	147	6.8	21.75†	18.37	25.56
All malignant neoplasms	896	795.4	1.13†	1.05	1.20
Buccal cavity and pharynx	20	19.9	1.01	0.62	1.55
Digestive organs and peritoneum	218	209.9	1.04	0.91	1.19
Larynx	10	10.1	0.99	0.48	1.82
Bronchus, trachea, lung	359	261.5	1.37†	1.23	1.52
Cancer of prostate	61	68.5	0.89	0.68	1.14
Kidney	28	19.8	1.41	0.94	2.04
Bladder and other urinary organs	34	23.8	1.43	0.99	2.00
All lymphatic, haematopoietic tissue	73	78.8	0.93	0.73	1.16
All other malignant neoplasms	93	105.1	0.88	0.71	1.08
Cerebrovascular disease	217	213.0	1.02	0.89	1.16
All heart disease	1219	1372.4	0.89†	0.84	0.94
Non-malignant respiratory disease	377	272.5	1.38†	1.25	1.53
Influenza and pneumonia	71	88.1	0.81	0.63	1.02
Bronchitis, emphysema, asthma	77	81.6	0.94	0.75	1.18
Silicosis	55	0.9	59.13†	44.55	76.97
Other non-malignant respiratory disease	174	100.0	1.74†	1.50	2.02
Diabetes mellitus	67	61.2	1.09	0.85	1.39
Cirrhosis of liver	63	77.3	0.82	0.63	1.04
Nephritis and nephrosis	34	34.4	0.99	0.68	1.38
All external causes of death	264	304.7	0.87*	0.77	0.98
All other causes of death	326	410.7	0.79†	0.71	0.89

ICD-9, 9th Revision of the International Classification of Diseases; SMR, standardised mortality ratio.

*Significant at the 5% level.

†Significant at the 1% level.

Para além das patologias acima descritas, uma revisão recente, baseada em estudos epidemiológicos, aponta também a sílica como causa de nefropatia (Ghahramani, 2010).

1.6.2. Toxicocinética do silício

Como foi acima referido o silício, em ambiente ocupacional, tem como principal via de acesso o pulmão (Brown *et al.*, 2010; Langley *et al.*, 2010; Otsuki *et al.*, 2007; Brown *et al.*, 2005; Barbarin *et al.*, 2004; Golbabaie *et al.*, 2003).

As partículas de sílica após entrarem pela via pulmonar são depositadas nos espaços alveolares dos pulmões (Brown *et al.*, 2005).

Na literatura não foi possível encontrar informação sobre silício no sangue ou outras amostras biológicas, tanto em animais como em pessoas. Isto poderá dever-se ao facto das partículas de sílica se alojarem no pulmão numa grande extensão, sendo minoritária a quantidade que passa à corrente circulatória.

Uma pequena quantidade de silício é eliminada na urina, sendo possível dosear o metal neste material biológico (Ibrahim *et al.*, 2011).

1.6.3. Revisão de estudos de biomonitorização do silício

A forma inequívoca de demonstrar a exposição a um poluente é a identificação desse poluente e/ou seus metabolitos em material biológico das pessoas expostas, isto é, a determinação de biomarcadores de exposição.

No que respeita ao interesse de biomarcadores de exposição em líquidos biológicos de trabalhadores expostos à sílica, nomeadamente sangue e urina, os dados da literatura são escassos e, como se discutirá em maior detalhe na secção Resultados e Discussão, o nosso trabalho demonstrou também a sua escassa ou nula utilidade.

Dada a dificuldade de monitorização da exposição à sílica de forma não invasiva, alguns estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de encontrar biomarcadores de efeito que caracterizem de forma precoce a exposição antes que a silicose se desenvolva. Esses biomarcadores endógenos devem ser medidos em material biológico obtido de forma não invasiva. Alguns estudos têm sido desenvolvidos nesse sentido, conforme referidos em revisão recente (Tumane *et al.*, 2010). Neste trabalho evidencia-se a possibilidade de quantificar proteínas apoptóticas, em líquido de lavagem broncoalveolar e em sangue de pessoas expostas, uma vez que a sílica demonstrou induzir *in vitro* a ativação de caspases, nomeadamente em macrófagos alveolares, que têm um papel central na execução de apoptose, importante fenómeno de morte celular na silicose. Nesta revisão, são ainda apresentados outros parâmetros envolvidos na cascata da apoptose e que podem vir a ser úteis na caracterização precoce de processos

celulares conducentes à silicose. Diferentes métodos são ainda indicados, nomeadamente microscopia eletrónica, métodos de ELISA, imunocitoquímica, imunofluorescência, imuno-histoquímica e western blot que podem ser usados na quantificação dessas moléculas em diferentes fluidos biológicos.

Langley *et al.*, 2010, realizou recentemente um estudo in vivo, em ratos, para avaliar possíveis diferenças em alterações moleculares e celulares em silicose aguda e crónica, servindo-se de amostras de BAL. A silicose aguda foi induzida em ratos por instilação intraqueal de 35 mg de sílica e a silicose crónica por exposição diária, durante seis semanas, a baixas doses de sílica na forma de aerossol ($6,2 \text{ mg/m}^3$, 5 dias/semana durante 6 semanas). Enquanto a exposição aguda provocou um forte processo inflamatório no pulmão e um aumento dramático de proteínas apoptóticas, a exposição crónica provocou, de uma forma retardada, a formação de granulomas com inflamação pulmonar limitada acompanhada do aumento da expressão de marcadores anti-apoptóticos, nomeadamente aumentos acentuados de Bcl-2 e procaspase-3 e mais lentamente a actividade de Caspase-3 (Langley *et al.*, 2010). Os resultados obtidos neste estudo podem justificar a resistência da silicose crónica a tratamentos com anti-inflamatórios conhecidos, nomeadamente corticoesteróides (Langley *et al.*, 2010, Chong *et al.*, 2006), assim como, o longo período de latência que a doença apresenta em humanos, traduzido por um longo período assintomático nos doentes com silicose crónica.

Recentemente foi desenvolvido um método para análise simultânea em amostras biológicas de biomarcadores de stress oxidativo aplicado a humanos com asbestose e silicose no sentido de validação desses parâmetros como biomarcadores destas doenças ocupacionais (Syslová *et al.*, 2009). O estudo mostrou o interesse do doseamento do malondialdeído, 4-hidroxinonenal e 8-iso-prostaglandina F2alfa na urina, soro, e líquido de lavagem broncoalveolar (BAL) na caracterização destas doenças de forma não invasiva, sendo estes marcadores mais expressivos em amostras de BAL.

2. Monitorização de biomarcadores de efeito

Os trabalhadores expostos continuamente a xenobióticos no ambiente laboral devem ser monitorizados de forma periódica para avaliação de possíveis efeitos adversos.

A realização de exames de saúde tem como objetivo avaliar a aptidão física e psíquica dos trabalhadores para o exercício da sua atividade, bem como a repercussão desta atividade e das condições em que é prestada na sua saúde. O artigo 108 da lei 102/2009 do Diário da República faz referência aos exames periódicos que devem ser realizados anualmente para os menores de 18 anos e para os trabalhadores com idade superior a 50 anos, e de 2 em 2 anos para os restantes trabalhadores.

O Decreto-lei nº 324/95 de 29 de Novembro remete-nos para as prescrições mínimas de segurança e de saúde a aplicar nas indústrias extrativas por perfuração a céu aberto ou subterrâneas. No preâmbulo deste decreto é assumido que "O exercício da actividade profissional nas indústrias extractivas está sujeito a elevados riscos de acidentes de trabalho e doenças profissionais.". O artigo 7º deste decreto-lei estabelece a vigilância da saúde, em que o empregador deve assegurar a adequada vigilância da saúde a todos os trabalhadores afectos às actividades abrangidas pelo presente diploma; incluindo a vigilância e realização de exames médicos periódicos.

A legislação em vigor não é esclarecedora e não especifica quais os exames complementares que devem ser realizados e quando devem ser realizados.

Alguns pedreiros, quando questionados, referiram que tinham que fazer o raios-X de dois em dois anos até aos 45 anos e a partir desta idade passavam a fazê-lo anualmente.

Como é óbvio, o raios-X pulmonar permite averiguar alterações locais decorrentes de acumulação das poeiras, enquanto as análises laboratoriais permitem, através do doseamento de certos parâmetros bioquímicos, a monitorização de efeitos sistémicos resultantes da absorção de constituintes das poeiras no pulmão e consequentes efeitos em outros tecidos e órgãos, como sangue, fígado e rins. Estes

parâmetros, normalmente determinados no sangue e urina, são denominados de biomarcadores.

Existem três tipos de biomarcadores: os biomarcadores de exposição, os biomarcadores de efeito e os biomarcadores de suscetibilidade.

Neste trabalho apenas serão considerados dois tipos de biomarcadores: os biomarcadores de exposição e os biomarcadores de efeito.

O biomarcador de exposição estima a dose interna do xenobiótico e/ou seus metabolitos. No contexto do presente trabalho, os biomarcadores de exposição foram os metais determinados em fluidos biológicos dos indivíduos envolvidos no estudo, nomeadamente no sangue, soro e urina. Foram doseados cinco elementos, alumínio, cádmio, chumbo, cromo e silício no sangue/soro e urina dos trabalhadores, assim como dos indivíduos do grupo controlo.

Os biomarcadores de efeito são selecionados consoante o tipo de exposição e contaminação ao qual o indivíduo está sujeito, ou seja, a seleção baseia-se em possíveis alterações que o metal é capaz de produzir no organismo humano. Vários parâmetros bioquímicos podem estar alterados como consequência da interação entre o agente tóxico e o organismo (Amorim, 2003). Considerando os metais em estudo (alumínio, cádmio, chumbo, cromo e silício) e os respetivos órgãos alvo da sua acção tóxica, os marcadores bioquímicos de efeito a dosear foram selecionados, na medida do possível, de acordo com alguma especificidade da ação adversa dos metais em estudo: β -2-microglobulina, creatinina, ureia, albumina, fosfatase alcalina (medidos em amostras de sangue), proteínas totais, porfirinas totais, uroporfirinas, coproporfirina, coproporfirina III (medidos em urina de 24 h).

Os biomarcadores de suscetibilidade refletem fatores genéticos ou que influenciam a resposta do organismo a uma determinada exposição química. Estes fatores são predominantemente genéticos, embora alterações fisiológicas, medicamentos, exposição a outros agentes também possam alterar a suscetibilidade. Tomando como exemplo uma exposição ao chumbo, os indivíduos com um fenótipo em que expressam ALA1 ou ALA2, têm inevitavelmente comportamentos de defesa diferentes.

3. Objetivo do Estudo

O principal objetivo do presente trabalho consistiu na tentativa de avaliação do grau de exposição a metais dos trabalhadores do granito da zona de Ponte de Lima, dos potenciais efeitos adversos resultantes, e avaliar o grau de eficácia das medidas de proteção laboral implementadas.

Para tal, foi feita a avaliação de alguns metais no sangue, soro e urina de trabalhadores (biomarcadores de exposição). Foram também avaliados biomarcadores de efeito como a albumina, coproporfirinas, entre outros, no sentido de tentar averiguar a relação entre a exposição aos metais e resultantes efeitos adversos. Com a administração dos inquéritos aos trabalhadores em estudo pretendeu-se relacionar as medidas de proteção adotadas e o ambiente laboral em que operavam com os biomarcadores avaliados.

4. Materiais e métodos

4.1. Localização da zona de estudo e constituição da rocha granítica

A zona de estudo selecionada foi o concelho de Ponte de Lima, situado na região norte de Portugal, mais propriamente as freguesias de Rendufe, Labruja e Arcozelo.



Figura 6. Mapa do concelho de Ponte de Lima

O concelho de Ponte de Lima caracteriza-se pela abundância de rocha granítica, mais propriamente de granitóides hercínicos (Alves, 1995 in Ribeiro 2005). De acordo com um estudo efetuado pela Universidade do Minho, nesta zona do país, a rocha

granítica apresenta na sua composição alguns metais pesados, nomeadamente alumínio, chumbo, silício e cádmio, como é possível verificar nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Análise química dos elementos maioritários da pedra granítica de Bertandos (adaptado de Tese de Doutoramento Ribeiro, 2005)



Profundidade (m) / Ref. amostra	SiO ₂ (%)	Al ₂ O ₃ (%)	CaO (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	P ₂ O ₅ (%)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)
0,10-0,20 / 1	60,34	18,62	0,51	4,01	0,33	111	21,3
0,30-0,40 / 3	62,64	18,69	0,56	3,85	0,25	104	11,3
0,50-0,60 / 5	64,44	18,68	0,56	3,03	0,18	98	7,7
0,70-0,80 / 7	58,06	16,17	0,59	3,07	0,23	106	9,7
0,90-1,00 / 9	55,44	15,8	0,55	3,11	0,24	105	9,7
1,50-1,60 / 15	58,04	18,52	0,48	3,45	0,24	114	8,7
2,10-2,20 / 21	55,51	19,07	0,44	3,6	0,29	120	10,9

Tabela 5. Análise química dos elementos vestigiais da pedra granítica de Bertandos (adaptado de Tese de Doutoramento Ribeiro, 2005)



Profundidade (m) / Ref. amostra	Co (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Sn (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Sb (mg/kg)	As (mg/kg)
0,10-0,20 / 1	9,3	30,9	52,9	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
0,30-0,40 / 3	10,3	22,3	4,7	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
0,50-0,60 / 5	7,7	22,3	4,9	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
0,70-0,80 / 7	8,7	24,6	5,3	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
0,90-1,00 / 9	8,7	23,7	6,7	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
4,50-4,60 / 43	10,3	27,3	6,7	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67
8,20-8,30 / 75	10,6	44,6	12,3	< 33	< 167	< 3	< 67	< 67

4.2. Recolha de amostras de pó de granito

O estudo foi iniciado com a recolha de pó de granito e de brita para se fazer uma primeira avaliação da concentração de metais pesados que a rocha granítica apresentava na sua constituição. Esta análise constituiria a base para a seleção dos metais minoritários a incluir no estudo.

A recolha das amostras de rocha foi ocasional, tendo havido o cuidado de recolher partículas de várias dimensões e em locais diferentes, visto que o pó da rocha se apresentava mais fino ou mais grosseiro, consoante o trabalho dos pedreiros era realizado com máquinas ou manualmente. De facto, nesta região, observam-se dois tipos de empresas: as fábricas, que são consideradas as empresas de maior porte, em que o trabalho com a maquinaria adequada de corte e serração é mais frequente e as pedreiras, que são empresas mais pequenas onde se realiza o trabalho manual, nomeadamente o trabalho à picota. Ao contrário das fábricas, o trabalho nas pedreiras é realizado ao ar livre, não existindo qualquer tipo de captação do pó formado por um extrator.

4.2.1. Pré-tratamento das amostras de granito

As amostras foram moídas em almofariz até se obter um pó de granulometria muito fina. Seguidamente, transferiram-se para recipientes de teflon 0,250 g de amostra e que foram submetidos a digestão ácida com uma mistura de 1 mL de HF e 3 mL de HNO₃. A digestão foi efetuada em estufa a $\pm 105^{\circ}\text{C}$ durante a noite, de modo a conseguir a dissolução completa. Adicionou-se ao resíduo resultante 1 mL de HNO₃ + 1 mL de HCl, e os contentores foram de novo colocados em estufa a 105°C , durante aproximadamente 5 h. Os digestos obtidos foram transferidos para tubos de plástico previamente descontaminados, perfazendo um volume conveniente com água bidesionizada. Em paralelo, foram também preparados os “brancos” das amostras, utilizando recipientes de teflon iguais aos das amostras, aos quais se adicionaram as mesmas quantidades de ácidos e foram submetidos ao mesmo procedimento.

O ácido fluorídrico foi usado para uma eficiente destruição da amostra, para solubilizar os silicatos e permitir o doseamento do silício.

A Tabela 6 apresenta a concentração dos metais que foram analisados no pó de granito que serviu de base à sua selecção para prosseguir no estudo.

Tabela 6. Concentrações de Cádmio, Crómio, Níquel e Chumbo em amostras de pó de diferentes pedreiras.

	Cádmio µg/kg	Crómio µg/g	Níquel µg/g	Chumbo µg/g
Pedreira 1 (Rendufe) Pó muito fino	51,2	10,4	66,5	26,5
Pedreira 2 (Sequeiros) Pó grosseiro	157,6	9,5	4,6	28,2
Pedreira 3 Pó fino	65,4	8,0	15,2	31,3
Pedreira 4 (Rotunda) Pó grosseiro	67,4	7,9	18,0	31,6
Fábrica 5 (Moselos) Pó fino	64,1	7,2	14,2	32,2
Fábrica 6 (Arcozelo) Extracção Pó grosseiro	69,7	7,2	13,8	30,1
Fábrica 6 (Arcozelo) Transformação Pó muito fino	81,9	8,8	13,8	30,1
Fábrica 7 Pó fino	71,3	4,0	172,0	32,0
Fábrica 7 Pó médio	82,9	6,8	35,2	33,1

Os metais seleccionados foram o cádmio, o crómio e o chumbo que, sob os pontos de vista toxicológico e forense, são considerados muito importantes, como referem os autores Olmedo *et al.*, 2010; Gil *et al.*, 2011; Olewinska *et al.*, 2010; Godt *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2004. Estes metais (Cd, Cr e Pb) são muito utilizados em diversas áreas profissionais (por exemplo: pedreiras, minas, fundição, indústrias metalúrgicas) e por isso há necessidade de os monitorizar uma vez que se acumulam ao longo do tempo no organismo, podendo provocar efeitos tóxicos. Com o doseamento dos metais os investigadores pretendem perceber qual o risco a que os trabalhadores estão expostos.

Relativamente aos outros dois metais seleccionados, o alumínio e o silício, não se procedeu ao seu doseamento na rocha atendendo à sua reconhecida elevada concentração no granito, conforme revela a Tabela 6.

4.3. Materiais e reagentes

Os reagentes utilizados foram o ácido fluorídrico a 48% (HF), ácido clorídrico a 37% (HCl), ácido nítrico a 65% (HNO₃) e peróxido de hidrogénio a 30% (H₂O₂) (grau de pureza pro analysis da Merck®). As várias soluções padrão dos metais de 1000 µg/L utilizadas foram preparadas diariamente a partir de soluções da Spectrol, BDH, com água bidesionizada e HNO₃ 0,2%.

Todo o material a usar na parte experimental para doseamento dos metais, nomeadamente recipientes de teflon®, pipetas, pontas para micropipetas e cuvetes foram submetidos a um procedimento de descontaminação para evitar contaminações metálicas. Assim, todo o material foi imerso em solução de HNO₃ a 15% durante 24 h. Após este contacto, o ácido foi rejeitado e o material lavado com água bidesionizada (três a quatro vezes). Seguidamente, esse material foi colocado a secar numa zona protegida de pó e poeiras até ser utilizado.

Os modificadores de matriz utilizados foram, dependendo dos elementos, 15 µg de nitrato de magnésio Mg(NO₃)₂ ou 3 µg de nitrato de magnésio Mg(NO₃)₂ + 5µg de nitrato de paládio Pd(NO₃)₂, de grau supra puro, Merck. Estes modificadores foram preparados em ácido nítrico supra puro a 15% (v/v) e água supra-pura.

4.4. Equipamento

- a) Estufa – Heraeus Function Line
- b) Agitador – Heidolph Reax Top
- c) Desionizador Seradest®, modelo LFM 20
- d) Espectrómetro de Absorção Atômica – Perkin-Elmer HGA-850 Furnace acoplado ao modelo AAnalyst 600 Spectrometer com corrector de Zeeman, equipado com AS-800 Autosampler e impressora HL-2040. As análises foram realizadas em tubos Perkin-Elmer THGA com plataforma integrada e WinLab32 control software.

4.5. População selecionada para o estudo

A população selecionada para este estudo incluiu 30 trabalhadores do sexo masculino de fábricas de granito (15) e pedreiras (15), com idades compreendidas entre 25 e 65 anos, e com mais de um ano de atividade na arte. Os trabalhadores foram devidamente informados sobre os objetivos do estudo, bem como do que se esperava da sua contribuição: resposta a um inquérito, e consentimento para colheita de sangue e urina.

Foi ainda incluído um grupo controlo, constituído por 20 indivíduos do sexo masculino, com idades compreendidas na mesma faixa etária do grupo de trabalhadores, da mesma zona em estudo, mas com diferentes profissões.

4.6. Colheita e preparação das amostras biológicas

4.6.1. Colheita das amostras biológicas

As amostras de sangue e urina usadas para este estudo foram recolhidas por um profissional devidamente credenciado, em material previamente descontaminado conforme descrito acima.

A recolha de sangue foi efetuada ao sábado, com os trabalhadores em jejum, após uma semana de trabalho, ou seja, estando subjacente o conceito de uma exposição às poeiras 8 h/dia durante 5 dias/semana. A partir do sangue foi separado soro para realização de algumas determinações.

O procedimento para a colheita da urina foi devidamente explicado aos trabalhadores e aos indivíduos do grupo controlo. Foi-lhes solicitado que fizessem uma recolha directa de urina durante 24 h para o recipiente fornecido. Esse recipiente, adequado para recolha de urina de 24 horas, havia sido previamente descontaminado. A recolha teve início às 7 h da manhã de sexta-feira e terminou às 7 h da manhã de sábado, altura em que foi feita a colheita de sangue. Os trabalhadores foram informados que o primeiro jacto da primeira urina da manhã fosse rejeitado e só a partir desse momento é que deveriam iniciar a recolha propriamente dita.

4.6.2. Preparação das amostras biológicas para doseamento de metais

Os recipientes que continham as urinas foram agitados durante alguns segundos, para garantir a homogeneização da amostra. Seguidamente, foram pipetados 5 mL de amostra para recipientes de teflon previamente descontaminados.

Os tubos que continham as amostras de sangue ou de soro foram agitados, e de cada um deles, foram pipetados 1,5 mL para recipientes de teflon previamente descontaminados.

A todos os contentores foram adicionados 2 mL de HNO_3 e 0,25 mL de H_2O_2 (a proporção nunca deverá ser superior a 5:1 de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$), com o fim de se conseguir uma completa destruição da matéria orgânica. Os recipientes de teflon ficaram em repouso à temperatura ambiente durante cerca de uma hora, para permitir um maior contacto entre a amostra biológica e os reagentes e evitar qualquer tipo de reacção violenta. Em seguida, colocaram-se os tubos em estufa a 105°C durante uma noite. Depois de retirar os contentores da estufa e se deixarem arrefecer, adicionou-se 0,5 mL de HCl para dissolver completamente algum resíduo que ainda permanecesse no recipiente. A solução resultante foi transferida para tubos de plástico, devidamente descontaminados e perfeito o volume conveniente com água desionizada. Em simultâneo, realizaram-se algumas repetições das amostras, bem como os brancos.

4.7. Validação do Método de Absorção Atômica

O método de Espectrometria de Absorção Atômica foi validado recorrendo a soluções padrão de cada elemento preparadas em várias concentrações bem como a amostras de sangue, soro e urina fortificadas com várias concentrações de todos os metais em estudo. De acordo com a IUPAC e outras agências de regulamentação, os parâmetros de validação a serem avaliados para cada elemento são a zona de linearidade de resposta, os limites de deteção e de quantificação, a precisão e a exatidão (Araújo, 2008).

A linearidade de resposta corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em estudo, dentro de uma determinada gama de aplicação. O estudo da linearidade da metodologia analítica adotada foi realizado recorrendo ao método da curva de calibração. A curva de calibração foi obtida por diluições convenientes de uma solução concentrada do metal a analisar, de teor e pureza conhecidos e certificados, destinada a ser utilizada como referência no processo analítico. Para estabelecer a curva de calibração usaram-se no mínimo cinco níveis de concentração, incluindo o branco (Tabela 7). Para tal, prepararam-se diferentes soluções-padrão de trabalho a partir das soluções concentradas dos diferentes elementos em estudo.

Tabela 7. Concentração de soluções padrão utilizadas para a realização da curva de calibração.

	Alumínio	Cádmio	Crómio	Chumbo	Silício
Concentração	5,0	0,25	1,0	2,5	25
de	10,0	0,50	2,5	5,0	50
soluções	20,0	1,00	5,0	10,0	100
Padrão	30,0	1,50	10,0	25,0	150
µg/L	40,0	2,50	15,0	50,0	250

Como se pode observar na Tabela 8 as zonas de linearidade de resposta para o alumínio estão compreendidas entre 0,84 - 40,0 µg/L, para o cádmio 0,054 - 2,50 µg/L, para o crómio 0,16 - 15,0 µg/L, para o chumbo 0,95 - 50 µg/L e finalmente para o silício, entre 4,4 - 250 µg/L.

Tabela 8. Estudo da Linearidade de resposta

Elementos	Linearidade (µg/L)
Alumínio	0,84 - 40,0
Cádmio	0,054 - 2,50
Crómio	0,16 - 15,0
Chumbo	0,95 - 50,0
Silício	4,4 - 250

O limite de deteção, definido como o valor de concentração mais pequeno/residual que o aparelho consegue detetar, foi avaliado fazendo 20 determinações dos metais em estudo em solução aquosa ácida (solução branco). O limite de deteção foi calculado considerando 3 vezes o valor do desvio padrão do ruído de fundo.

$$\text{Limite de deteção (LD)} = 3 * (\text{desvio padrão/ declive da recta})$$

Os limites de deteção e quantificação para as amostras de sangue e soro foram calculados considerando 1,5 mL de amostra e um volume final de 4 mL; para a amostra de urina consideraram-se 5 mL de volume inicial e 7 mL de volume final. Ver Tabela 9.

Considerando os volumes iniciais e finais referidos, para o alumínio o limite de deteção foi de 2,24 µg/L no sangue/soro e de 1,18 µg/L na urina; para o cádmio 0,144 µg/L para o sangue/soro e 0,076 µg/L na urina; para o crómio 0,41 µg/L no sangue/soro e 0,22 µg/L na urina; para o chumbo foi de 2,54 µg/L para o sangue/soro e 1,33 µg/L para a urina; finalmente, o limite de deteção para o silício no sangue/soro foi de 11,8 µg/L e na urina de 6,2 µg/L.

Para efeitos de cálculo, quando os valores encontrados para os diferentes elementos nas diferentes matrizes eram inferiores ao limite de quantificação,

convencionou-se usar nos cálculos os valores correspondentes a metade do limite de detecção. Assim, para as amostras de sangue/soro, o valor de limite de detecção considerado para o alumínio, cádmio, chumbo, crómio e silício foi de 1,12, 0,072, 0,21, 1,27, 5,9 µg/L: para as amostras de urina, os valores usados foram de 0,59, 0,038, 0,11, 0,67 e 3,1 µg/L para o alumínio, cádmio, crómio, chumbo e silício, respetivamente.

O limite de quantificação representa a menor concentração do analito em estudo que pode ser medida com rigor e é determinado considerando 10 vezes o valor do desvio padrão do ruído de fundo.

$$\text{Limite de quantificação (LQ)} = 10 * (\text{desvio padrão} / \text{declive da recta})$$

O limite de quantificação determinado para o alumínio referente às amostras de sangue/soro foi de 7,50 µg/L e na urina 3,92 µg/L; para o cádmio no sangue/soro foi de 0,481 µg/L e na urina foi de 0,25 µg/L; para o crómio foi de 1,38 e 0,72 µg/L para as amostras de sangue/soro e urina, respetivamente; para o o chumbo os valores no sangue/soro foram de 8,46 µg/L e 4,44 µg/L na urina; finalmente, o limite de quantificação do silício no sangue/soro e na urina foi de 39,5 µg/L e 20,7 µg/L, respetivamente. Os valores dos limites de detecção e quantificação são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Limites de Detecção e de Quantificação do método para os vários metais

Elemento	Limite de Detecção (µg/L)			Limite de Quantificação (µg/L)		
	Padrão	Sangue/ Soro	Urina	Padrão	Sangue/ Soro	Urina
Al	0,84	2,24	1,18	2,80	7,50	3,92
Cd	0,054	0,144	0,076	0,18	0,48	0,25
Cr	0,155	0,41	0,22	0,52	1,38	0,72
Pb	0,95	2,54	1,33	3,17	8,46	4,44
Si	4,43	11,8	6,2	14,8	39,5	20,7

Na Tabela 10 apresentam-se os valores de referência retirados da literatura e adotados neste estudo. Como se pode verificar, os limites de detecção e quantificação obtidos para todos os elementos permitem detectar todos os metais em concentrações muito baixas e quantificar rigorosamente a maior parte deles.

Tabela 10. Valores de Referência retirados da literatura

Elementos	Sangue ($\mu\text{g/L}$)	Soro ($\mu\text{g/L}$)	Urina ($\mu\text{g/L}$)
Alumínio (F)	13,1 \pm 8,84	6,65 \pm 3.13	16,4 \pm 8,79
Cádmio (B)	0,81 \pm 0,29	0,08 \pm 0,02	0,30 \pm 0,17
Crômio (B)	0,36 \pm 0,44	1,79 \pm 1,49	0,43 \pm 0,15
Chumbo (B)	41,5 \pm 16,5	-----	1,53 \pm 0,72
Silício (F)	188 \pm 97	395 \pm 72	6840 \pm 3299 (6.84 \pm 3.30 $\mu\text{g/mL}$)

(B) Adotados de Bocca et al., 2004; (F) Adotados de Forte et al., 2004

A precisão pode ser definida como sendo o grau de dispersão de um conjunto de resultados de medição de uma mesma grandeza e sob as mesmas condições (Araújo, 2008). Este parâmetro foi avaliado através do estudo da repetibilidade da técnica analítica e do procedimento experimental global.

Para o estudo da repetibilidade instrumental foram efetuadas 20 leituras sobre a mesma toma de uma solução padrão de cada elemento, e sobre a mesma toma de uma amostra de sangue. O resultado foi expresso em termos de coeficiente de variação e está representado em percentagem. Os valores são apresentados na Tabela 11.

$$\text{Coeficiente de variação (CV) (\%)} = \text{desvio padrão} / \text{média} * 100$$

Tabela 11. Avaliação da Precisão em soluções padrão dos metais e em amostras biológicas

Precisão (CV%)					
Elemento	Repetibilidade Instrumental		Repetibilidade Global		
	Padrão^a	Sangue	Sangue	Soro	Urina
Al	3,0	4,0	8,5	8,0	7,5
Cd	1,4	2,2	7,8	7,1	6,5
Cr	2,5	3,3	10,0	4,9	5,7
Pb	1,3	2,2	8,7	5,5	5,0
Si	3,5	4,0	9,8	9,0	9,5

^a – Concentração dos metais: Al - 10 µg/L, Cd - 1,0 µg/L, Cr - 5,0 µg/L, Pb - 10 µg/L, Si - 50 µg/L

Analisando os valores obtidos para a repetibilidade instrumental conforme a Tabela 11, verifica-se que os coeficientes de variação encontrados numa amostra de padrão para os diferentes elementos, foram inferiores a 3.6%. Numa amostra de sangue, os coeficientes de variação encontrados para os diferentes elementos foram inferiores a 4.1%. Isto significa que a técnica analítica é precisa uma vez que os valores obtidos foram todos inferiores a 10%.

A repetibilidade do procedimento experimental global representa a proximidade ou a concordância dos resultados obtidos após medições sucessivas, usando um mesmo método e efetuadas sob as mesmas condições de medição (mesmo operador e mesmas condições de trabalho). Para este estudo foram realizadas leituras dos vários elementos nos digestos de 20 tomas distintas de uma mesma amostra de sangue, soro e urina. O resultado foi expresso em termos de coeficiente de variação (%).

Os coeficientes de variação obtidos para a repetibilidade global para os metais em estudo foram todos inferiores a 10,1%, comprovando a precisão da técnica analítica adotada. Ver Tabela 11. Estes valores estão de acordo com a Legislação Europeia

(Comissão das Comunidades Europeias, 2002). Considerando os valores correspondentes às amostras de sangue, soro e urina, os coeficientes de variação encontrados foram de 8,5, 8,0, 7,5% para o alumínio; 7,8, 7,1, 6,5% para o cádmio; 10,0, 4,9, 5,7% para o crómio; 8,7, 5,5, 5,0% para o chumbo e, finalmente, 9,8, 9,0, 9,5% para o silício.

Para avaliar a exatidão do procedimento global analítico recorreu-se ao método da adição de padrões e respetivo estudo das recuperações obtidas. Para esta determinação foram preparadas várias alíquotas de uma mesma amostra de sangue para determinação do alumínio, cádmio, chumbo e crómio, e de uma amostra de urina para o silício. A todas as tomas foram adicionadas quatro concentrações conhecidas de padrão de alumínio, cádmio, chumbo, crómio e silício e submetidas a todos os processos de digestão ácida, nas mesmas condições experimentais já descritas. Em paralelo, foram também preparados vários ensaios em branco, sujeitos também às mesmas condições experimentais.

Para todos os ensaios efetuados, foram determinadas a concentração inicial, a concentração final, a % de recuperação obtida e o desvio padrão correspondente.

Observando a Tabela 12 pode verificar-se que se encontraram bons resultados, pois as recuperações obtidas para todos os elementos foram superiores a 90% e o desvio padrão foi inferior a 3,5%.

Os resultados da validação do método permitem concluir que o procedimento adotado é preciso e exato para as matrizes e elementos estudados.

Tabela 12. Valores obtidos para o estudo da Exatidão do método

Elementos	Concentração Inicial (µg/L)	Concentração Adicionada (µg/L) n = 6	Concentração Final (µg/L)	Desvio padrão (%)	Recuperação obtida (%)	Desvio Padrão (%)
Al	6,83±0,13	5,0	11,2±0,46	3,1	95±3	3,4
		10,0	16,1±0,46	2,8	96±3	2,9
		20,0	26,0±0,44	1,9	97±2	1,7
		40,0	45,5±0,53	1,2	97±3	1,2
Cd	0,45±0,01	0,5	0,90±0,02	1,7	95±1	1,1
		1,0	1,38±0,03	2,1	95±2	1,8
		1,5	1,84±0,04	2,0	94±3	1,5
		2,0	2,35±0,07	2,9	96±2	1,6
Cr	1,42±0,02	2,5	3,70±0,07	2,0	94±4	1,7
		5,0	6,08±0,08	1,3	95±3	1,2
		10,0	10,9±0,14	1,2	96±2	1,2
		15,0	15,8±0,23	1,4	92±2	1,4
Pb	5,53±0,10	5,0	10,1±0,22	1,7	96±3	2,2
		10,0	14,8±0,42	2,4	95±3	2,8
		25,0	28,5±0,88	3,2	94±5	3,1
		50,0	51,8±0,79	1,5	93±2	1,5
Silício (urina)	7,15±0,02	25,0	30,6±0,445	1,4	95±4	1,4
		5,0	53,1±0,49	0,9	93±3	1,0
		100,0	102,32±1,30	1,3	95±4	1,3
		250,0	198,9±3,7	1,9	96±3	1,9

4.8. Análise dos metais nas amostras biológicas

Os elementos em estudo foram doseados por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica. Para cada elemento houve necessidade de ajustar as melhores condições de temperatura e tempos de secagem, pirólise e atomização, bem como os modificadores de matriz adequados, para obter uma melhor leitura e com menores interferências. Na Tabela 13 estão referidas as condições selecionadas para cada elemento.

Tabela 13. Condições de análise dos metais por EAA/AE

Parâmetros	Silício	Alumínio	Chumbo	Cádmio	Crômio
Comprimento de onda (nm)	251,6	309,3	283,3	228,8	357,9
Temperatura Pirólise (°C)	1200	1200	850	500	1500
Temperatura Atomização (°C)	2350	2300	1600	1500	2300
Modificador de matriz	15µg Mg (NO ₃) ₂	15µg Mg (NO ₃) ₂	3µg Mg (NO ₃) ₂ + 5µg Pd (NO ₃) ₂	3µg Mg (NO ₃) ₂ + 5µg Pd (NO ₃) ₂	3µg Mg (NO ₃) ₂ + 5µg Pd (NO ₃) ₂
Volume de injeção do modificador	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL
Volume de injeção da amostra	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
Gás inerte e Fluxo	Árgon /250ml/min				
Corretor de background	Zeeman				

O pipetador automático foi programado para pipetar, sequencialmente, o modificador de matriz (10 µL), seguido pela solução padrão / amostra (20 µL) e dispensados juntos no tubo.

5. Resultados

5.1. Teores de metais nas amostras biológicas

5.1.1. Alumínio

Os resultados de alumínio obtidos nas amostras de sangue, soro e urina dos dois grupos em estudo estão apresentados na Tabela 14 em termos de média±desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo.

Tabela 14. Concentrações de Alumínio ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina

Amostras	Sangue ($\mu\text{g/L}$)	Soro ($\mu\text{g/L}$)	Urina ($\mu\text{g/L}$)
Trabalhadores n=30	25,8 \pm 24,1 med=15 (7,5- 90,0)	8,00 \pm 8,84 med=2,24 (1,12 – 30,0)	5,86 \pm 6,95 ^a med=0,59 (0,59 - 25,6)
Controlo n=20	18,0 \pm 14,0 med=15 (2,24 – 60,0)	6,82 \pm 4,24 med=7,50 (2,24 – 15,0)	0,86 \pm 0,89 ^a med=0,59 (0,59 - 4,20)

^a valores estatisticamente diferentes por Paired t test

Conforme mostra a Tabela 14, os valores de referência para o alumínio nas amostras de sangue são de 13,1 \pm 8,84 $\mu\text{g/L}$, para o soro 6,65 \pm 3,13 $\mu\text{g/L}$ e para a urina 16,4 \pm 8,79 $\mu\text{g/L}$.

As concentrações de alumínio nas amostras de sangue referentes ao grupo controlo, $18,0 \pm 14,0 \mu\text{g/L}$, encontram-se dentro dos valores de referência. Para o grupo de trabalhadores, os valores encontrados, $25,8 \pm 24,1 \mu\text{g/L}$, são superiores aos valores de referência, embora sem significado estatístico, o que se deve à grande variabilidade de valores nos dois grupos.

Nas amostras de soro, os valores obtidos para o grupo controlo foram de $6,82 \pm 4,24 \mu\text{g/L}$, e para o grupo de trabalhadores, $8,00 \pm 9,09 \mu\text{g/L}$, indicando que se encontram próximos dos valores de referência e semelhantes entre si.

Relativamente às amostras de urina, estas apresentam gamas de concentrações que se situam dentro dos valores de referência. Para o grupo controlo, a concentração obtida foi de $0,86 \pm 0,89 \mu\text{g/L}$ e para o grupo de trabalhadores foi de $5,86 \pm 6,90 \mu\text{g/L}$, apresentando esta diferença significado estatístico ($p= 0.0031$).

Krewski *et al.*, 2007, consideram que o valor de concentração normal de alumínio no plasma se situa entre 1 e 2 $\mu\text{g/L}$. Estes autores assumem que a monitorização biológica a uma exposição ocupacional pode ser determinada através da urina que é um indicativo de exposição recente ou através do plasma que é indicativo de uma exposição a longo termo. Contudo, dependendo do tipo e via de exposição, a clearance do alumínio pode ser caracterizada com diversos tempos de semi-vida: dias, meses ou anos. Krewski *et al.*, 2007, referem ainda que na exposição ocupacional ao alumínio se observa uma maior concentração de alumínio na urina do que no plasma. Os resultados obtidos no presente trabalho estão em linha com os do autor, uma vez que a concentração média de alumínio na urina dos trabalhadores era superior à do sangue/soro e significativamente superior nos trabalhadores quando comparada com a média obtida no grupo controlo. Sendo os indivíduos do grupo em estudo trabalhadores no ativo, os níveis de alumínio nas amostras biológicas referem-se a uma exposição atual, evidenciando que a concentração de alumínio na urina constitui um biomarcador de exposição adequado à monitorização das condições de trabalho e das medidas de proteção adotadas. Acresce que a urina apresenta a vantagem de se obter de forma não invasiva, constituindo um motivo de melhor adesão dos trabalhadores ao rastreio periódico.

5.1.2. Cádmio

O cádmio foi determinado nas amostras de sangue, soro e urina dos indivíduos do grupo controlo e do grupo de trabalhadores. Na tabela 15 estão indicados os valores correspondentes à média±desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo.

Tabela 15. Concentrações de Cádmio ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina

Amostras	Sangue ($\mu\text{g/L}$)	Soro ($\mu\text{g/L}$)	Urina ($\mu\text{g/L}$)
Trabalhadores n=30	0,90 \pm 1,15 med=0,35 (0,072 - 4,32)	< LQ	0,162 \pm 0,180 med= 0,038 (0,038 - 0,87)
Controlo n=20	0,43 \pm 0,41 med=0,38 (0,072 - 1,45)	< LQ	0,123 \pm 0,180 med= 0,038 (0,038 – 0,69)

Os valores de referência para o cádmio são 0,81 \pm 0,29 $\mu\text{g/L}$ para o sangue, 0,08 \pm 0,02 $\mu\text{g/L}$ para o soro e 0,30 \pm 0,13 $\mu\text{g/L}$ para a urina, conforme apresentado na Tabela 10.

Os valores encontrados no sangue para o grupo de trabalhadores, $0,90 \pm 1,15$ $\mu\text{g/L}$, encontram-se, em termos de média, dentro dos valores de referência. Embora superiores aos do grupo controle ($0,43 \pm 0,41$ $\mu\text{g/L}$), a diferença não apresenta significado estatístico.

Os valores de cádmio determinados no soro para o grupo controle e para o grupo de trabalhadores foram inferiores ao limite de quantificação ($0,48$ $\mu\text{g/L}$).

Nas amostras de urina, os valores encontrados, $0,162 \pm 0,24$ $\mu\text{g/L}$ para o grupo de trabalhadores e $0,123 \pm 0,18$ $\mu\text{g/L}$ para o grupo controle, também se encontram dentro do intervalo dos valores de referência. Não foi encontrada qualquer diferença estatística entre os referidos valores. Sendo o cádmio um metal com um enorme tempo de residência no organismo (cerca de 30 anos), não é de estranhar que os níveis urinários sejam semelhantes nos dois grupos estudados. Após absorção, o cádmio circula no sangue antes de se distribuir nos tecidos moles e no esqueleto. Assim, o seu doseamento no sangue mostra ser mais adequado à monitorização dos trabalhadores no ativo, fazendo da concentração sanguínea o mais fidedigno biomarcador de exposição a este metal.

5.1.3. Crómio

Tal como para os outros elementos, o crómio total foi também doseado nas amostras de sangue, soro e urina, no grupo controlo e no grupo de trabalhadores. Na Tabela 16 estão indicados os valores correspondentes à média±desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo.

Tabela 16. Concentrações de Crómio total ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue, soro e urina

Amostras	Sangue ($\mu\text{g/L}$)	Soro ($\mu\text{g/L}$)	Urina ($\mu\text{g/L}$)
Trabalhadores n=30	1,67 \pm 1,07 med=1,38 (0,21 – 2,76)	3,39 \pm 4,04 med=1,38 (0,21 – 11,0)	< LQ med=0,21 (0,21 – 1,44)
Controlo n=20	< LQ med=0,41 (0,21 – 1,38)	< LQ med=0,21 (0,21 – 1,38)	< LQ med=0,21 (0,21 – 1,44)

Pela análise da Tabela 16 podemos verificar que as amostras de sangue/soro e urina do grupo controlo apresentam todas valores inferiores ao limite de quantificação (1,38 e 0,72 $\mu\text{g/L}$, respetivamente).

No grupo dos trabalhadores apenas os valores médios no sangue e no soro se situam acima dos limites de quantificação.

A concentração média das amostras de sangue do grupo de trabalhadores foi de $1,67 \pm 1,07 \mu\text{g/L}$ e a do soro, $3,39 \pm 4,04 \mu\text{g/L}$. Estes resultados são superiores aos valores de referência ($0,36 \pm 0,44$ e $1,79 \pm 1,49 \mu\text{g/L}$, respetivamente). Como os valores de crómio no sangue e soro do grupo controlo foram inferiores ao limite de quantificação, não foi possível avaliar o significado de possíveis diferenças.

De acordo com estes valores de referência podemos concluir que em termos médios os teores de crómio total no sangue e no soro dos trabalhadores estão acima dos valores de referência.

O estudo realizado para o crómio no presente trabalho é deficitário em termos de significado toxicológico dos valores encontrados. De facto, tanto na análise do pó do granito como no material biológico dever-se-ia ter feito a análise de especificação deste metal. É sabido que o crómio VI sofre no organismo uma extensa redução a crómio III (Zhang *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2008) e para os níveis tão baixos de crómio total encontrado consideramos que a análise de especificação no material biológico seria muito difícil ou impossível. Ao contrário, consideramos que a análise de especificação do crómio no pó da rocha teria sido elucidativa do potencial risco dos trabalhadores por inalação deste metal. Será objeto de um estudo futuro.

Zhang *et al.*, 2011, realizaram um estudo em trabalhadores de galvanoplastia sujeitos a uma exposição ocupacional e obtiveram a concentração de crómio de $4,41 \mu\text{g/L}$ no grupo cronicamente exposto ao metal, que foi cerca de três vezes superior ao grupo controlo, com valores de $1,54 \mu\text{g/L}$. Estes valores são indicativos de uma exposição crónica.

5.1.4. Chumbo

O chumbo foi apenas determinado nas amostras de sangue e urina porque este elemento na corrente sanguínea, circula essencialmente ligado aos eritrócitos. De acordo com Lesage *et al.*, 2010, a determinação da concentração de chumbo no sangue é o melhor marcador biológico de exposição ao chumbo quando a exposição é contínua ao longo de semanas. Ocorre um aumento desde o primeiro dia de exposição até ao terceiro mês, e a concentração mantém-se estável a partir desta data.

Na Tabela 17 estão indicadas as concentrações de chumbo correspondentes à média±desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo.

Tabela 17. Concentrações de Chumbo ($\mu\text{g/L}$) em amostras de sangue e urina

Amostras	Sangue ($\mu\text{g/L}$)	Urina ($\mu\text{g/L}$)
Trabalhadores n=30	28,2 \pm 17,5 ^a med=21,6 (11,0 – 72,6)	4,19 \pm 3,12 ^b med=4,77 (0,67 – 11,9)
Controlo n=20	14,5 \pm 1,68 ^a med= 8,45 (1,27 – 11,0)	2,29 \pm 1,64 ^b med=1,34 (0,67 – 4,44)

^{a,b} valores estatisticamente diferentes por Paired t test

Para o chumbo, os valores de referência são $41,5 \pm 16,5$ e $1,53 \pm 0,72$ $\mu\text{g/L}$ para sangue e urina, respetivamente.

As concentrações médias encontradas para o grupo de trabalhadores foram de $28,2 \pm 17,5$ e $4,19 \pm 3,12$ $\mu\text{g/L}$ para o sangue e urina, respetivamente. O grupo controlo apresentou concentrações de $14,5 \pm 1,68$ e $2,29 \pm 1,64$ $\mu\text{g/L}$ para o sangue e urina, respetivamente. Os resultados obtidos para o grupo controlo e o grupo de trabalhadores mostraram ser estatisticamente diferentes, tanto no sangue como na urina. Isto significa que o grupo de trabalhadores, através da inalação de poeiras, está exposto a uma concentração adicional de chumbo, relativamente à população controlo.

Conterato *et al.*, 2011, avaliaram a exposição ao chumbo doseando o elemento no sangue de um grupo de pintores, um grupo de trabalhadores de baterias e um grupo controlo. Os indivíduos do grupo controlo apresentavam níveis de chumbo no sangue de 15 $\mu\text{g/L}$. Nos pintores, a concentração média foi de 54 $\mu\text{g/L}$, muito superiores aos do grupo controlo. No grupo de indivíduos que trabalhava com baterias encontraram-se várias concentrações que variaram com uma série de factores como a idade, o tempo de exposição, entre outros e que em termos médios foi de 498 $\mu\text{g/L}$.

Comparando com os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que os materiais envolvidos nas tarefas dos trabalhadores são determinantes na exposição ao chumbo.

5.1.5. Silício

As concentrações de silício foram avaliadas no grupo de trabalhadores e no grupo controlo em amostras de sangue, soro e de urina. A Tabela 18 indica os valores correspondentes à média±desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo.

Tabela 18. Concentrações de Silício ($\mu\text{g/mL}$) nas amostras de sangue, soro e urina

Amostras	Sangue $\mu\text{g/L}$	Soro $\mu\text{g/L}$	Urina $\mu\text{g/mL}$
Trabalhadores n=30	< LQ	< LQ	10,2±8,63 ^a med= 8,68 (1,11-36,9)
Controlo n=20	< LQ	< LQ	3,38±1,96 ^a med= 2,89 (1,28 – 7,18)

^avalores estatisticamente diferentes por Paired t test

A Tabela 18 mostra-nos que o grupo controlo apresenta uma concentração média de silício na urina de $3,38 \pm 1,96 \mu\text{g/mL}$, que se situa dentro da gama de valores

considerados como referência ($6,87 \pm 3,30 \mu\text{g/ml}$, Tabela 11). No grupo de trabalhadores os valores, em termos de média, são mais elevados, $10,2 \pm 8,63 \mu\text{g/mL}$, sendo os valores significativamente superiores quando comparados com o controlo ($p=0.0003$), o que indicia uma exposição ao silício.

Golbabaie et al., (2004) estudaram a exposição de trabalhadores a poeiras em pedreiras de mármore, relacionando com o tipo de tarefa e o modo como a realizavam. Verificaram que a exposição a poeiras de sílica respirável no ambiente de trabalho era muito superior ($11,2 \text{ mg/m}^3$) nos trabalhadores que usavam a broca do que naqueles que operavam com máquinas de corte apropriadas ($1,8 \text{ mg/m}^3$). Este estudo demonstra que na avaliação da exposição é importante ter em conta vários fatores, entre eles as técnicas e instrumentos usados no trabalho de corte e polimento da pedra.

Também o ambiente em que as tarefas são realizadas poderá influenciar o nível de exposição às poeiras. No nosso estudo, é interessante observar que o grupo de pedreiros que trabalhavam a céu aberto apresentavam uma concentração média de silício na urina de $8,25 \pm 5,06 \mu\text{g/mL}$ enquanto o grupo de pedreiros que trabalhavam em ambiente confinado tinham uma concentração média de silício na urina de $10,2 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$. Os dois grupos trabalhavam com maquinaria de corte, contudo, a céu aberto, a dispersão das poeiras formadas pode ser mais eficaz do que a extracção efectuada em ambiente confinado pelo extractor.

5.2. Avaliação de parâmetros bioquímicos

5.2.1. Biomarcadores de efeito em sangue e urina e possível relação com a exposição a metais no grupo de trabalhadores

A quantificação de parâmetros bioquímicos em material biológico de trabalhadores é fundamental e fornece valores a serem utilizados na interpretação dos problemas identificados pela avaliação clínica, constituindo uma componente essencial para relacionar a exposição a tóxicos com estados fisiopatológicos. Estas informações laboratoriais podem ser utilizadas para fins de diagnóstico ou de confirmação de um diagnóstico preliminar previamente estabelecido durante o exame físico ou o historial do paciente (Budnik and Baur, 2009).

Neste estudo pretendeu-se complementar a avaliação dos biomarcadores de exposição com a avaliação de alguns biomarcadores de efeito. Foi feita uma pré-seleção destes biomarcadores, considerando, em primeiro lugar, aqueles que melhor correlação apresentam com a exposição aos metais em estudo, tendo também em conta os recursos materiais disponíveis.

No sangue venoso foram determinados cinco biomarcadores de efeito: creatinina, β ,2-microglobulina, albumina, ureia e fosfatase alcalina.

Na urina de 24 h foram determinados os seguintes biomarcadores de efeito: proteínas totais, porfirinas, uroporfirinas, coproporfirina, coproporfirina I e coproporfirina III.

Registamos que era de grande interesse determinar outros parâmetros como a proteína CC16, biomarcador de lesão pulmonar, que se revelaria de grande interesse neste estudo já que a sílica, elemento maioritário do granito, é sobretudo lesiva do pulmão. No entanto, do ponto de vista económico, revelou-se impossível.

Os valores encontrados para os parâmetros bioquímicos quantificados serão discutidos de acordo com os valores de referência do Laboratório que realizou as análises dos biomarcadores de efeito conforme se mostra na Tabela 19.

Tabela 19. Valores de referência dos parâmetros bioquímicos*

Parâmetro bioquímico	Valores de referência
B ₂ – microglobulina	0,6 – 2,3 mg/L
Creatinina	0,50 – 1,20 mg/dL
Ureia	10 – 50 mg/dL
Albumina	3,5 – 4,9 g/dL
Fosfatase Alcalina	38 – 126 U/L
Proteínas de 24 h	< 0,230 g/24 h urina
Porfirinas totais	< 150µg/24 h urina
Uroporfirina	< 25µg/24 h urina
Coproporfirina	< 100µg/24 h urina
Coproporfirina I	< 25µg/24 h urina
Coproporfirina III	< 75µg/24 h urina

*adoptados pelo laboratório Unilabs

5.2.2. Biomarcadores de efeito

5.2.2.1. β ,2-microglobulina

A β ,2-microglobulina é uma proteína de baixo peso molecular que se expressa em todas as células nucleadas, particularmente nos linfócitos B. É uma componente da cadeia leve do antígeno leucocitário.

A β ,2-microglobulina é encontrada em baixas concentrações no soro e urina de indivíduos normais. A concentração aumentada desta proteína é indicativo de doenças inflamatórias, disfunção renal e doenças auto-imunes, sendo usada como biomarcador de efeito ou de resposta a estas situações. Tem sido considerada um biomarcador de efeito tóxico renal, nomeadamente na exposição ao cádmio (Nordberg *et al.*, 2012).

No presente trabalho avaliou-se a β ,2-microglobulina no sangue venoso, de forma a perceber até que ponto os seus valores estariam alterados devido à exposição dos indivíduos às poeiras resultantes do trabalho da pedra.

Na Tabela 20 e Figura 7 estão os valores médios de β_2 -microglobulina para os grupos controle e de trabalhadores, sendo possível verificar que em todos os indivíduos os valores se encontravam dentro do intervalo de referência (0,6 - 2,3 mg/L).

Tabela 20. Valores de β_2 -microglobulina no grupo de Trabalhadores e no grupo Controle

Amostras	β_2- microglobulina (mg/L)
Trabalhadores n=30	1,53 \pm 0,26 med=1,50 (2,10 - 1,20)
Controle n=20	1,44 \pm 0,21 med=1,50 (1,70 - 1,00)

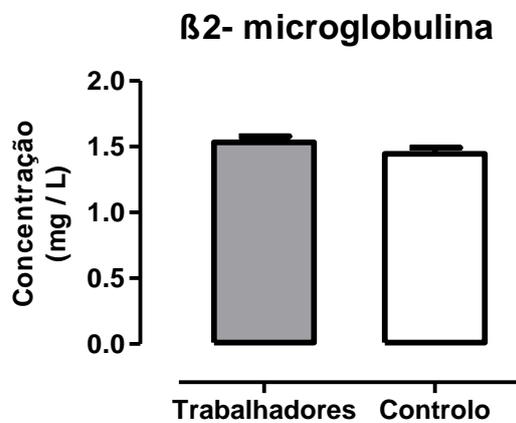


Figura 7. Concentração média de β_2 -microglobulina nos dois grupos

5.2.2.2. Creatinina e ureia

Concentrações sanguíneas aumentadas de ureia (valores de referência 10-50 mg/dL), assim como de creatinina (valores de referência 0,50-1,20 mg/dL) em regra indicam função renal insuficiente. Os valores da creatinina e da ureia no sangue são, assim, considerados dois biomarcadores indiciadores de possíveis lesões renais.

A Tabela 21 apresenta os resultados obtidos para o doseamento da creatinina e da ureia no grupo de trabalhadores e no grupo controlo. Todos os trabalhadores, bem como os indivíduos do grupo controlo, apresentaram, em termos de média, valores de ureia e de creatinina dentro dos valores de referência (10-50 mg/dL para ureia e 0,50-1,20 mg/dL para creatinina).

Tabela 21. Tabela resumo dos valores de Creatinina e Ureia

Amostras	Creatinina (mg/dL)	Ureia (mg/dL)
Trabalhadores n=30	0,89 ± 0,08 Med = 0,88 (1,04 – 0,76)	40,6 ± 8,50 Med = 41,0 (56,0 – 21,0)
Controlo n=20	0,92 ± 0,12 Med = 0,92 (1,10 – 0,56)	40,1 ± 7,60 Med = 37,0 (55,0 – 28,0)

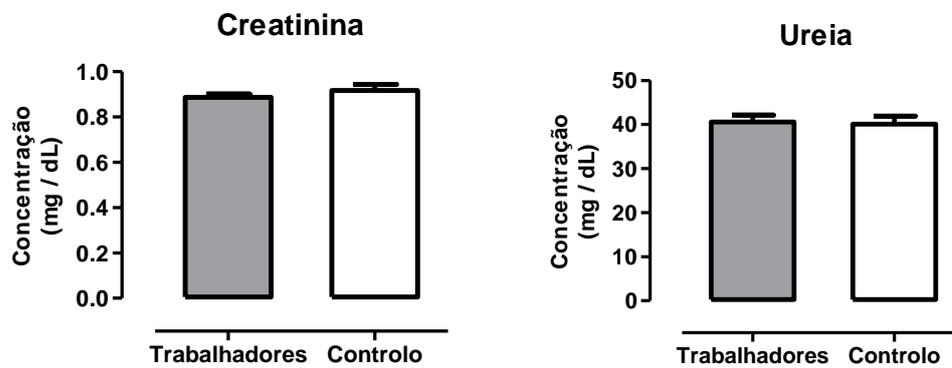


Figura 8. Valores médios de Creatinina e Ureia nos dois grupos

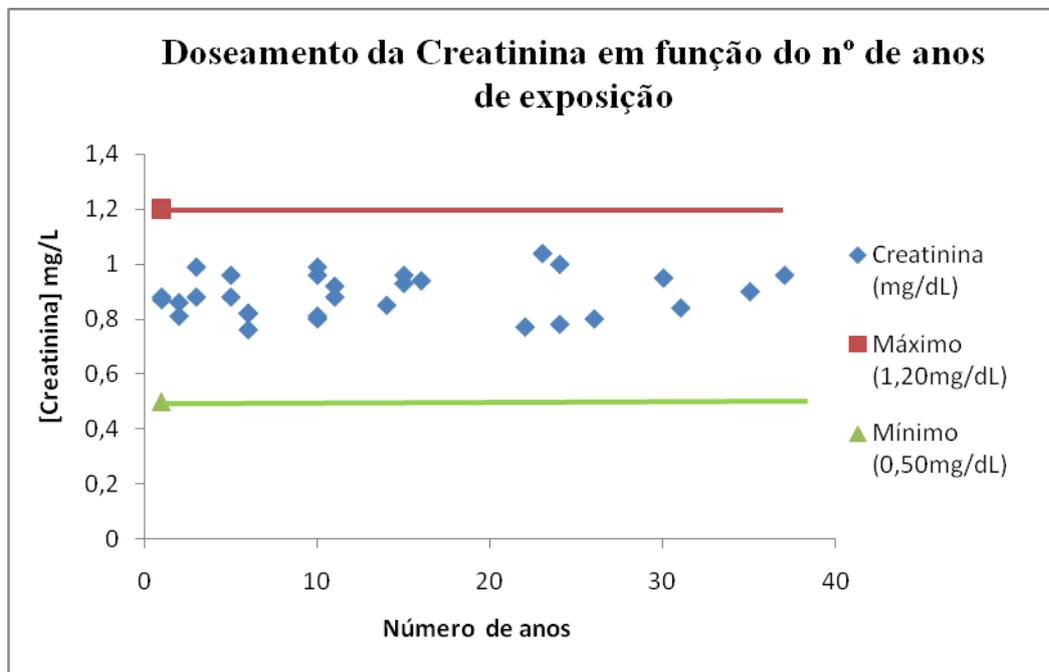


Figura 9. Valores de Creatinina nos trabalhadores em função do número de anos de exposição.

Como é possível observar na Figura 9, os valores de creatinina situam-se entre 0,76 e 1,04 mg/L, mostrando que os resultados foram semelhantes em todos os trabalhadores independentemente do número de anos de atividade. Todos os valores se encontram dentro dos valores de referência (0,5 - 1,2 mg/L).

Da interpretação dos valores obtidos de creatinina e ureia, conclui-se que a função renal não está afectada nos indivíduos dos dois grupos.

5.2.2.3. Albumina

A albumina é quantitativamente a proteína sérica mais importante sintetizada pelo fígado. Os valores séricos normais variam de 3,5 a 4,9 g/dL. O tempo de semi-vida desta proteína é razoavelmente prolongado (14 a 20 dias). Por vezes, os níveis séricos de albumina diminuem devido a perdas excessivas desta proteína, como por exemplo na síndrome nefrótica. Os valores séricos de albumina fora dos valores normais são indicativos de problemas hepáticos ou renais. É, portanto, um biomarcador de efeito tóxico do fígado e/ou rim. Os valores de referência da albumina no sangue são 3,5 - 4,9 g/dL.

Na Figura 10 representam-se, em percentagem, os trabalhadores distribuídos em função de intervalos de valores de albumina.

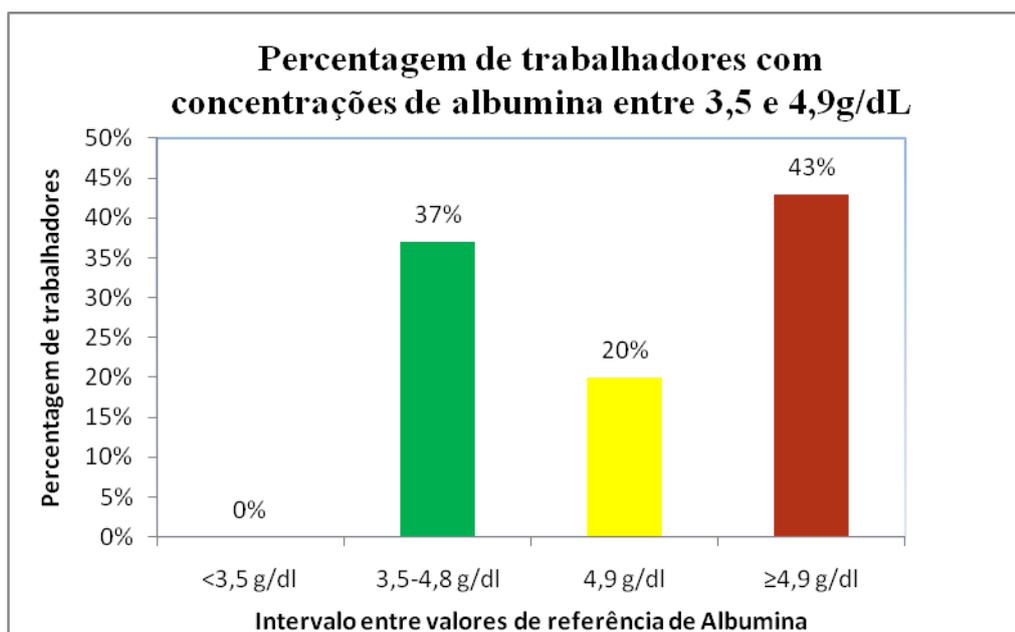


Figura 10. Percentagem de trabalhadores com valores de Albumina situados entre 3,5 a 4,9 g/dL

Como se pode observar na Figura 10, uma percentagem considerável de trabalhadores, 43%, apresentam valores de albumina superiores ao valor máximo de referência. Destaca-se ainda que 20% do total de trabalhadores apresentam concentrações de albumina correspondentes ao valor máximo de referência, 4,9 g/dL.

Relativamente ao grupo controlo, também uma grande percentagem de indivíduos apresentou valores iguais ou superiores a 4,9g/dL, cerca de 55%.

A figura 11 representa a percentagem de indivíduos nos dois grupos em função de intervalos de valores de albumina.

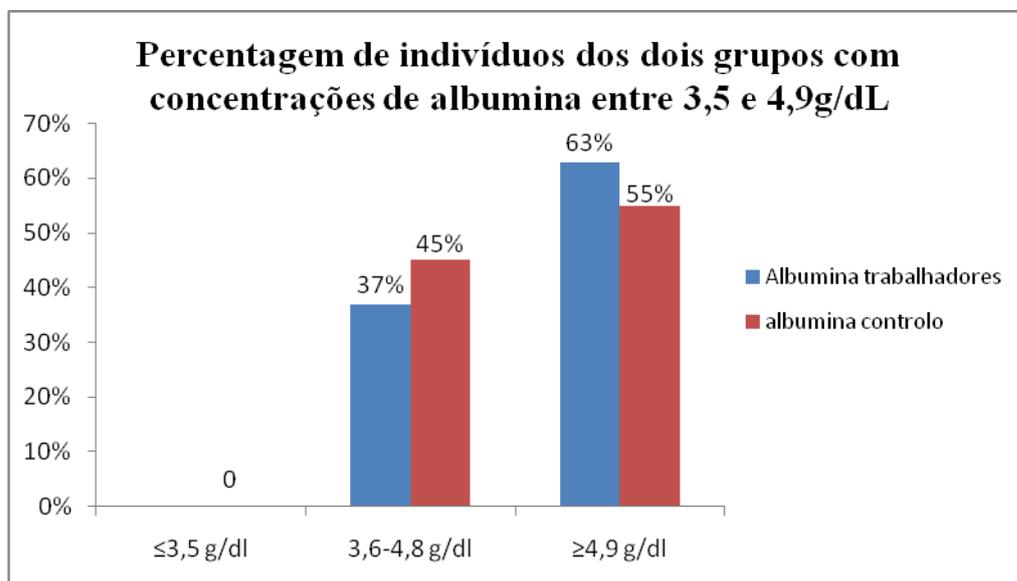


Figura 11. Distribuição dos indivíduos do grupo controlo e do grupo de trabalhadores (percentagem) em função dos valores sanguíneos de Albumina.

Tabela 22. Tabela resumo dos valores de Albumina no grupo de trabalhadores e controlo

Amostras	Albumina (g/dL)
Trabalhadores n=30	4,91 ± 0,25 Med = 4,90 (5,50 – 4,50)
Controlo n=20	4,90 ± 0,19 Med = 4,90 (5,30 – 4,50)

É de destacar que o valor médio de albumina se apresenta, nos dois grupos, no limite máximo recomendado (4,9 g/dL). Relativamente a este parâmetro, tentámos averiguar se o valor de albumina dependia do ambiente de trabalho, isto é, a céu aberto ou confinado. Verificámos que em ambiente confinado apenas uma percentagem baixa de indivíduos (27%) apresentavam valores de albumina considerados normais (Figura 14) enquanto cerca de 46% apresentavam valores de albumina superiores ao valor máximo admitido (>4,9 g/dl), e 27% apresentavam 4,9 g/dl. Pode, assim, concluir-se que 73% do grupo de trabalhadores de ambiente confinado apresentavam valores de albumina sérica que suscitam preocupação. Em contrapartida, os indivíduos que trabalham em ambiente aberto apresentavam uma percentagem de 47% de trabalhadores com valores de albumina dentro dos valores considerados normais (3,5 a 4,9g/dL). Ver Figura 12.

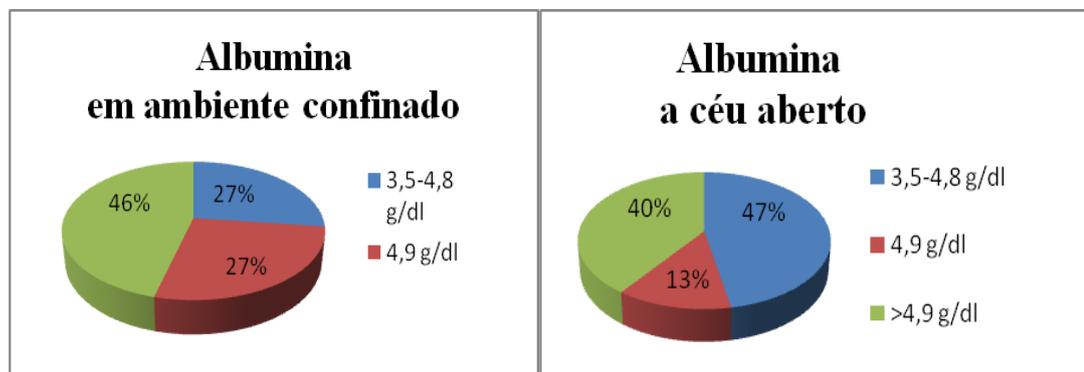


Figura 12. Percentagem de trabalhadores, em função dos valores de Albumina, no grupo de pedreiros que trabalhavam em ambiente confinado e a céu aberto.

No grupo de trabalhadores a céu aberto 47% apresentavam valores normais de albumina sérica, enquanto em ambiente confinado esse valor era apenas de 27%. O número de trabalhadores nos dois subgrupos, 15, não é suficiente para tirar conclusões fiáveis, mas o facto de haver no ambiente confinado uma percentagem inferior de trabalhadores com níveis de albumina normal pode sugerir necessidade de melhorar as condições do ambiente de trabalho.

5.2.2.4. Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima sintetizada no fígado, nos osteoblastos e nos epitélios intestinal e renal. Porém, são os hepatócitos os responsáveis pela maior parte da concentração sanguínea normal desta enzima.

Os valores de referência da fosfatase alcalina situam-se entre 38 e 126 U/L.

Aumentos discretos a moderados de ALP ocorrem em muitos indivíduos com distúrbios do parênquima hepático.

Neste trabalho não se observou em nenhum indivíduo valores deste biomarcador fora dos valores de referência, tendo sido os valores médios encontrados 72,7 U/L e 61,3 U/L, respetivamente para os trabalhadores e para os indivíduos controlo. Estes valores são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Valores de Fosfatase Alcalina (ALP) nos grupos de trabalhadores e controlo

Amostras	ALP (U/L)
Trabalhadores n=30	72,7 ± 19,6 Med = 68,5 (121,0 – 45,0)
Controlo n=20	61,3 ± 10,8 Med = 61,5 (84,0 – 39,0)

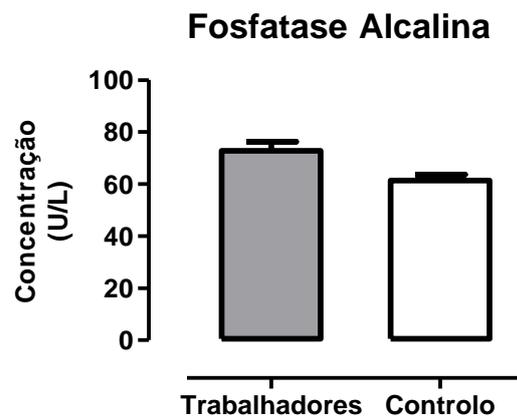


Figura 13. Valores médios de Fosfatase Alcalina nos dois grupos.

5.2.2.5. Proteínas totais na urina de 24 h

A proteinúria tubular é caracterizada pela excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular as quais, em condições normais, deveriam ser reabsorvidas pelas células tubulares.

Estudos realizados sobre exposição a metais estabeleceram uma relação entre os níveis de metais em material biológico dos trabalhadores e um aumento de proteínas excretadas em urina de 24 h (Lin *et al.*, 2003), nomeadamente a exposição ao chumbo relacionada com uma progressão da disfunção renal.

Com base nos valores de referência das proteínas totais (< 0,230 g/urina de 24 h) valores superiores a 0,230 g/urina 24 h são indicativos de uma falência renal e, portanto de uma situação patológica que deve ser averiguada.

Os valores encontrados de proteínas totais estão apresentados na Tabela 24 para os dois grupos.

Tabela 24. Valores de Proteínas totais em urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo

Amostras	Proteínas totais (g/24 h)
Trabalhadores n=30	0,06 ± 0,03 Med = 0,06 (0,18 – 0,02)
Controlo n=20	0,08 ± 0,03 Med = 0,08 (0,15 – 0,02)

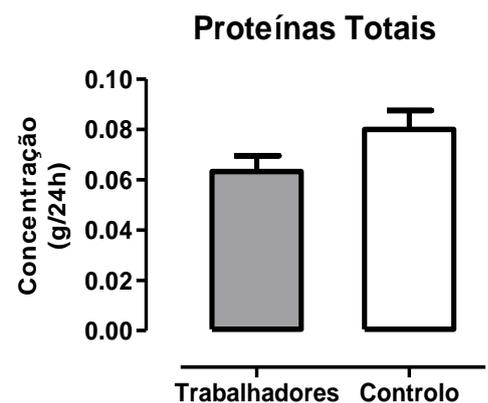


Figura 14. Valores de Proteínas totais nos dois grupos

Todos os indivíduos do grupo de trabalhadores e do grupo controlo apresentaram valores inferiores a 0,230 g na urina de 24 h.

5.3.2.6. Porfirinas

As porfirinas, coproporfirinas e uroporfirinas são proteínas intervenientes na via de biossíntese do grupo heme, tal como está representado na Figura 15. Como é sabido, o chumbo afecta alguns processos enzimáticos responsáveis pela síntese do grupo heme (Barbosa *et al.*, 2005).

Embora as porfirinas totais não sejam consideradas um biomarcador específico dos efeitos adversos do chumbo, quando os níveis de chumbo estão elevados, as porfirinas totais são usadas como biomarcadores de efeito.

Além disso, o chumbo deprime a coproporfinogénio oxidase, que resulta num aumento da atividade da coproporfirina. O chumbo também interfere com a ferroquelatase, inibindo a quelatação dos iões ferro na protoporfirina, o que promove a acumulação de protoporfirina livre e de coproporfirina na urina.

controlo foi 100 µg/urina de 24 h, não havendo diferenças significativas entre os valores dos dois grupos (tabela 25).

Tabela 25. Valores de Porfirinas totais em urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo

Amostras	Porfirinas totais (µg/24 h)
Trabalhadores n=30	82,1 ± 54,3 Med = 65,0 (231 – 17,0)
Controlo n=17	100,0 ± 43,7 Med = 88,0 (176,0 – 32,0)

A representação gráfica da Figura XX mostra de forma clara que as porfirinas totais nos dois grupos se encontram abaixo do valor máximo admitido (<150 µg/urina 24 h).

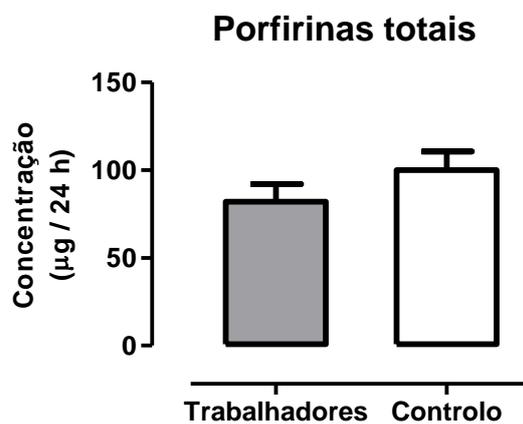


Figura 16. Representação dos valores de Porfirinas totais em µg/urina de 24h no grupo de trabalhadores e controlo

O valor de referência da coproporfirina I é <25 µg/urina de 24 h. No grupo de trabalhadores, a média encontrada foi de 24 µg/urina de 24 h e no grupo controlo 31

$\mu\text{g}/\text{urina}$ de 24 h. Paradoxalmente, os indivíduos do grupo controlo apresentavam valores superiores ao valor de referência e significativamente superiores ao grupo de trabalhadores (Tabela 26 e figura 17).

Tabela 26. Valores de Coproporfirinas I em urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo

Amostras	Coproporfirinas I ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)
Trabalhadores n=30	23,5 \pm 10,5 Med = 22,2 (45,7 – 7,9)
Controlo n=17	31,2 \pm 10,2 Med = 32,1 (47,7 – 11,1)

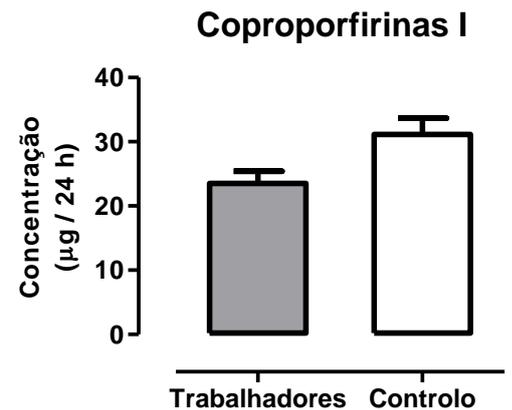


Figura 17. Representação dos valores de Coproporfirinas I em $\mu\text{g}/\text{urina}$ 24 h no grupo de trabalhadores e controlo.

Relativamente ao grupo dos trabalhadores, este era constituído por 30 indivíduos dos quais 15 trabalhavam a céu aberto e os restantes (15 indivíduos) trabalhavam em ambiente confinado. Apesar de a média de coproporfirina I neste grupo estar abaixo do valor máximo admitido ($<25\ \mu\text{g}/\text{urina}$ de 24 h) foi interessante verificar que 10 indivíduos (de um total de 15), cerca de 67%, que trabalhavam 8 h em ambiente confinado apresentaram valores de coproporfirina I acima do valor máximo admitido (figura 18). Estes resultados levam-nos a concluir que a extração das poeiras no ambiente confinado não estará a ser suficientemente eficaz, favorecendo uma maior absorção de poeiras relativamente aos indivíduos que trabalham a céu aberto, onde se pressupõe uma dispersão das poeiras formadas.

A figura 19 apresenta somente dois indivíduos com valores discrepantes, o que nos indica que sob o ponto de vista ocupacional é mais seguro trabalhar a céu aberto.

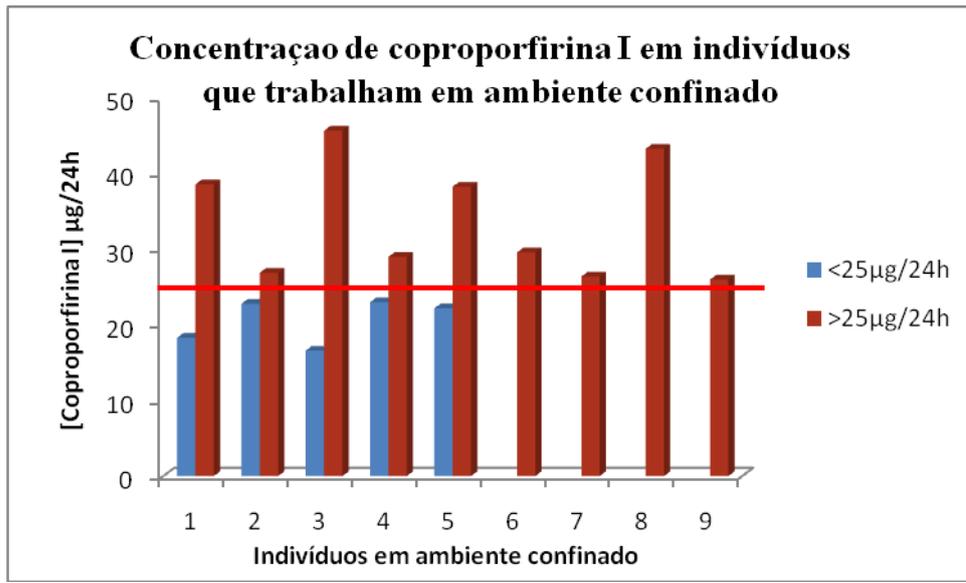


Figura 18. Concentração de Coproporfirina I em indivíduos que exerciam actividade em ambiente confinado.

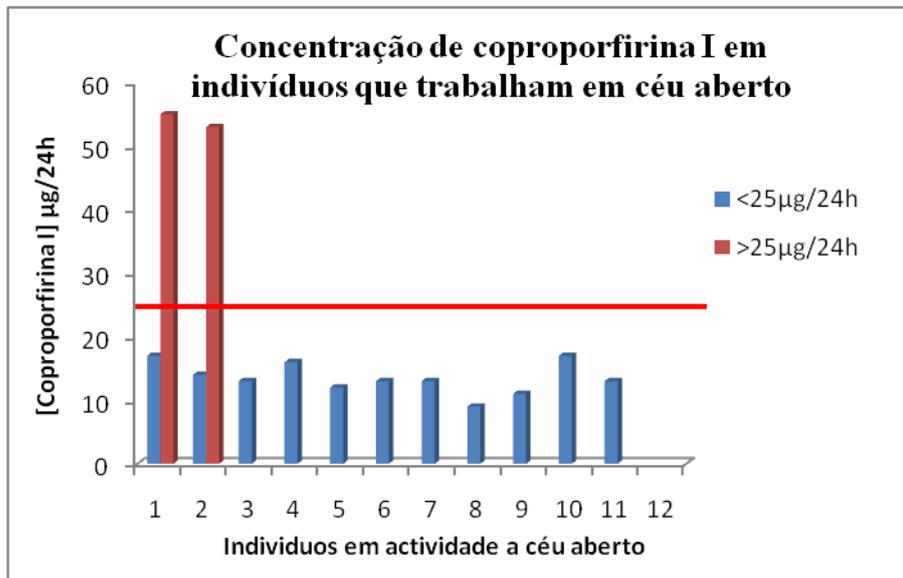


Figura 19. Concentração de Coproporfirina I em indivíduos que exerciam actividade em céu aberto.

Tentou-se também verificar se a idade dos trabalhadores estava relacionada com os valores aumentados de coproporfirina. Na Figura 20 podemos verificar que a faixa etária mais baixa, de 20 a 35 anos, é a que apresenta o número mais elevado de indivíduos com valores acima dos valores de referência.

Provavelmente este mecanismo segue de forma semelhante o mecanismo de absorção de chumbo tal como indica Lesage *et al.*, 2010. Neste estudo verificou-se ocorrer um aumento da concentração de chumbo desde o primeiro dia de exposição até ao terceiro mês, havendo depois uma estabilização dos valores. Nos indivíduos mais jovens a exposição ao chumbo poderá provocar no organismo uma resposta mais evidente, traduzida pelo aumento de coproporfirina. No entanto, esta tentativa de correlação é frágil e necessita de estudos mais profundos.

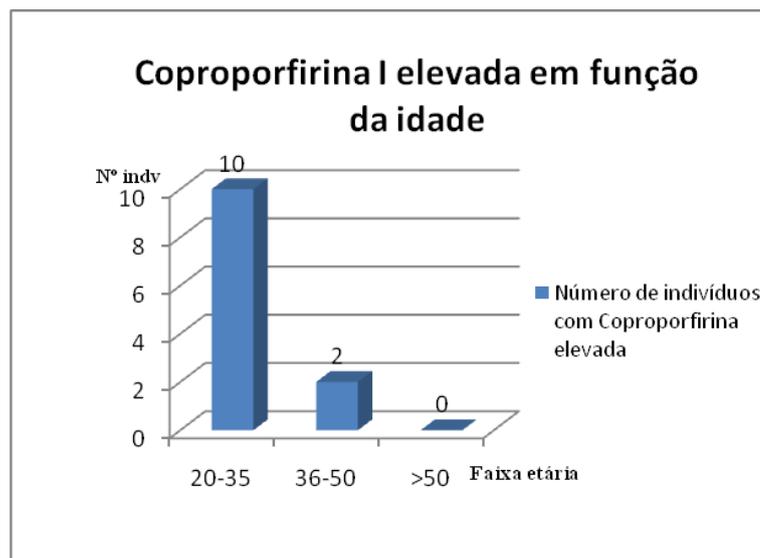


Figura 20. Número de indivíduos (grupo dos trabalhadores) com valores de Coproporfirina I elevados (>25µg/urina 24 h) em função da faixa etária.

Relativamente ao biomarcador de efeito uroporfirina, o valor de referência é de 25 µg/urina de 24 h. No grupo de trabalhadores, a média de valores foi de 18 µg/urina de 24 h e no grupo controlo 21 µg/urina de 24 h, não havendo diferença significativa entre os valores. Na Figura 21 representam-se os valores de uroporfirina nos dois grupos.

Tabela 27. Valores de Uroporfirinas em urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo.

Amostras	Uroporfirinas (g/24 h)
Trabalhadores n=30	18,4 ± 18,6 Med = 13,0 (95,0 – 5,0)
Controlo n=20	21,2 ± 9,00 Med = 22,0 (44,0 – 9,0)

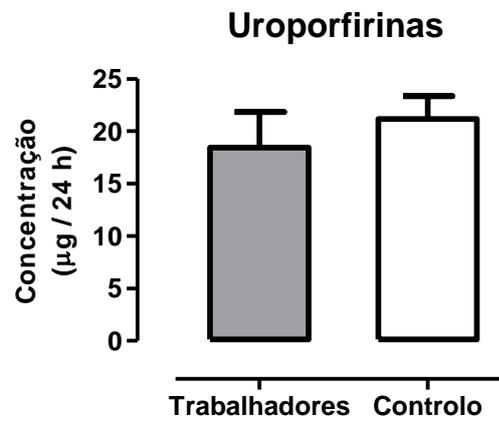


Figura 21. Representação dos valores das Uroporfirinas em µg/urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo.

O valor de referência da coproporfirina III é de 75 µg/urina de 24 h. No grupo de trabalhadores, a média deste biomarcador foi 37 µg/urina de 24 h e no grupo controlo 43 µg/urina de 24 h, não havendo diferença significativa entre os valores dos dois grupos.

Tabela 28. Valores de Coproporfirinas III em urina de 24 h no grupo de trabalhadores e controlo

Amostras	Coproporfirinas III (µg/24 h)
Trabalhadores n=30	37,0 ± 29,2 Med = 30,0 (94,4 – 1,60)
Controlo n=20	42,8 ± 31,4 Med = 33,4 (99,5 – 7,70)

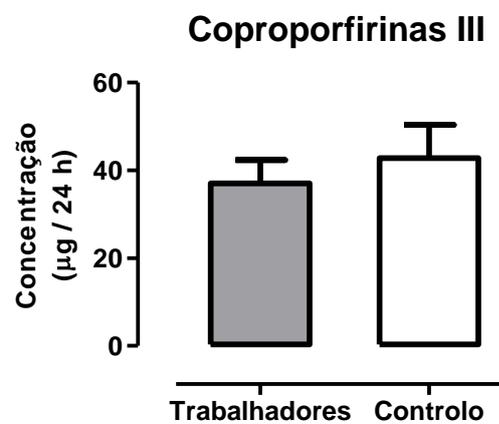


Figura 22. Representação dos valores de Coproporfirinas III em µg/urina de 24h no grupo de trabalhadores e controlo.

5.3. Análise dos Inquéritos

Aquando da recolha das amostras biológicas ao grupo de trabalhadores foi feito no momento e no local um inquérito a cada homem que se disponibilizou para este estudo. Com este inquérito tínhamos como objectivo perceber melhor a origem do grupo e a dinâmica associada a cada um deles.

15- Já alguma vez fez um Raios-X pulmonar? Faz de quanto em quanto tempo?

16- Se sim qual foi o diagnóstico?

17- Ultimamente tem-se constipado? _____

De 1 a 5 responda consoante o seu grau de satisfação.

18-Concorda com o uso de máscara de proteção enquanto trabalha?						
Não concordo						Concordo plenamente

19-Concorda em fazer análises regularmente?						
Não concordo						Concordo plenamente

20-Sente que as poeiras influenciam o seu sistema respiratório?						
Não concordo						Concordo plenamente

21- Habita junto de alguma estrada com muito trânsito?

22- Habita junto de alguma indústria?

Obrigada pela sua colaboração!

5.3.1. Análise demográfica

O grupo era constituído por trinta homens com idades compreendidas entre 20 e 65 anos de idade, trabalhando 15 em ambiente confinado e 15 em pedreiras a céu aberto. Com o fim de tentar interpretar os resultados obtidos em função da idade dos trabalhadores, o grupo subdividiu-se em 3 faixas etárias, conforme se apresenta na Tabela 29.

Tabela 29. Número de indivíduos por grupos etários

Idade (anos)	nº Indivíduos
20-35	15
36-50	10
>50	5

Relativamente ao número de anos que cada indivíduo tinha de actividade à altura da realização deste estudo, verificou-se que há uma boa distribuição, considerando os seguintes intervalos de actividade: 0-5 anos, 6-10 anos, 11-20 anos e mais do que 20 anos. Esta distribuição está representada na Figura 23.

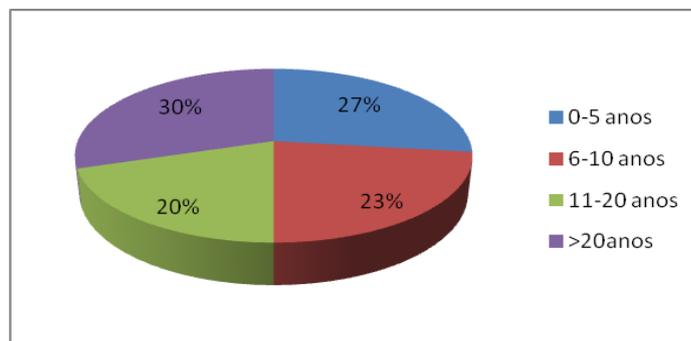


Figura 23. Percentagem de Trabalhadores por número de anos de trabalho

5.3.2. Análise de algumas questões colocadas no inquérito em função dos biomarcadores avaliados

Questão5: “Habitualmente qual a tarefa que realiza no seu ofício?”.

Com esta questão tentávamos perceber se as diferentes tarefas influenciavam os biomarcadores avaliados, por exemplo, um trabalhador que tem como tarefa o corte da pedra, provavelmente terá valores de coproporfirinas e de concentrações de metais superiores a um indivíduo que trabalha na cantaria, uma vez que a quantidade de pó da pedra produzido é muito superior no primeiro caso. A Tabela 24 mostra que a maior parte dos indivíduos se encontra na transformação ou na maquinaria de corte. Posteriormente tentaremos relacionar a tarefa realizada com valores laboratoriais fora dos parâmetros previstos.

Tabela 30. Distribuição das tarefas realizadas pelos trabalhadores

Ocupação / Tarefas dos pedreiros	nº Indivíduos
Transformação	9
Corte mecânico	10
Cantaria**	7
Extracção	4

**Cantaria é a técnica de transformar e manipular a pedra (com efeitos decorativos e estruturais) para a construção civil.

Questão 8: “caso seja fumador, há quantos anos fuma?”

O tabaco é uma variável a ser considerada, na medida em que contribui para alterações dos valores das concentrações de cádmio nos fluidos biológicos, assim como pode provocar danos pulmonares. Desta forma, foi perguntado a todos os indivíduos se fumavam e há quantos anos. Os dois gráficos seguintes representam o número de trabalhadores que fumavam e há quantos anos.

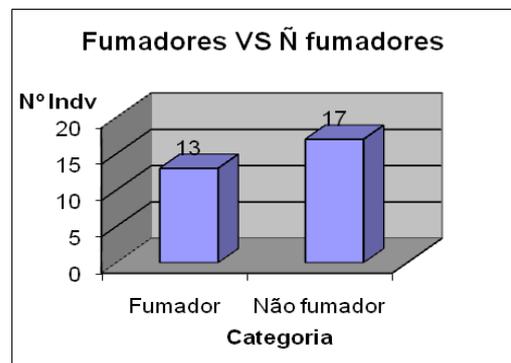


Figura 24. Número de fumadores *versus* não fumadores no grupo de trabalhadores

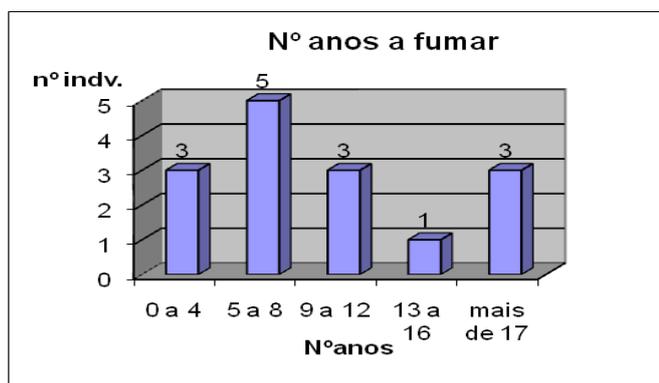


Figura 25. Número de anos como fumador

Questão 10: “Tem algum problema de saúde que queira apontar?”

Cerca de 67% do grupo assumiu ser saudável e não ter conhecimento de qualquer patologia, quer do foro respiratório, renal ou gástrico. Cerca de 17% dos indivíduos declararam ter crises de sinusite e de alergia e cerca de 6% bronquite. A Figura 26 representa em percentagem as respostas a esta questão. Como é possível observar, a maioria dos trabalhadores eram indivíduos saudáveis. Contudo, cerca de 23% do grupo apresentava patologias respiratórias, nomeadamente sinusite, alergias e bronquite.

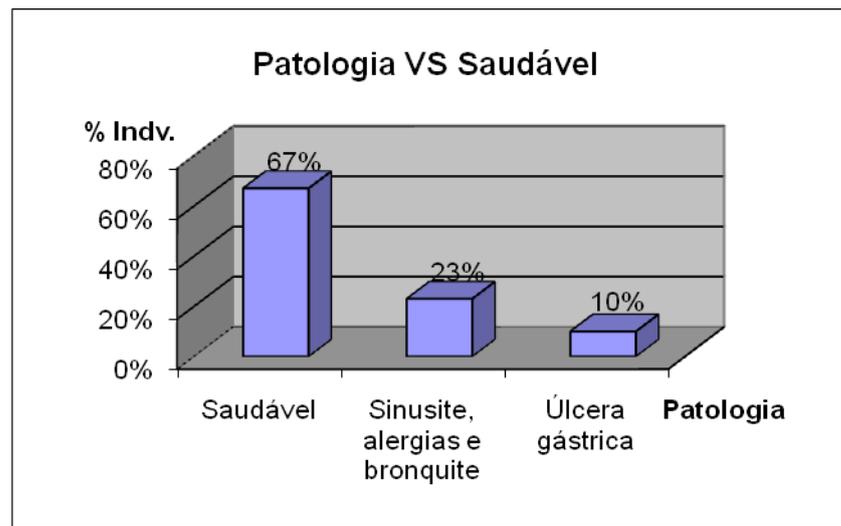


Figura 26. Percentagem de indivíduos Trabalhadores com patologias

Questão 15: “Já alguma vez fez um raios-X pulmonar? Faz de quanto em quanto tempo?”

Um método de diagnóstico eficaz para uma possível silicose é o raios-X pulmonar. 37% dos trabalhadores declarou fazer raios-X de dois em dois anos. Esta percentagem corresponde a um grupo maior que trabalha numa das fábricas, onde existe

um maior controlo a nível de medicina do trabalho, comparado com pedreiras/empresas familiares. Cerca de 33% dos trabalhadores do grupo faz um raios-X de 5 em 5 anos, e cerca de 20% faz um raios-X anualmente. Apenas 10% é que não tem nenhum tipo de cuidados médicos e portanto não são seguidos pela medicina do trabalho

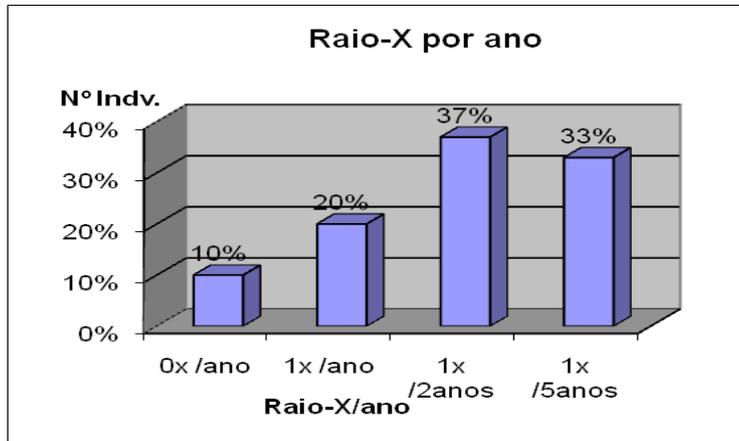


Figura 27. Periodicidade de realização de Raios-X

Questão 18: “Concorda com o uso da máscara de protecção enquanto trabalha?”

Questão 19: “Concorda em fazer análises regularmente?”

Um segundo objectivo deste inquérito era perceber a importância que os trabalhadores da pedra de granito atribuíam ao uso diário da máscara e se tinham consciência da necessidade de efectuar análises laboratoriais anualmente. As respostas a estas duas questões foram classificadas, tendo em conta uma gradação de 1 a 5 em que “1” é avaliado como *sem importância* e “5” como *muito importante*.

Relativamente ao uso da máscara, a Figura 28 mostra que cerca de 94% dos indivíduos em estudo consideravam o uso da máscara muito importante no seu dia-a-dia. Estes resultados indiciam uma mudança de mentalidades, ou, seja, os trabalhadores começam a ter consciência da importância do uso de máscara, a qual lhes confere uma proteção pulmonar.

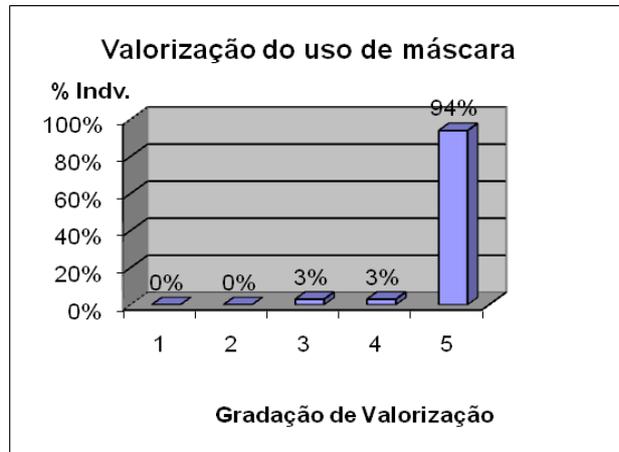


Figura 28. Valorização do uso da máscara

Também a necessidade de realização anual de análises laboratoriais se mostrou relevante para os trabalhadores, conforme mostra a Figura 29. De um total de 100%, 63% dos trabalhadores consideram muito importante a realização das análises laboratoriais anualmente.

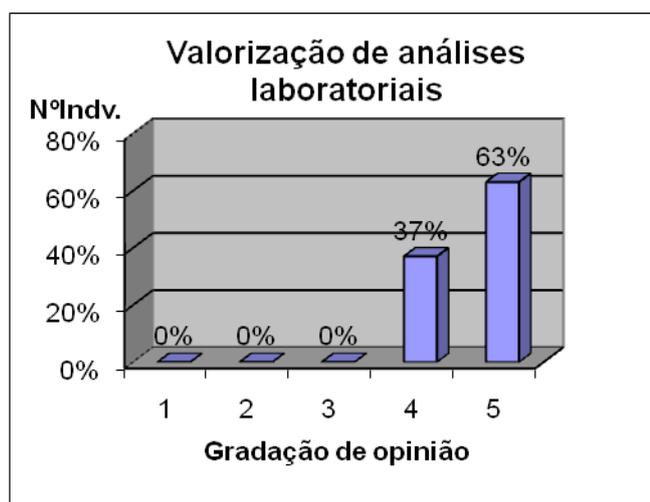


Figura 29. Valorização de análises laboratoriais

Questão 20: “Sente que as poeiras influenciam o seu sistema respiratório?”

A resposta dos trabalhadores foi avaliada também por gradação de opinião e verificou-se que a maioria dos pedreiros sentiam que as poeiras influenciavam o seu sistema respiratório, ou por crises de sinusite, por situações alérgicas, por crises asmáticas. Na Figura 30 representa-se, em termos de percentagem, as respostas dadas a esta questão.

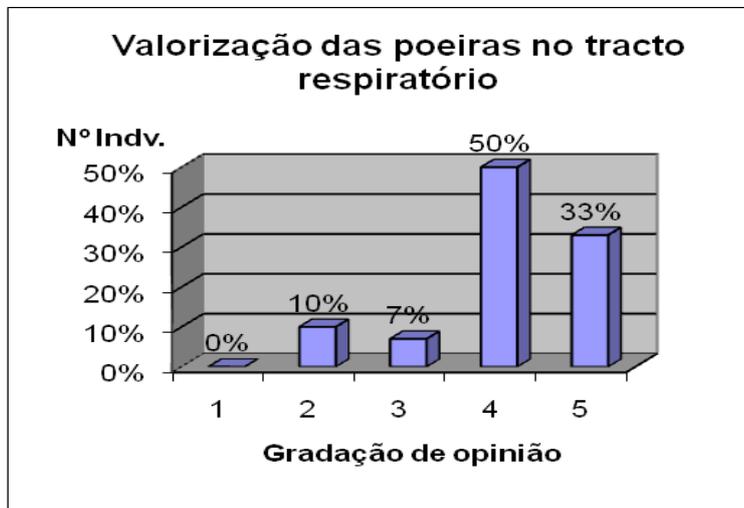


Figura 30. Valorização de opinião dos efeitos das poeiras no tracto respiratório

6. Discussão geral

O objetivo do presente estudo consistiu na tentativa de avaliação do grau de exposição dos trabalhadores de pedreiras de granito a metais pesados presentes nas poeiras formadas durante as operações de extração, corte, decoração, etc. Para tal, foi feito o doseamento dos metais nos materiais biológicos dos trabalhadores em comparação com os avaliados no grupo controlo (biomarcadores de exposição). Na tentativa de correlacionar os valores de biomarcadores de exposição encontrados com os eventuais efeitos tóxicos no organismo, foram também avaliados alguns biomarcadores de efeito nos mesmos materiais biológicos.

Conforme estudos portugueses publicados sobre a constituição do granito, a sílica e o alumínio são elementos maioritários, concretamente 60% de óxido de silício e

19% de óxido de alumínio (Ribeiro, 2006). Quanto à constituição metálica minoritária, verificámos, por análise de pós colhidos nas pedreiras a incluir no estudo, que o cádmio, chumbo e crómio eram elementos presentes em concentrações apreciáveis, tendo em conta o seu grau de toxicidade (Jarup, 2003). Foram assim seleccionados, juntamente com o silício e o alumínio, para monitorizar nos fluidos biológicos dos trabalhadores expostos.

Os estudos publicados na literatura sobre exposições ocupacionais em pedreiras de granito ou outras são escassos. Em 1993, Ng *et al.* avaliaram a alteração de biomarcadores de efeito em trabalhadores de granito expostos a poeiras de sílica (Ng *et al.*, 1993). O estudo não incluiu, no entanto, a monitorização de silício em material biológico dos trabalhadores. Os valores de α 1-microglobulina, albumina, N-acetilglucosaminidase, entre outros, estavam alterados e relacionados com a elevada exposição dos trabalhadores à sílica, indiciando lesão renal. Em paralelo, o exame de raios-X realizado nestes trabalhadores denotava alterações típicas de silicose.

Golbabaie *et al.*, 2004, avaliaram também o nível de exposição a poeiras de sílica dos trabalhadores de pedreiras de mármore. Neste estudo foram doseadas as poeiras no ambiente de trabalho em função do tipo de instrumentos usados no corte da pedra, tendo sido observado que eles eram determinantes na quantidade de poeiras respiráveis pelos trabalhadores e estavam relacionadas com o desenvolvimento de problemas de pele e respiratórios. Também neste estudo não foram determinados biomarcadores de exposição nem de efeito nos trabalhadores expostos.

Uma publicação recente consiste numa base de dados sobre a exposição de trabalhadores à sílica na actividade da construção. Aborda várias actividades em que os trabalhadores estão potencialmente expostos à sílica, mas a biomonitorização não foi encarada (Beaudry *et al.*, 2012).

De facto, a maior parte da literatura sobre exposição ocupacional a partículas de sílica em pedreiras foca-se na medida das poeiras respiráveis no local de trabalho, a extensão da exposição em função das tarefas desempenhadas pelos trabalhadores e os utensílios utilizados. Numa perspetiva de implicações para a saúde dos trabalhadores os estudos têm-se centrado sobretudo na relação entre exposição e lesões pulmonares, as

mais bem caracterizadas, mas também sobre lesões renais (Ghahramani, 2010) e mortalidade (Vacek *et al.*, 2011).

Esta aparente falta de conhecimento sobre biomarcadores sobretudo de exposição pode, pelo menos em parte, ser justificada pelo facto de as partículas de sílica serem essencialmente aprisionadas no pulmão e apenas uma fração muito baixa passar à corrente circulatória e, portanto, dificilmente mensurável. A corroborar esta situação está a falta de elementos de toxicocinética do silício no homem. Também no presente trabalho não nos foi possível quantificar este elemento no sangue, tendo sido os conteúdos em todas as amostras dos trabalhadores e controlo inferiores ao limite de quantificação do método (39,5 µg/L). Quanto aos níveis de silício na urina, o nosso trabalho constitui um contributo apreciável, pois foi possível fazer a sua quantificação que, em termos de média, foi de 10,2 e 3,38 µg/mL nos trabalhadores e no grupo controlo, respetivamente. Salienta-se ainda que os valores do grupo de trabalhadores foram significativamente superiores ao grupo controlo, indicando exposição a partículas de sílica que passaram à corrente sanguínea e são eliminadas na urina.

Em termos de biomarcadores de efeito, dos parâmetros que nos foi possível avaliar e que indicassem lesão renal (β_2 -microglobulina, ureia, creatinina, albumina e proteínas totais) que possa ser atribuída à sílica e/ou aos outros metais inalados, não obtivemos alterações significativas nos trabalhadores expostos, quando comparados com o grupo controlo. Realçamos apenas que no grupo de trabalhadores a céu aberto 47% apresentavam valores normais de albumina sérica, enquanto em ambiente confinado esse valor era apenas de 27%. O número de trabalhadores nos dois subgrupos, 15 em cada, não é suficiente para tirar conclusões fiáveis, mas o facto de haver no ambiente confinado uma percentagem inferior de trabalhadores com níveis de albumina normal pode sugerir necessidade de melhorar as condições do ambiente de trabalho, melhorando a tiragem das poeiras. Infelizmente não nos foi possível dosar biomarcadores periféricos de lesão pulmonar, concretamente a CC16 que, embora de forma não totalmente específica, a alteração da sua concentração sérica vem sendo de cada vez mais usada na caracterização desta lesão (Ulvestad *et al.*, 2007; McAuley and Matthay, 2009).

O outro metal maioritário presente no granito é o alumínio. Também da pesquisa bibliográfica realizada não se encontrou biomonitorização deste elemento em ambientes

laborais envolvendo o trabalho da pedra. No entanto, para outro tipo de actividades ocupacionais, a biomonitorização do alumínio tem sido feita (Rossbach et al., 2006), pois a sua acção no organismo é controversa e carece de esclarecimento, sobretudo ao nível do neurocomportamento (Kiesswetter et al., 2007, Kiesswetter et al., 2009). Genericamente, nos trabalhos em que a avaliação da exposição ao alumínio é feita, o soro e a urina são os materiais biológicos eleitos com base na sua cinética no organismo humano (Halatek et al., 2008).

No presente trabalho, o alumínio foi doseado no sangue, soro e urina dos indivíduos dos dois grupos em estudo. Nos dois grupos, os valores médios no sangue eram superiores aos valores de referência da literatura ($13,1 \pm 8,8 \mu\text{g/L}$), respectivamente $25,8$ e $18,0 \mu\text{g/L}$. Embora a concentração seja aparentemente mais elevada no grupo de trabalhadores, a diferença não atingiu significado estatístico devido à grande dispersão de resultados. No soro, os valores de alumínio foram semelhantes nos dois grupos (8 e $6,8 \mu\text{g/L}$, respectivamente grupo de trabalhadores e controlo) e encontravam-se dentro dos valores de referência ($6,65 \mu\text{g/L}$). Na urina, a concentração média de alumínio no grupo de trabalhadores e controlo foi, respectivamente, $5,86$ e $0,86 \mu\text{g/L}$, sendo significativamente superiores no grupo de trabalhadores. Este mesmo perfil foi encontrado por Halatek et al., 2008. Dos valores encontrados na urina e comparando com os valores de referência ($16,4 \pm 8,8 \mu\text{g/L}$), poderá, assim, concluir-se que a exposição às poeiras provoca uma eliminação de alumínio considerada dentro dos valores de referência, mas em comparação com os valores controlo há, claramente, uma sobrecarga que se reflecte na eliminação. A biocinética do alumínio no homem mostra que a sua semi-vida no organismo pode ser muito longa, sobretudo da porção alojada no esqueleto; também, uma exposição prolongada, ainda que a baixas concentrações ambientais, poderá conduzir a acumulação a longo termo no cérebro, com as consequências para a saúde que ainda que controversas, não devem ser descuradas.

No que respeita aos biomarcadores de efeito indicadores de lesão renal e hepática avaliados, destaca-se a correlação positiva entre os valores de albumina no sangue e as concentrações de alumínio nos trabalhadores.

O chumbo é, certamente, o metal que tem merecido desde há mais anos e em mais actividades ocupacionais a atenção dos investigadores e dos organismos internacionais numa perspectiva de saúde e higiene. Em resultado dos muitos estudos

feitos e das medidas subsequentes, a exposição ao chumbo tem vindo a diminuir, mas também os níveis permitidos nos locais de trabalho têm sido revistos para valores de cada vez mais baixos. No entanto, os estudos de Toxicologia Molecular e Celular, bem como os estudos neurocomportamentais têm mostrado que, mesmo para os níveis de exposição considerados admissíveis, há alterações fisiológicas ou do comportamento que podem acontecer, sobretudo na criança. Embora o presente estudo tenha incidido sobre uma população adulta, os seus resultados podem ter uma repercussão importante para as crianças, como mostram estudos recentes incidindo sobre a exposição indirecta de crianças ao chumbo e outros metais, através de poeiras levadas para o ambiente doméstico pelos pais, sobretudo vestuário contaminado no local de trabalho (Mamtani et al., 2011).

As concentrações médias de chumbo no sangue dos trabalhadores foram de 28,2 µg/L e nos indivíduos controlo 14,5 µg/L. Estes valores foram significativamente mais elevados no grupo de trabalhadores, embora abaixo dos valores de referência (41.5 µg/L). Na urina, as concentrações foram $4,19 \pm 3,12$ µg/L e $2,29 \pm 1,64$ µg/L no grupo de trabalhadores e no grupo controlo, respetivamente. Embora haja uma diferença estatística também nos valores de chumbo na urina entre os dois grupos, devemos ser cautelosos na sua discussão, uma vez que o limite de quantificação do método (4,44 µg/L) coincide ou é mesmo superior aos valores médios determinados na urina. No entanto, verificou-se que o valor da mediana dos valores de chumbo na urina dos trabalhadores era de 4,77 µg/L, valor superior ao limite de quantificação. Salienta-se que os valores médios na urina, para os dois grupos de indivíduos, ultrapassaram o valor de referência (1,53 µg/L).

São vários os biomarcadores de efeito que revelam a acção tóxica do chumbo no organismo, sobretudo a sua reconhecida interferência na síntese do heme. Alguns deles foram determinados neste estudo, nomeadamente as porfirinas totais, coproporfirinas e uroporfirinas. Quando tentámos correlacionar os valores de chumbo nos fluídos biológicos dos trabalhadores com estes biomarcadores de efeito, encontrámos uma situação surpreendente, mesmo bizarra. De facto, foram detectadas diferenças significativas entre os valores de coproporfirina I (acima do valor de referência no grupo controlo) mas de forma inversa à esperada, isto é, os indivíduos do grupo controlo apresentavam valores significativamente superiores de coproporfirina I,

quando comparados com o grupo de trabalhadores. Não nos é possível discutir estes valores com os dados disponíveis.

O cádmio tem também sido extensamente estudado em ambientes ocupacionais, dada a sua larga utilização na indústria e os seus efeitos tóxicos reconhecidos. No presente estudo, ele foi também considerado, embora sendo um elemento minoritário na constituição do granito. No soro, os valores de cádmio foram, nos dois grupos, inferiores ao limite de quantificação (0,48 µg/L). Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis deste elemento entre os dois grupos em estudo no sangue e urina, podendo considerar-se os valores médios dentro dos valores de referência.

Finalmente, doseámos também o crómio total. Este elemento é também muito importante do ponto de vista ocupacional. No entanto, como já assumido, a especificação analítica deveria ter sido realizada pelo menos nas poeiras de granito formadas aquando do seu corte e manipulação, o que permitiria uma discussão mais correcta do ponto de vista do seu significado toxicológico. No grupo controlo, as amostras de sangue/soro e urina apresentaram todos valores inferiores ao limite de quantificação (1,38 e 0,72 µg/L, respectivamente). No grupo dos trabalhadores apenas os valores médios no sangue e no soro se situavam acima dos limites de quantificação. A concentração média de crómio nas amostras de sangue do grupo de trabalhadores foi de $1,67 \pm 1,07$ µg/L e nas de soro, $3,39 \pm 4,04$ µg/L. Estes resultados são superiores aos valores de referência ($0,36 \pm 0,44$ e $1,79 \pm 1,49$ µg/L, respectivamente). Como os valores de crómio no sangue e soro do grupo controlo foram inferiores ao limite de quantificação, não foi possível avaliar o significado de possíveis diferenças.

Conclusões

1. Os trabalhadores das pedreiras de granito mostraram estar expostos a níveis superiores de silício, alumínio e chumbo, relativamente ao grupo controlo, uma vez que a excreção destes três metais foi significativamente superior nos trabalhadores.
2. Todos os valores de alumínio, cádmio, cromo, chumbo e silício se encontram próximos dos valores de referência descritos na literatura, mesmo no caso dos níveis urinários do silício, alumínio e chumbo, que mostraram ser significativamente superiores nos trabalhadores, relativamente aos controlos.
3. Comparando os valores de chumbo no sangue dos trabalhadores com os valores legislados para ambiente laboral, verificou-se que estavam abaixo do valor máximo permitido, 70 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ sangue (Decreto-Lei n.º 24/2012 de 6 de fevereiro, única legislação encontrada para metais em fluidos biológicos de trabalhadores).

4. Do ponto de vista forense, constata-se que a legislação em vigor é insuficiente, uma vez que apenas estão estabelecidos os teores de chumbo no sangue de trabalhadores em ambiente laboral. Dada a evolução do conhecimento sobre a toxicidade de outros metais como alumínio e cromo, os seus níveis nos líquidos biológicos deveriam ser estabelecidos.
5. Relativamente aos biomarcadores de efeito determinados no sangue e urina, nomeadamente a creatinina, β ,2-microglobulina, ureia, fosfatase alcalina, albumina e porfirinas, os valores obtidos situaram-se dentro dos níveis considerados normais, não suscitando preocupações numa perspectiva toxicológica.
6. Da análise das respostas aos inquéritos realizados, os trabalhadores mostraram estar sensibilizados para a necessidade de acompanhamento médico periódico, realização de exames de bioquímica clínica e de raios-X ao tórax. Os trabalhadores consideraram também o uso de máscaras protectoras uma medida importante para a preservação da sua saúde.
7. Quanto à avaliação do risco dos trabalhadores relativamente à exposição ao alumínio, cádmio, chumbo, cromo e silício resultante do pó de granito, a legislação existente não nos permite tirar conclusões abrangentes para todos os metais. No entanto, sendo os seus níveis aproximados dos valores de referência, conclui-se que a exposição está dentro dos níveis aceitáveis. Acresce que os trabalhadores estão conscientes da importância do uso de medidas de protecção e da realização de exames médicos e laboratoriais, o que permite uma monitorização periódica da sua saúde.

Referências Bibliográficas

1. Amorim L., *Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais*. Rev. Bras. Epidemiol. 6, 158 – 170, 2003.
2. Araújo P., *Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation*. Journal of Chromatography B, XXX, 1 – 11, 2008.
3. Atkins P. et Jones L., *Principios de Química – Questionando a vida moderna e o meio ambiente*. 1ª edição, Porto Alegre, Bo okman, Cap.16, 2001.
4. Barbarin V., Arras M., Misson P., Delos M., McGarry B., Phan S.H., *Characterization of the effect of Interleukin- β on silica-induced lung fibrosis in mice*. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 31, 78-85, 2004.

5. Barbosa F. Jr., Tanus-Santos J.E., Gerlach R.F., Parsons P.J., *A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations and future needs*. Environmental Health Perspectives, 113, 1669-1674, 2005.
6. Barnard C.G., McBride D.I., Firth H.M., Herbison G.P., *Assessing individual employee risk factors for occupational asthma in primary aluminium smelting*. Occup Environ Med, 61, 604–608, 2004.
7. Baselt R.C., Cravey R.H.. *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. 3th edition, St. Louis, Medical publishers, 1993.
8. Beaudry C., Lavoué J., Sauvé J.F., Bégin D., Rhazi M.S., Perrault G., Dion C., Gérin M. *Occupational Exposure to Silica in Construction Workers: A Literature-Based Exposure Database*. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 10, 71-77, 2013.
9. Bocca B., Mattei D., Pino A., Alimonti A., *Italian network for human biomonitoring of metals: preliminary results from two regions*. Ann Ist Super Sanità, 46, 259 – 265, 2010.
10. Bourdineaud J.P., Baudrimont M., Gonzalex P., Moreau J.L., *Challenging the model for induction of metallothionein gene expression*. Biochimie, 88, 1787-1792, 2006.
11. Brown J., Schwanke C., Pershouse M., Pfau J., Holian A., *Effects of rottlerin on silica-exacerbated systemic autoimmune disease New Zealand mixed mice*. Am J Physiol lung cell mol physiol, 289, 990-998, 2005.
12. Brown J., Pfau J.C., Pershouse M.A., Holian A., *Silica, apoptosis and autoimmunity*. Journal of immunotoxicology, 1, 177 – 187, 2004.
13. Brown R.C. *Regulation of crystalline silica:where next?*. Indoor Built Environ, 8, 113-120, 1999.
14. Budnik L.T., Baur X., *The assessment of environmental and occupational exposure to hazardous substances by biomonitoring*. Deutsches Ärzteblatt international, 106, 91-7, 2009.
15. Carlisle D.L., Pritchard D.E., Singh J., Owens B.M., Blankenship L.J., Orenstein J.M., Patierno S.R., *Apoptosis and P53 induction in human lung fibroblasts exposed to*

- chromium (VI): effect of ascorbate and tocopherol*. Toxicological sciences, 55, 60 – 68, 2000.
16. Caudhury B.P., Tripathi S.S., Mishra V., Shukla M., Verma M., Kumar P., Chhabra J.K., Pandey H.P., Paul B., *Il-6 receptres- mediated lunh the cytokine networking in silica-induced pulmonary fibrosis*. Archives of Toxicology, 84, 947-955, 2010.
 17. Chang J.S., Chang K.L.B., Hwang D.F., Kong Z.L.. *In Vitro Cytotoxicity of Silica Nanoparticles at High Concentrations Strongly Depends on the Metabolic Activity Type of the Cell Line*. Environ. Sci. Technol., 41, 2064–2068, 2007.
 18. Churchyard G.J., ehrlich R., Tewater naude J.M., Pemba L., Dekker K., Vermejis M., White N., Myers J., *Silicosis prevalence and exposue-response relations in South African goldminers*. Occip Environ Med, 61, 811-816, 2004.
 19. Conterato G.M.M., Bulcão R.P., Sobieski R., Moro A.M., Charão M.F., Freitas F.A., Almeida F.L., Moreira A.P.L., Roehrs M., Tonello R., Batista B.L., Grotto D., Barbosa Jr F., Garcia S.C., Emanuelli T., *Blood Thioredoxin reductase activity, oxidative stress and hematological parameters in painters and battery workers: relationship with lead and cadmium levels in blood*. J.Appl.Toxicol., 2011.
 20. Csuros M., Csuros C., *Environmental sampling and analysis for metals*. Lewis publisher, Flórida, 2000.
 21. Decreto-Lei nº 324/95 de 29 de Novembro (Ministério do Emprego e Segurança Social). Diário da República - I Série A Nº 276 (29-11-1995).
 22. Decreto-Lei 102/2009 de 10 de Setembro (Regime Jurídico de Promoção da Segurança e Saúde no Trabalho). Diário da República - I Série Nº 176 (10-09-2009).
 23. Decreto-Lei nº 324/95 de 29 de Novembro (Ministério do Emprego e da Segurança Social). Diário da República - I Série A Nº276 (29/11/1995).
 24. Dhattrak S.V., Nandi S.S., *Risk assessment of chronic poisoning among Indian metallic miners*. Indian J Occup environ Med, 13, 60 – 64, 2009.
 25. Ding X., Zhang Q., Wei H., Zhang Z., *Cadmium- induced renal tubular dysfunction on a group of welders*. Occupational medicine, 61, 227 – 279, 2011.

26. Elinder C.G., Ahrengart L., Lidums V., Pettersson E., Sjogren B., *Evidence of aluminium accumulation in aluminium welders*. British Journal of Industrial Medicine, 48, 735-738, 1991.
27. Esteban M., Castaño A., *Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review*. Environment international, 35, 438 – 449, 2009.
28. Farina M., Rotta L.N., Soares F.A.A., Jardim F., Jacques R., Souza D.O., Rocha J.B.T., *Hematological changes in rats chronically exposed to oral aluminum*. Toxicology, 209, 29 – 37, 2005.
29. Fauci, A., Braunwald, E., Isselbacher, K., Wilson, J., Martin J., Kasper D., Hauser S., Longo, D... *Harrison, Medicina interna*. 14ª edição, Lisboa, McGraw Hill, volume 2, 2006.
30. Ferraro P.M., Costanzi S., Naticchia A., Sturniolo A., Gambaro G., *Low level exposure to cadmium increases the risk of chronic kidney disease: analysis of the NHANES 1999-2006*. BMC Public Health, 10, 304, 2010.
31. Feksa L.R., Oliveira E., Trombini T., Luchese M., Bisi S., Linden R., Berlese D.B., Rojas D.B., Andrade R.B., Schuck P.F., Lacerda L.M., Wajner M., Wannmacher C.D.M., Emanuelli T.. *Pyruvate Kinase Activity and δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity as Biomarkers of Toxicity in Workers Exposed to Lead*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 63, 453-460, 2012.
32. Fowler B.A., *Roles of lead-binding proteins in mediating lead bioavailability*. Environmental Health Perspectives, 106, 1585-1587, 1998..
33. Fulekar M.H., *Occupational exposure to dust in quartz manufacturing industry*. Ann. Occup. Hyg., 43, 269 – 273, 1999.
34. Gallagher C.M., Meliker J.R., *Blood and urine cadmium, blood pressure, and hypertension: a systematic review and meta-analysis*. Environ Health Perspect, 118, 1676 – 1684, 2010.
35. Gallo M. A., History and scope of Toxicology, Chapter 1, p.3-5 In: Casarett & Doull's, Toxicology: The Basic Science of Poisons. Seventh edition. Ed C.D. Klaassen. McGraw Hill Medical, 2008.

36. Ghahramani N., *Silica Nephropathy*. International Journal of Occupational and environmental Medicina, 3, 108 – 115, 2010.
37. Gil F., Hernández A., Márquez C., Fernia P., Olmedo P., López-Guarnido O., Pla A., *Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population*. Science of the total Environment, 409, 1172 – 1180, 2010.
38. Godt J., Scheidig F., Grosse – Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A., Groneberg D.A., *The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health*. Journal of occupational medicine and toxicology, 1:22, 1-6, 2006.
39. Golbabaie F., Barghi M.A., Sakhaei M., *Evaluation of workers' exposure to total, respirable and silica dust and the related health symptoms in Senjedak Quarry, Iran*. Industrial Health, 42, 29 – 33, 2003.
40. Gube M., Brand P., Schettgen T., Bertram J., Gerards K., Reisgen U., Kraus T., *Experimental exposure of healthy subjects with emissions from a gas metal arc welding process – part II: biomonitoring of chromium and nickel*. Int Arch Occup Environ Health, 86, 31-37, 2013.
41. Haefliger P., Mathieu-Nolf M., Locicero S., Ndiaye C., Coly M., Diouf A., Faye A.L., Sow A., Tempowski J., Pronczuk J., Junior A.P.F., Bertollini R., Neira M., *Mass lead intoxication from informal used lead-acid battery recycling in Dakar, Senegal*. Environmental Health Perspectives, 117, 1535-1540, 2009.
42. Halatek T., Sinczuk-Walczak H., Rydzynski K., *Early neurotoxic effects of inhalation exposure to aluminium and/or manganese assessed by serum levels of hospholipid-binding Clara cells protein*. Journal of Environmental Science and Health Part A., 43, 118-124, 2008.
43. Hedberg Y., Gustafson J., Karlsson H., Moller L., Wallinder I., *Bioaccessibility, bioavailability and toxicity of commercially relevant iron- and chromium-based particles: in vitro studies with an inhalation perspective*. Particle and fibre toxicology, 7:23, 1-14, 2010.
44. Hodgson E., Cope W.G., Leidy R.B. *Classes of Toxicants: Use Classes in A Textbook of Modern Toxicology*, 3rded., John Wiley and Sons, Inc., 49-54, 2004.

45. Ibrahim K.S., Ahmed S.B., Amer N.M., *Study of kidney dysfunction in non-silicotic Egyptian workers*. International Journal of hygiene and environmental Health, 214, 53-58, 2010.
46. Jacobs D.S., Kasten B.L., Wayne R.D., Wolfson W.L., Laboratory test handbook. 2ª edição., Ohio, Lexi- comp Inc, 1990.
47. Jarup L., *Hazards of heavy metal contamination*. British medical Bulletin, 68, 167-182, 2003..
48. Jeronymo S., Fujimura A.H.Y. *Dosagem de alumínio no soro de indivíduos sadios e em pacientes com insuficiência renal crônica mantidos ou não em tratamento dialítico*. J. Bras. Nefrol., 20, 144-150, 1998.
49. Kasper D., Braunwald E., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J. Larry., *Harrison- Manual de Medicina*. 16ª edição, Lisboa, McGraw Hill, Cap. 56, 227-231, 2006.
50. Kasper D., Braunwald E., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J. Larry., *Harrison- Manual de Medicina*. 16ª edição, Lisboa, McGraw Hill, Cap. 132, 674, 2006.
51. Kiesswetter E., Schaper M., Buchta M., Schaller K.H., Rossbach B., Scherhag H., Zschesche W., Letzel S., *Longitudinal study on potential neurotoxic effects of aluminium: I.Assessment of exposure and neurobehavioural performance of Al welders in the trains and truck construction industry over 4years*. Int Arch Occup Environ Health, 81, 41-67, 2007.
52. Kiesswetter E., Schaper M., Buchta M., Schaller K.H., Rossbach B., Schaller K. H., Letzel S., *Longitudinal study on potential neurotoxic effects of aluminium: II.Assessment of exposure and neurobehavioural performance of Al welders in the trains and truck construction industry over 4years*. Int Arch Occup Environ Health, 82, 1191-1210, 2007.
53. Kirsztajn G.M., *Avaliação do ritmo de filtração glomerular*. J.Bras Patol Med Lab, 43, 257-264, 2007.
54. Krewski D., Yokel R., Nieboer E., Borchelt D., Cohen J., Harry J., Kacew S., Lindsay J., Mahfouz A., Rondeau V., *Human health risk assessment for aluminium, aluminium*

- oxide, and aluminium hydroxide. J.Toxicol.Environ. Health B Crit Rev.*, 10, 1 – 269, 2007.
55. Kummrow F., Silva F.F, Kuno R., Souza A.L., Oliveira P.V., *Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. Talanta*, 75, 246 – 252, 2008.
 56. Landeghem G.F.V, Broe M.E., D’Haese P.C.. *Al and Si: their speciation, distribution, and toxicity. Clinical Biochemistry*, 31,385-397, 1998.
 57. Langley R.J., Mishra N.C., Peña-Philippides J.C., Hutt J.A., Sopori M.L., *Granuloma formation induced by low-dose chronic silica inhalation is associated with an anti-apoptotic response in Lewis rats. J.Toxicol.Environ Health A*, 73, 669 – 683, 2010.
 58. Leroyer A., Nisse C., Hemon D., Gruchociak A., Salomez J.L., Haguenoer J.M., *Environmental lead exposure in a population of children in northern France: factors affecting lead burden. American Journal of industrial medicine*, 38, 281 – 289, 2000.
 59. Lesage F.X., Deschamps F., Millart H., *Lead levels in fur of rats treated with inorganic lead measured by inductively coupled argon plasma mass spectrometry. Interdiscip. Toxicol.*, 3, 118 – 121, 2010.
 60. Leston J.G., Torres J.R., Vilares M., Pinto R., Cunha L.M., Prista J., Teixeira J.P., Mayan O., Pássaro E., Méndez J., Laffon B..*Biomonitoring of a population of Portuguese workers exposed to lead. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 72, 81-88, 2011.
 61. Lin J.L., Tan L.D.T., Hsu K.H., Yu C.C., *Environmental lead exposure and chronic renal disease. The New England Journal of Medicine*, 348, 1810-1812, 2003.
 62. Lindenschmidt R.C., Driscoll K.E., Perkins M.A., Higgins J.M., Maurer J.K., Belfiore K.A., *The comparison of a fibrogenic and two nonfibrogenic dusts by bronchoalveolar lavage. Toxicol Appl Pharmacol*, 102, 268–281, 1990.
 63. Liu J., Goyer R.A., Waalkes M.P., *Toxic effects of metals*, chapter 23, p. 940-945 In Casarett & Doull’s *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Seventh edition. Ed C.D. Klaassen. Mc Graw Hill Medical, 2008.

64. Mamtani R., Stern P., Dawood I., Cheema S., *Metals and Disease: A Global Primary Health Care Perspective*. Hindawi Publishing Corporation, Journal of Toxicology, 1-11, 2011.
65. Marshall W.J., *Clinical Chemistry*. Second edition, London, Gower Medical Publishing, 1993.
66. Miura N., *Individual susceptibility to cadmium toxicity and metallothionein gene polymorphisms: with references to current status of occupational cadmium exposure*. Industrial health, 47, 487 – 494, 2009.
67. Mudge D.W., Johnson D.W., Hawley C.M. Campbell S.B., Isbel N.M., Eps C.L.V., Petrie J.J.B., *Do aluminium-based phosphate binders continue to have a role in contemporary nephrology practice?*. BMC Nephrology, 12:20, 1-8, 2011.
68. Nelson G., Brown B.G., Ndlovu N., Murray J., *Three decades of silicosis: Disease trends at autopsy in South African gold miners*. Environ Health Perspect, 118, 421 – 426, 2010.
69. Ng T.P., Lee H.S., Phoon W.H. *Further evidence of human silica nephrotoxicity in occupationally exposed workers*. Br. J. Ind. Med., 50, 907-912, 1993.
70. Nordberg G.F., Jin T., Nordberg M., *Subcellular targets of cadmium nephrotoxicity: cadmium binding to renal membrane proteins in animals with or without protective metallothionein synthesis*. Environmental Health Perspectives, 102, 191-194, 1994.
71. Olewinska E., Kasperczyk A., Kapka L., Kozłowska A., Pawlas N., Dobrakowski M., Birkner E., Kasperczyk S., *Level of DNA damage in lead-exposed workers*. Ann Agric Environ Med, 17, 231 – 236, 2010.
72. Olmedo P., Pla A., Hernández A.F., López-Guarnido O., Rodrigo L., Gil F., *Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry*. Analytica Chimica Acta, 659, 60 – 67, 2010.
73. Onosaka M.K., Tanaka K., *Acumulação renal de cádmio e nefropatia após uma administração de longo prazo de cádmio-metalotioneína*. Toxicol.Appl. Pharmacol., 141, 102-109, 1996.

74. Osin E.E., Chinyanga H.M., Matarira H.T., Mudambo K.K., Musabayane C.T., *Lung function, blood gases, ph and serum electrolytes of small-scale miners exposed to chrome ore dust on the Great Dike in Zimbabwe*. Tropical medicine and international health, 4, 621 – 628, 1999.
75. Otsuki T., Maeda M., Murakami S., Hayashi H., Miura Y., Kusaka M., Nakano T., Fukuoka K., Kishimoto T., Hyodoh F., Ueki A., Nishimura Y., *Imunological effects of silica and asbestos*. Cellular & Molecular Immunology, 4, 261 – 268, 2007.
76. Owda A., Muhammad G.A., Shah S.V., *Environmental lead exposure and chronic renal disease*. New England Journal of Medicine, 348, 18, 2003.
77. Paoliello, M., Capitani E., Cunha F., Matsuo T., Carvalho M., Sakuma A., Figueiredo B., *Exposure of children to lead and cadmium from a mining área of Brasil*. Environmental Research Section, 88, 120-128, 2002.
78. Park R., Bena J.F., Stayner L.T., Smith R.J., Gibb H.J., Lees P.S.J., *Hexavalent chromium and lung cancer in the chromate industry: a quantitative risk assessment*. Risk Analysis, 24, 1099-1108, 2004.
79. Rappaport S.M., *Implications of the exposome for exposure science*. Journal of exposure science and environmental epidemiology, 21, 5 – 9, 2011.
80. Ribeiro C.M.C.M., *Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região*. Tese de mestrado, Departamento de Ciências da Terra, Universidade do Minho, 2005.
81. Roling J.A., Baldwin W.S., *Alterations in hepatic gene expression by trivalent chromium in fundulus heteroclitus*. Mar Environ Res, 62, S122 – S127, 2006..
82. Rondeau V. Jacqmin – Gadda H., Commenges D., Helmer C., Dartigues J.F., *Aluminium and silica in drinking water and the risk of alzheimer’s disease or cognitive decline: findings from 15-year follow-up of the PAQUID cohort*. Am J. Epidemiol; 169, 489 – 496, 2009.
83. Rossbach B., Buchta M., Csanády G.A., Filser J.G., Hilla W., Windorfer K., Stork J., Zschiesche W., Gefeller O., Pfahlberg A., Schaller K.H., Egerer E., Pinzón L.C.E.,

- Letzel S., *Biological monitoring of welders exposed to aluminium*. Toxicology Letters, 162, 239-245, 2005.
84. Syslová K., Kacer P., Kuzma M., Pankráčová A., Fenclová Z., Vicková S., Lebedová J., Pelclová D., *LC-ESI-MS/MS method for oxidative stress multimarker screening in the exhaled breath condensate of asbestosis/silicosis patients*. J.Breath Res, 4, 1-8, 2010.
85. Thorne, P.S., Occupational Toxicology, Chapter 33, p.1273 In: Casarett & Doull's, Toxicology: The Basic Science of Poisons. Seventh edition. Ed C.D. Klaassen. Mc Graw Hill Medical, 2008.
86. Tumane R.G., Pingle S.K., Jawade A.A., Nath N.N., *An overview of caspase:Apoptotic protein for silicosis*. Indian J Occup Environ Med, 14, 31 – 38, 2010.
87. Tsuchiya K., *Causation of Ouch-Ouch Disease (Itai-Itai Byo)*. Keio J. Med., 18, 181 – 194, 1969.
88. Ulvestad B., Randem B.G., Andersson L., Ellingsen D.G., Barregard L., *Clara cell protein as a biomarker for lung epithelial injury in asphalt workers*. Joem, 49, 1073 – 1078, 2007.
89. Vacek P., Verma D.K., Graham W., Callas P., Gibbs G.W., *Mortality in Vermont granite workers and its association with silica exposure*. Occup Environ Med, 68:312-318, 2011.
90. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. & Telser, J., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int J Biochem Cell Biol., 39, 44-84, 2007.
91. Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M., *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. Chem Biol Interact., 160, 1-40, 2006.
92. WHO: Concise international chemical assessment document 76 inorganic chromium (III) compounds. Geneva (CH): World Health Organisation 2009.
93. WHO: IPCS Environmental Health Criteria. Aluminium, vol. 194. Geneva: World Health Organization, , 1-282, 1997

94. Williams P., James R. et Roberts S., *Principles of toxicology: Environmental and Industrial Applications. Chapter 6 and 14.* Second edition. New York, Wiley Interscience Publication, 2000.
95. Witschi H.R., Pinkerton K.E., Winkle L.S.V., Last J.A., *Toxic responses of the respiratory system*, chapter 15, p.624-625 In Casarett & Doull's, *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Seventh edition. Ed C.D. Klaassen. Mc Graw Hill Medical, 2008.
96. Wiwanitkit V., *Minor heavy metal: a review on occupational and environmental intoxication*. Indian J Occup Environ Med, 12, 116-21, 2008.
97. Zhang G., Lindars E., Chao Z., Bai Y, Spickett J., Biological monitoring of cadmium exposed workers in a nickel- cadmium battery factory in China. J. Occup Health, 44, 15-21, 2002.
98. Zhang X.H., Zhang X., Wang X.C., Jin L.F., Yang Z.P., Jiang C.X., Chen Q., Ren X.B., Cao J.Z., Wang Q., Zhu Y.M., *Chronic occupational exposure to hexavalente chromium causes DNA damage in electroplating workers*. BMC Public Health, 11:224, 1-8, 2011.
99. Zhitkovich A., *Importance of chromium-DNA adducts in mutagenicity and toxicity of chromium (VI)*. Chem Res Toxicol, 18, 3 – 11, 2005.



Unilabs

CLÍNICA LABORATORIAL DE MONÇÃO

Urb. Boavista, Bl. C, Lj. 11 • 4950 - 425 Monção
Tel.: 251 640 640 • Fax: 251 654 047 • Urgências: 933 000 271

DIREÇÃO TÉCNICA

Dr. Manuel J. Soares (Médico Patologista)
Dr. Sousa Vieira (Especialista em Análises Clínicas)

Para o

Exmo. Senhor
Martinho José Carneiro Sequeiros Pereira
Burgueiros
Calheiros
4990 PONTE DE LIMA



3404178 * (230)

1/2

N. Mecanográfico Data Nascimento E. Analítico N.º Data Hora Inscrição
50524 M 01/04/1958 3404178 09/05/2011

RELATÓRIO FINAL	EM 12/05/2011	RESULTADO ACTUAL	VALORES DE REFERÊNCIA	RESULTADOS HISTÓRICOS
SANGUE VENOSO				
•Beta-2 Microglobulina (a)		1.5	0.6-2.3 mg/L	
•Creatinina		0.96 84	0.50-1.20 mg/dl 44-106 µmol/l	
•Ureia		46 7.6	10-50 mg/dl 1.6-8.3 mmol/l	
•Azoto Ureico (BUN)		21 7.4	5-23 mg/dl 1.6-8.3 mmol/l	
•Albumina		4.8 48	3.5-4.9 g/dl 35-49 g/l	
•Fosfatase Alcalina		46	38-126 U/l	
URINA				
•SEDIMENTO URINÁRIO				
Leucócitos		0 a 2	< 5 /cpo	
Eritrócitos		2 a 5	< 5 /cpo	
Células Epit. Descamadas		2 a 5	< 5 /cpo	
URINA TEMPORIZADA				
•Proteínas		<0.07	< 0.230 g/24h	
VOL. Urina de 24h		1420		
URINA DE 24 H c/ Carbonato de Sódio				
•Porfirinas Totais		61	< 150 µg/24h	
VOL. Urina de 24h		1420		
•Uroporfirina		16	< 25 µg/24h	
VOL. Urina de 24h		19 1420	até 30 nmol/24h	

• Monção • Meigaço • Valença • V. N. Cerveira • P. Coura • Caminha • Tangil • Apúli.

0 3404178 DESCONHECIDO
-920

23/05 1042



Unilabs

CLÍNICA LABORATORIAL DE MONÇÃO

Urb. Boavista, Bl. C, Lj. 11 • 4950 - 425 Monção
Tel.: 251 640 640 • Fax: 251 654 047 • Urgências: 933 000 271

DIRECÇÃO TÉCNICA
Dr. Manuel J. Soares (Médico Patologista)
Dr. Sousa Vieira (Especialista em Análises Clínicas)

Para o
Exmo. Senhor
Martinho José Carneiro Sequeiros Pereira
Burgueiros
Calheiros
4990 PONTE DE LIMA



2/2

Mecanográfico Data Nascimento E. Analítico N.º Data Hora Inscrição
50524 M 01/04/1958 3404178 09/05/2011

ATÓRIO FINAL	EM	RESULTADO ACTUAL	VALORES DE REFERÊNCIA	RESULTADOS HISTÓRICOS
URINA DE 24 H c/ Carbonato de Sódio				
COPROPORFIRINAS				
COPROPORFIRINA I		18.6	< 25 µg/24h	
		27	até 37 nmol/24h	
COPROPORFIRINA III		26.5	< 75 µg/24h	
		39	até 112 nmol/24h	
Coproporfirina		45	< 100 µg/24h	
		67	até 150 nmol/24h	
VOL Urina de 24h		1420		

Com os melhores cumprimentos,

Dr. Manuel José Soares

Beta-2 Microglobulina (desde 24.11.08) : Novo método com valores de referência diferentes dos anteriores.

Declaração:

Eu, Sandra Isabel Soares Castro de Sousa, com B.I. nº12385503, residente em Ponte-Nova Cossourado Paredes de Coura, na qualidade de Estudante de Mestrado em Ciências Forenses da Universidade do Porto pretendendo desenvolver um trabalho de Dissertação sobre o tema "Nível de exposição de trabalhadores a metais presentes em poeiras de pedreiras e fábricas de granito na zona de Ponte de Lima. Tentativa de avaliação do risco", venho solicitar à vossa empresa a colaboração expressa através da autorização de recolha de informações e amostras para análise, a fim de complementar com rigor e eficácia o meu trabalho.

A Estudante:

Sandra Isabel Soares Castro de Sousa

A Empresa:

Gravalima
Granitos do Vale do Lima, Lda
Nif 506 333 973
Rua da Presa, 150
4990-250 Ponte de Lima
Tel. 258 753 337
Nuno Henrique Costa Lourenço

Paredes de Coura, 21 de Janeiro de 2011

