

Exposição Ocupacional a Substâncias Porfirinogênicas e o Padrão de Excreção das Porfirinas Urinárias

Atecla Nunciata Lopes Alves¹

Nairo Massakazu Sumita²

Maria Elizabete Mendes³

Henrique Vicente Della Rosa⁴

RESUMO

Porfirinas são subprodutos oxidados, originados durante o processo de biossíntese do heme, uma molécula essencial na atividade de muitas proteínas, devido à capacidade de complexação do ferro. Na hemoglobina, é essencial para o transporte de oxigênio; no citocromo C e P₄₅₀ (CYP), participa nas reações de produção de energia e detoxificação respectivamente. A biossíntese do heme envolve oito enzimas, cinco das quais produzem moléculas intermediárias chamadas genericamente de porfirinogênios. Os porfirinogênios com 8, 7, 6, 5, e 4-grupos carboxílicos são oxidados ao saírem da rota intracelular de biossíntese do heme e, nessa forma, denominados porfirinas. Estas são excretadas na urina em indivíduos sadios com um padrão característico de normalidade. A inibição de uma enzima na biossíntese do heme pode resultar num acúmulo impróprio do substrato desta enzima. O aumento de uma ou mais porfirinas nos níveis urinários acima do valor de referência pode ser provocada por diferentes condições patológicas hereditárias ou por fatores ambientais. Algumas substâncias químicas como compostos aromáticos policlorados como o hexaclorobenzeno (HCB) e alguns metais como o chumbo, arsênio e mercúrio são porfirinogênicos, isto é, podem causar a inibição na atividade de uma ou mais enzimas envolvidas na rota do heme, alterando, por consequência, o perfil de porfirinas excretadas pela via urinária. Diversos relatos da ação porfirinogênica destas substâncias químicas no homem, quer por exposição ocupacional, quer ambiental, nos leva a crer que a avaliação do perfil de porfirinas eliminadas pela urina tem potencial a ser utilizado como indicador biológico de efeito na exposição a esses agentes.

Palavras-chave: Porfirinas; Porfirinogênicos; Heme; Urina; Saúde Ocupacional.

INTRODUÇÃO

O heme é um complexo encontrado na maioria dos organismos, sendo que, devido à sua estrutura formada por quatro anéis pirróis unidos alojando um átomo de ferro no centro, tem uma importância muito

grande nas reações de óxido-redução do organismo. Aproximadamente 85% da síntese do heme ocorre nos eritrócitos e o restante nos hepatócitos. A biossíntese ocorre de acordo com a necessidade destas células; no caso dos hepatócitos, o heme produzido é incorporado ao citocromo, em particular o P₄₅₀ (CYP). Nos

1. Farmacêutica bioquímica; Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas; Aluna de doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas da FCF-USP, São Paulo; Farmacêutica encarregada do setor de Toxicologia do Serviço de Bioquímica Clínica do Laboratório Central da Faculdade de Medicina da USP. E-mail: atecla@terra.com.br.
2. Médico patologista clínico; Doutor em Patologia Clínica; Diretor Técnico do Serviço de Bioquímica Clínica do Laboratório Central da Faculdade de Medicina da USP.
3. Médica patologista clínica; Doutora em Patologia Clínica; Médica chefe do Serviço de Bioquímica Clínica do Laboratório Central da Faculdade de Medicina da USP.
4. Farmacêutico bioquímico; Professor do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da FCF-USP, São Paulo.

Tabela 1
Classificação das Principais Porfirias¹

Porfíria	Deficiência Enzimática	Transmissão Genética	Expressão Fenotípica	Expressão Clínica	Alteração Porfirinas Urinárias
1 ERITROPOIÉTICA					
Porfíria eritropoiética congênita	Uroporfirinogênio III sintetase	Autossômica recessiva	Medula óssea	Fotossensibilidade	URO I COPRO I
Protoporfíria eritropoiética e eritrohepática	Ferroquelase	Autossômica dominante	Medula óssea e fígado	Fotossensibilidade	COPRO
2 HEPÁTICA					
2a agudas					
Porfíria ácido- δ -ala desidratase	ALA-desidratase	Autossômica recessiva	Fígado	Visceral neurológica	ALA COPRO
Porfíria intermitente aguda(AIP)	PBG desaminase	Autossômica dominante	Fígado	Visceral neurológica	ALA PBG URO COPRO
Coproporfíria hereditária	Coproporfirinogênio oxidase	Autossômica dominante	Fígado	Visceral neurológica Fotossensibilidade	ALA PBG COPRO
Porfíria variegata	Protoforfirinogênio oxidase	Autossômica dominante	Fígado	Visceral neurológica Fotossensibilidade	ALA PBG COPRO
2b crônicas					
Porfíria Cutânea Tarda (PCT)	Uroporfirinogênio descarboxilase	Variável	Fígado	Fotossensibilidade	URO HEPTA
Porfíria Hepatoeritropoiética (HEP)	Uroporfirinogênio descarboxilase	Autossômica recessiva	Fígado Medula óssea	Visceral Neurológica Fotossensibilidade	URO HEPTA

cos da classe dos hidrocarbonetos halogenados e metais pesados são reconhecidamente porfirinogênicos, provocando porfirinúrias (Tabela 2). Esses fatores são capazes de provocar alterações enzimáticas na rota do heme e, por consequência, uma alteração do perfil de porfirinas eliminadas via renal.³ Dentre alguns agentes químicos que interferem na biossíntese do heme de interesse ambiental e ocupacional podemos citar:

Hidrocarbonetos Halogenados *Hexaclorobenzeno (HCB)*

O HCB é um hidrocarboneto clorado, que foi utilizado como fungicida em várias partes do mundo à partir da década de 1930, quando começou sua pro-

dução industrial. A preocupação por sua presença no meio ambiente e as relações com a saúde humana nasceram, principalmente, a partir do acidente ocorrido no sul da Turquia, no final da década de 1950, quando semente de trigo tratada por este fungicida foi utilizada para produção de pão e consumida por milhares de pessoas. Os efeitos da ingestão maciça acidental de HCB sobre a saúde daquela população foram extremamente graves, tanto em curto como em médio prazo. Naquele acidente, a ingestão maciça de HCB pela população produziu uma epidemia denominada *porfíria túrcica*. A preocupação advém do fato de que o HCB continua sendo produzido, porém como impureza ou subproduto de inúmeros processos industriais, principalmente na produção de produtos clorados⁴ (Tabela 3). A principal fonte do

Tabela 2
Causas e Fatores Exógenos Relacionados a Porfirias¹⁴

Fatores Porfirinogênicos
Substâncias químicas como solventes clorados, hexaclorobenzeno, bifenilas polihalogenadas, dioxinas, cloreto de vinila, tetracloroeto de carbono, benzeno, clorofórmio.
Metais pesados como chumbo, mercúrio e arsênio.
Alcoolismo.
Doenças hepáticas e infecciosas; cirrose, hepatite crônica ativa, hepatite infecciosa e tóxica, mononucleose etc.
Efeito adverso de drogas como analgésicos, sedativos, hipnóticos, anestésicos, hormônios sexuais, antibióticos da classe das sulfas.
Doenças hematológicas: anemias aplásticas, sideroblásticas e hemolíticas, deficiência na eritropoiese, anemia perniciososa, talassemia, leucemia etc.

HCB é a emissão industrial originada na produção de organoclorados.⁵

Além disso, os clorados como o HCB são extremamente resistentes à degradação, estão amplamente dispersos no meio ambiente, acumulando-se também nas cadeias alimentares. O HCB, tais como outros produtos clorados, interferem com o metabolismo das porfirinas, ao inibir a enzima uroporfirinogênio descarboxilase hepática (URO-D); como se sabe, essa é uma enzima que catalisa a descarboxilação passo a passo da porfirina com oito carboxilas (URO) até quatro carboxilas (COPRO), passando pelos intermediários com sete, seis e cinco carboxilas (HEPTA, HEXA e PENTA, respectivamente). A administração de HCB em animais experimentais causa uma deficiência hepática da URO-D, embora permaneça inalterada nos eritrócitos⁶ e um padrão de acúmulo de porfirinas que se assemelha muito à PCT em humanos³, caracterizada bioquimicamente por aumento de URO e HEPTA na urina.⁵

Estudos realizados em trabalhadores de uma fundição de alumínio cujo processo industrial gerava hexaclorobenzeno e octacloroestireno a partir do hexacloroetano concluíram que essa exposição gerava alterações de longo prazo no metabolismo de porfirinas. As alterações metabólicas observadas eram discretas e clinicamente insignificantes mas identificáveis como uma coproporfinúria secundária, a primeira fase do desenvolvimento de uma porfiria hepática crônica induzida por aromáticos polihalogenados.⁶

Tabela 3
Lista de Compostos que se Conhece ou Suspeita que Estão Associados com o HCB como Sub-produto ou Contaminante⁴

Substância Química
I. Substâncias Químicas de Uso Industrial com Conhecida Presença de HCB como Subproduto
1. Cloro.
2. Tetracloroeto de carbono.
3. Percloroetileno.
4. Tricloroetileno.
5. Pentaclorobenzeno.
II. Substâncias Químicas de Uso Industrial com Potencial de Produzirem HCB como Subproduto
1. Solventes clorados: hexacloroetano; 1,1,2-tricloro-1,2,2-trifluoroetano; 1,1,2-tricloroetano; dicloroetileno; bifenilas policloradas; naftaleno clorado; clorobenzenos; dicloropropenos.
2. Monômeros clorados: cloreto de vinila; 2-clorobutadieno.
3. Intermediários clorados: fosfogênio; hexaclorociclopentadieno; cloreto de etila; cloreto cianídrico; anidrido tetracloroftálico
4. Substâncias químicas utilizadas em eletrólise: sódio metálico; perclorato de sódio
5. Produção de outras substâncias químicas: dióxido de titânio; diisocianato de tolueno; reativos de azo-corantes do cloreto cianídrico; corantes de ftalocianina e pigmentos.

Pentaclorofenol (PCP)

O PCP é um praguicida que foi muito utilizado em preservação de madeira; o PCP comercial contém altos níveis de impurezas de dibenzo-p-dioxinas cloradas e dibenzofuranos clorados. Num estudo populacional realizado em 1986⁷, comparou-se indivíduos expostos e não-expostos ocupacionalmente a PCP numa mesma indústria, de 1938 a 1978. Nos trabalhadores que apresentavam cloroacne, foram encontrados níveis médios diferentes de coproporfinas urinárias, comparando-se os dois grupos (117 µg/24 horas nos expostos e 90,6 µg/24 horas nos não-expostos). Nesse estudo, concluiu-se que trabalhadores com cloroacne que tinham sido expostos a PCP e bifenilas policloradas (PCB) apresentavam aumento significativamente mais alto na excreção urinária de HEPTA, HEXA,

PENTA e COPRO do que os não-expostos e que as alterações bioquímicas persistiam alguns anos após cessada a exposição.³

Dioxinas

Experimentos em animais demonstraram que as tetraclorodibenzodioxinas (denominadas genericamente de dioxinas ou TCDDs) são porfirinogênicas em roedores após a ingestão de altas doses, mas a evidência em seres humanos ainda permanece confusa, pois as principais evidências são provenientes de relatos de exposição em ambiente de trabalho. Num estudo realizado em 1964 numa indústria que produzia herbicidas como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e ácido 2,4,5 triclorofenoxiacético (2,4,5-D), foram observados dois trabalhadores com PCT e URO aumentada na urina de oito dos 25 trabalhadores analisados. Em outro estudo realizado na Tchecoslováquia com 55 trabalhadores, 11% desenvolveram PCT e 21%, um aumento discreto de URO urinária. Entretanto, outros estudos realizados não foram tão elucidativos. Posteriormente, na mesma indústria em Nova Jersey, outros estudos realizados não demonstraram excreção urinária anormal dos precursores do heme, exceto em um trabalhador que apresentava PCT. Trabalhadores da manutenção que estavam expostos aos mais altos níveis de TCDD apresentaram uma média de COPRO urinária mais alta que os outros trabalhadores, mas dentro da faixa de normalidade.³

Outros Hidrocarbonetos Halogenados

Apesar de os numerosos estudos experimentais *in vitro* com hidrocarbonetos halogenados terem demonstrado sua ação porfirinogênica, os relatos desta ação no homem ainda são escassos. Além dos agentes químicos já citados existem também relatos de casos de PCT para outros agentes químicos como o diclorodifeniltricloroetano (DDT) em trabalhadores que o aplicavam na agricultura e fenóis policlorados originados na mistura acidental de benzilclorofenol e hipoclorito de sódio no preparo de solução para limpeza. Na avaliação da exposição a cloreto de vinila em 46 trabalhadores de um processo de produção de cloreto de polivinila, foi verificado que 36 deles apresentavam coproporfirinúria e quatro desse mesmo grupo apresentaram aumento discreto de URO e HEPTA urinárias. Com relação às bifenilas polibromadas (PBBs), num estudo realizado em uma área rural de Michigan, de 126 pessoas expostas aos PBBs, através da ingestão de carne e laticínios, 11 apresentaram coproporfirinúria, e quatro desses 11 tinham discreta uroporfirinúria. Em Taiwan, de 20 indivíduos intoxicados com PCB oriunda de óleo comestível, três apresentaram URO aumentada na urina e cinco tinham COPRO urinária eleva-

da. Vários estudos têm sido feitos com compostos organoclorados tais como bifenilas policloradas, diclorodifenildicloroetileno, diclorodifenildicloroetano e 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-p-dioxina.³

Metais Pesados

Arsênio (As)

O As interfere na atividade de várias enzimas envolvidas na biossíntese do heme, alterando o perfil de porfirinas urinárias.⁸ Em estudos populacionais realizados no México em áreas onde a água fornecida para a população tinha níveis elevados de As, foram observadas as seguintes alterações no metabolismo do heme: (a) discreto aumento nas atividades das porfobilinogênio desaminase (PBG-D) e uroporfirinogênio descarboxilase (URO-D) dos eritrócitos; (b) aumento da excreção total de porfirinas urinárias, devido ao aumento da coproporfirina III (COPRO III) e uroporfirina III (URO III); (c) aumento da relação COPRO/URO e da COPRO III/COPRO I. Estes estudos sugerem a relação direta entre o aumento da atividade enzimática e porfirinas totais e concluem que a exposição crônica ao As leva a alterações na biossíntese do heme, mas os efeitos dependem das características da exposição ainda não bem definidas e estudadas.⁹ Em estudos realizados na China, comparando-se As e porfirinas urinárias em população exposta (áreas endêmicas) e não-exposta, concluiu-se que há uma correlação positiva dos níveis urinários de As com o aumento das porfirinas urinárias. Como a população exposta com idade menor que 20 anos já apresentava alterações nas porfirinas, conclui-se que o perfil de porfirinas urinárias tem potencial a ser utilizado como indicador biológico de efeito para exposição crônica ao As.¹⁰ Num estudo realizado por Apostoli, Sarnico e Bavazzano¹¹, com o objetivo de avaliar trabalhadores expostos a As na indústria de vidro, correlacionou-se o perfil de porfirinas urinárias com o As nas diferentes formas encontradas (trivalente e pentavalente, ácido monometil arsônico, ácido dimetil arsênico e arsenobetaína). A exposição a As trivalente apresentou correlação com aumento na excreção urinária de URO e PENTA, assim concluiu-se que o aumento na excreção urinária de algumas porfirinas é compatível com a inibição da URO-D na biossíntese do heme e pode ser útil para detectar efeitos precoces ou susceptibilidade ao As.¹¹

Mercúrio (Hg)

O Hg altera o metabolismo das porfirinas nas células renais dos túbulos proximais, levando a um padrão de excreção de porfirinas urinárias alterado. Estudos realizados em ratos expostos a Hg na forma de metilmercúrio apresentaram um aumento na excreção de

PENTA e COPRO e o aparecimento de uma fração atípica entre essas duas frações, denominada de pré-coproporfirina; essas alterações foram correlacionadas como a dose e duração da exposição, persistindo por 20 semanas cessada a exposição.¹² Na tentativa de avaliar a utilização do padrão de porfirinas urinárias com a exposição a Hg, foi realizado um estudo em dentistas em que se observou que aqueles que apresentavam níveis de Hg acima de 20 µg/L tinham um aumento de excreção de PENTA e COPRO três vezes acima dos dentistas que não tinham Hg detectável pela análise urinária. Nos dentistas considerados expostos a Hg, também apareceu a fração atípica semelhante àquela encontrada em estudo com ratos, a pré-coproporfirina. Quando foram utilizadas urinas de amostra isolada e corrigidas pela creatinina, o mesmo padrão se observou, levando a crer que o padrão de porfirinas urinárias pode ser muito útil como biomarcador de exposição ao Hg, tanto em estudos populacionais como na prevenção de doenças relacionadas à exposição ocupacional.¹² Num estudo realizado em 52 trabalhadores expostos à Hg orgânico e inorgânico, 23% apresentaram níveis elevados de COPRO urinário.³

Chumbo (Pb)

A alteração da síntese do heme provocada pela exposição, quer aguda, quer crônica, ao Pb é bem conhecida. O Pb provoca acúmulo de zinco-protoporfirina (ZPP) nos eritrócitos e aumento urinário de ácido δ-aminolevulínico (ALA) e COPRO. O Pb inibe reversivelmente a enzima ácido δ-aminolevulínico desidratase (ALA-D) como também interfere com a atividade

da coproporfirinogênio oxidase e ferroquelase, possivelmente por outros mecanismos diferentes da inibição. A intoxicação pelo Pb é classificada como uma porfirinúria secundária, apresentando similaridade com as porfirias agudas.³

CONCLUSÃO

As porfirinas e seus precursores são excretados em pequenas quantidades na urina que são proporcionais às concentrações encontradas no fígado, isto é, o padrão de excreção de porfirinas urinárias reflete o padrão desse órgão. Como já apresentado, um grande número de agentes porfirinogênicos já descritos têm demonstrado produzir alterações características no perfil de porfirinas urinárias, tanto em experimentos animais como também na exposição ambiental e na ocupacional. Face ao exposto, concluímos que a medida dos precursores da biossíntese do heme pode oferecer uma avaliação das alterações que ocorrem bem antes de os efeitos da exposição se tornarem clinicamente evidentes. Pode oferecer também os meios de detectar os danos produzidos na exposição a determinados agentes químicos em estágios precoces e presumivelmente reversíveis.³ A dosagem de porfirinas urinárias utilizando metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência¹³ é sensível para avaliar o perfil de porfirinas eliminadas fisiologicamente via renal e detecta alterações discretas e precoces. Assim, a quantificação dos precursores do heme na urina tem potencial a ser utilizado como indicador biológico de efeito na exposição a agentes porfirinogênicos.

SUMMARY

Occupational Exposure to Porphyrinogenics Agents and the Urinary Porphyrin Excretion Standard

Porphyryns are oxidized byproducts which have escaped from the heme biosynthetic pathway, an essential molecule for the activity of many proteins, due its ability to iron-complex. In the hemoglobin they are essential to oxygen transportation; in cytochrome C and P₄₅₀ they take part in the energy production and the detoxification reactions respectively. The heme biosynthesis involves eight enzymes, five of which produce intermediate molecules generically termed porphyrinogens. Porphyrinogens with 8, 7, 6, 5, and 4-carboxylic groups are oxidized when escaping the intracellular pathway of the heme biosynthesis, then named porphyrins. In healthy people, these porphyrins are excreted in their urine, with a characteristic pattern of normality. When an enzyme is inhibited in the heme biosynthesis, the result is an inappropriate accumulation of that enzyme's substrate. The increase of one or more of the individual porphyrins in the urine above the normal range can be caused by many hereditary pathologic conditions or environmental factors. Some chemical substances like aromatic polychlorinated compounds, such as hexachlobenzene, and some metals like lead, arsenic and mercury are porphyrinogenics, that is, they can cause inhibition of one or more enzymes involved in the heme biosynthesis, consequently altering the porphyrins urinary excretion profile. Many publications concerning the porphyrinogenic action of these chemical substances in man, both by occupational or ambiental exposure, lead us to believe that urinary porphyrins profile has a potential use as a biomarker in exposure to those substances.

Key words: Porphyrins; Porphyrinogens; Heme; Urine; Occupational Health.

REFERÊNCIAS

1. Doss MO, Kühnel A, Gross, U. Alcohol and porphyrin metabolism. *Alcohol Alcoholism* 2000; 35(2):109-25.
2. Doss MO. Porphyrinurias and occupational disease. *Ann NYork Acad Sci* 1987; 514(1):204-18.
3. Daniell WE, Stockbridge HL, Labbe, RF, Woods JS, Anderson KE, Bissell MD et al. Chemical exposures and disturbances of heme synthesis. *Environ Health Perspect* 1997; 105(1):37-53.
4. Della Rosa H, Mendes R. Exposição ocupacional ao hexaclorobenzeno (HCB) e seus efeitos sobre a saúde: estado atual de conhecimento. São Paulo: Rhodia; 1993. 52 p. (Documento Interno).
5. Ozalla D, Herrero C, Ribas-Fitó N, To-Figueras J, Toll A, Sala M et al. Evaluation of urinary porphyrin excretion in neonates born to mothers exposed to airborne hexachlorobenzene. *Environ Health Perspect* 2002; 110:205-9.
6. Selden AI, Floderus Y, Bodin LS, Westberg HB, Thunel S. Porphyrin status in aluminum foundry workers exposed to hexachlorobenzene and octachlorostyrene. *Arch Environ Health* 1999; 54(4):248-53.
7. Hryhorczuk DO, Wallace WH, Persky V, Furner S, Webster JR, Oleske D et al. A Morbidity study of former pentachlorophenol-production workers. *Environ Health Perspect* 1998; 106:401-8.
8. Garcia-Vargas GG, Hernandez-Zavala A. Urinary porphyrins and heme biosynthetic enzyme activities measured by HPLC in arsenic toxicity. *Biomed Chromatogr* 1996; 10(6):278-84.
9. Hernandez-Zavala A, Del Razo LM, Garcia-Vargas GG, Agular C, Borja VH, Albores A et al. Altered activity of heme biosynthesis pathway enzymes in individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Arch Toxicol* 1999; 73(2):90-5.
10. Wang JP, Zheng B, Liu F, Moore, MR, Ng, JC. Porphyrins as early biomarkers for arsenic exposure in animals and humans. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002; 48(8):835-43.
11. Apostoli P, Sarnico M, Bavazzano O. Arsenic and porphyrins. *Am J Ind Med* 2002; 42(3):180-7.
12. Woods JS, Martin MD, Naleway CA, Echeverria D. Urinary porphyrin profiles as a biomarker of mercury exposure: studies on dentists with occupational exposure to mercury vapor. *J Toxicol Environm Health* 1993; 40(2-3):235-46.
13. Ford RE, Ou C, Ellefson RD. Liquid-chromatographic analysis for urinary porphyrins, *Clin Chem* 1981; 27(3):397-402.
14. Verdon CP, Pollock TA, Bralley JA. Testing for Toxic Metals and Chemical Induced Porphyrinuria. *Metamatrix Articles*. [Cited 2000 Jun]. Available from: <http://www.metamatrix.com/articles>.