

قدرت اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت در تشخیص مسمومیت با سرب

دکتر دردی قوجق^۱، دکتر احسان بقایی^۱

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به شیوع آلودگی با سرب و عدم وجود دستگاه جذب اتمی در همه آزمایشگاه ها و این که اندازه گیری سرب خون توسط دستگاه جذب اتمی فقط وضع حال افراد را نشان می دهد، این تحقیق با هدف مقایسه میزان پروتوپورفیرین گلوبول فرمز با میزان سرب سرم به منظور جایگزین روشی ساده، در دسترس و در عین حال دقیق برای تشخیص آلودگی با سرب بر روی بیماران مراجعه کننده به بیمارستانهای بابل در سالهای ۷۵-۱۳۷۸ انجام گرفت.

مواد و روشها: پژوهش حاضر به روش کارآزمایی بالینی، از نوع تشخیصی بر روی ۸۵۷ نفر صورت پذیرفت. نقطه برش مسمومیت سرب در روش پروتوپورفیرین اریتروسیت، ۰/۵۳ میکرومول در لیتر نقطه برش مسمومیت با سرم به روش جذب اتمی که مطابق استاندارد به عمل آمد، برابر با ۰/۶۸ میکرومول در لیتر بود. میزان حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت (PPV) و منفی (NPV) هر یک از روش ها و همبستگی این دو روش محاسبه شد. **یافته ها:** تحقیق نشان داد که حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت (PPV) در روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت به ترتیب برابر با ۹۸ درصد، ۹۷ درصد و ۹۸ درصد بود. در روش جذب اتمی حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت (PPV) و منفی (NPV) به ترتیب برابر با ۷۴ درصد، ۶۸ درصد، ۶۹ درصد و ۷۲ درصد بود.

نتیجه گیری: اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت به عنوان روشی برای ارزیابی به طور نسبی دقیق میزان آلودگی با سرب می تواند به عنوان روش جایگزین اندازه گیری سرب سرم به روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی مورد استفاده قرار گیرد. این روش با توجه به سرعت عمل، ساده بودن، هزینه کم و قابل دسترس بودن و به ویژه این که وضعیت آلودگی با سرب را در مدت طولانی نشان می دهد، برای بررسی میزان آلودگی با سرب توصیه می شود.

واژگان کلیدی: سرب، پروتوپورفیرین اریتروسیت، اسپکتروفتومتری جذب اتمی، اسپکتروفلورومتری

مقدمه

سرب در واقع یک سم سلولی است و علایم بالینی مسمومیت با سرب در شرایط حاد بروز می‌کند؛ بنابراین، جهت جلوگیری از اثرات خطرناک آن باید در مراحل اولیه مسمومیت تشخیص داده شود، میزان شیوع آلودگی در بین اطفال را تا ۴۰۰۰ نفر در سال در آمریکا گزارش کرده اند (۱). تماس با سرب و یا ترکیبات آلی حاوی سرب سبب افزایش سرب خون می‌شود. تا به حال مشخص گردیده افرادی که در تماس با سرب هستند، علایمی بروز می‌دهند که نشان دهنده اثر سرب بر روی سنتز "هم" است. بررسی دقیق‌تر این پدیده نشان داده است که در این افراد دو آنزیم کلیدی در سنتز "هم" مهار می‌شود. این آنزیم‌ها به نام‌های دلتا آمینولولینات دهیدروژناز و فروشلاتاز می‌باشند. مهار این آنزیم‌ها در اریتروسیت‌ها موجب افزایش دفع ادراری دلتا آمینولولینیک اسید می‌شود. براساس این مشاهدات، روش دیگر برای بررسی اثرات بیولوژیک سرب مورد استفاده قرار گرفت که در آن فعالیت دلتا آمینولولینات دهیدروژناز اندازه گیری می‌گردید (۲). اثرات سرب بر روی افرادی که در امور ترافیک در مراکز شهرهای بزرگ مشغول خدمت هستند و یا در مراکز پر رفت و آمد شهر زندگی می‌کنند، به خصوص برای اطفال خطرناک است (۳،۴،۵). اندازه گیری میزان سرب خون برای بررسی مقدار آلودگی با سرب و جهت کنترل مقدار سرب خون روش خوبی است اما این روش وقت گیر است و هزینه بالایی دارد. از طرفی، تجهیزات اندازه گیری سرب به روش جذب اتمی در همه آزمایشگاه‌ها وجود ندارد و نیز وضعیت فعلی فرد را در رابطه با آلودگی با سرب نشان می‌دهد، در نتیجه نمی‌تواند برای بیماریابی و در کلینیک استفاده شود. بنابراین،

باتوجه به اهمیت بررسی مسمومیت با سرب و عوارض ناشی از آن، استفاده از یک روش ساده و قابل دسترس مورد نیاز می‌باشد. برای بررسی مسمومیت با سرب روش‌هایی مانند بررسی کوپروپورفیرین، پروتوپورفیرین و دلتا-آمینو-لولینیک اسید مورد بررسی قرار گرفته است (۶). روش مناسب بررسی مسمومیت با سرب، اندازه گیری سرب خون و پروتوپورفیرین است، مقدار پروتوپورفیرین خون اثر سرب را برمه‌ار بیوستز "هم" نشان می‌دهد، در واقع، بیانگر اثر آن در طولانی مدت است و اندازه گیری آن برای تشخیص مسمومیت با سرب و کم خونی ناشی از فقر آهن کاربرد دارد (۷،۸). اهمیت دو روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت و پروتوپورفیرین-روی برای تشخیص مسمومیت با سرب با هم مقایسه شده اند و مشخص گردیده که هر دو روش در بررسی مسمومیت با سرب از کارایی بالایی برخوردار هستند (۹). اگرچه اهمیت اندازه گیری سرب سرم و اندازه گیری پروتوپورفیرین سرم برای بررسی مسمومیت با سرب مشخص شده، حساسیت این روش‌ها برای تشخیص مسمومیت با سرب در حالت‌های مختلف تعیین نشده است (۱۰). در این روش، استفاده از تغییرات غلظت پروتوپورفیرین اریتروسیت برای بررسی میزان مسمومیت با سرب مطالعه گردید. تحقیق به منظور بررسی سلامت افرادی که در معرض مسمومیت با سرب انجام گرفت و به همراه اندازه گیری سرب خون، اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت نیز به عمل آمد، از این رو، حساسیت، ویژگی و مثبت (NPV) و ارزش اخباری منفی (PPV) این روش بر روی مراجعه کنندگان به بیمارستان‌های بابل در سال‌های ۱۳۷۸-۱۳۷۵ تعیین شد. در آینده نیز برای کنترل میزان مسمومیت با سرب، این روش جایگزین

روش اندازه گیری سرب خون خواهد شد، زیرا تجهیزات اندازه گیری سرب خون دستگاه جذب اتمی در همه آزمایشگاه ها موجود نیست، در صورتی که دستگاه های اسپکتروفلورومتری و اسپکتروفتومتر در همه آزمایشگاه ها قابل دسترس هستند.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی - اسید نیتریک، پروتوپورفیرین، سرب، پیریدین و اتانول از شرکت سیگما تهیه شد.

تجهیزات - دستگاه سانتریفوژ مدل کلمنت ۲۰۰۰، جذب اتمی مدل AAS 5FL، دستگاه اسپکتروفلورومتر مدل RF-۵۰۰۰ به کار رفت.

تحقیق به روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیصی بر روی ۸۵۷ نفر که ۴۲۷ آلوده به سرب در فاصله سنی ۵۸-۱۲ سال با متوسط سنی $32/28 \pm 6/83$ سال صورت پذیرفت. همچنین در ۴۳۰ نفر سالم در فاصله سنی ۶۲-۱۱ سال با میانگین سنی $31 \pm 8/45$ سال که علائم آلودگی به سرب را نداشتند، میزان سرب سرم و پروتوپورفیرین اریتروسیت اندازه گیری شد. کلیه افرادی که در فاصله سالهای ۷۵-۱۳۷۸ جهت بررسی آلودگی به سرب به مراکز تحت پوشش طرح مراجعه نموده اند، در تحقیق وارد گردیدند. برای هر یک از این افراد یک فرم اطلاعاتی تهیه و اطلاعات مرتبط با سن، جنس و شغل آنها ثبت می گردید. از هر نفر ۳ میلی لیتر خون ناشتا تهیه و میزان سرب سرم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AAS 5FL) اندازه گیری شد و کسانی که میزان سرب بیشتر از $0/68$ میکرومول در لیتر داشتند، افراد آلوده با سرب تلقی گردیدند. پروتوپورفیرین اریتروسیت توسط دستگاه اسپکتروفلورومتر (مدل RF-۵۰۰۰) اندازه گیری شد. کسانی که میزان پروتوپورفیرین اریتروسیت آنها بیشتر از $0/53$ میکرومول در لیتر بود، افراد آلوده با سرب تلقی شدند. در یک جدول 2×2 میزان حساسیت، ویژگی و نیز ارزش اخباری مثبت (PPV) و ارزش اخباری منفی (NPV) و همچنین میزان همبستگی این دو شاخص بررسی گردید. برای انجام آزمایش ها، از مراجعه کنندگان در حالی که از تابش مستقیم نور محافظت می گردید، ۳ میلی لیتر خون گرفته شد. برای اندازه گیری سرب سرم، ۵۰ میکرولیتر از سرم، تهیه شده با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول $0/8$ مول در لیتر اسید نیتریک مخلوط، سپس در دور ۳۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سرب موجود در سوپرناتانت توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی در طول موج ۲۱۷ نانومتر به صورت دوبلیکیت اندازه گیری شد. نمونه استاندارد سرب نیز در حدود مقادیر طبیعی $0/5$ تا ۵ میکرومول در لیتر تهیه و به همراه نمونه ها اندازه گیری شد. ۵۰ میکرولیتر دیگر از نمونه خون در لوله های آزمایش اضافه می شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن افزوده می گردید تا همولیز شود. سپس ۳ میلی لیتر اتانول ۹۰ درصد اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه توسط همزن مکانیکی مخلوط می گردید. پس از آن، در دور ۳۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می شد. پروتوپورفیرین اریتروسیت در سوپرناتانت محلول به دست آمده در طول موج 407 نانومتر توسط اسپکتروفلورومتری اندازه گیری گردید. استاندارد پروتوپورفیرین در حدود مقادیر طبیعی ۱ تا ۲۰ میکرومول در لیتر در حلال پیریدین تهیه و به همراه سایر نمونه ها اندازه گیری شد. مقادیر سرب در سرم و پروتوپورفیرین اریتروسیت بر حسب میکرومول در لیتر محاسبه گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری، روش Student t-test به کار رفت.

روش اندازه گیری سرب خون خواهد شد، زیرا تجهیزات اندازه گیری سرب خون دستگاه جذب اتمی در همه آزمایشگاه ها موجود نیست، در صورتی که دستگاه های اسپکتروفلورومتری و اسپکتروفتومتر در همه آزمایشگاه ها قابل دسترس هستند.

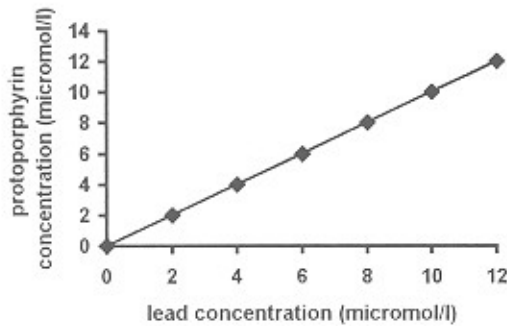
مواد و روش ها

مواد شیمیایی - اسید نیتریک، پروتوپورفیرین، سرب، پیریدین و اتانول از شرکت سیگما تهیه شد.

تجهیزات - دستگاه سانتریفوژ مدل کلمنت ۲۰۰۰، جذب اتمی مدل AAS 5FL، دستگاه اسپکتروفلورومتر مدل RF-۵۰۰۰ به کار رفت.

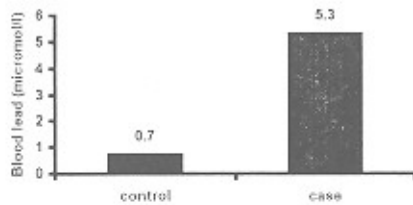
تحقیق به روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیصی بر روی ۸۵۷ نفر که ۴۲۷ آلوده به سرب در فاصله سنی ۵۸-۱۲ سال با متوسط سنی $32/28 \pm 6/83$ سال صورت پذیرفت. همچنین در ۴۳۰ نفر سالم در فاصله سنی ۶۲-۱۱ سال با میانگین سنی $31 \pm 8/45$ سال که علائم آلودگی به سرب را نداشتند، میزان سرب سرم و پروتوپورفیرین اریتروسیت اندازه گیری شد. کلیه افرادی که در فاصله سالهای ۷۵-۱۳۷۸ جهت بررسی آلودگی به سرب به مراکز تحت پوشش طرح مراجعه نموده اند، در تحقیق وارد گردیدند. برای هر یک از این افراد یک فرم اطلاعاتی تهیه و اطلاعات مرتبط با سن، جنس و شغل آنها ثبت می گردید. از هر نفر ۳ میلی لیتر خون ناشتا تهیه و میزان سرب سرم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AAS 5FL) اندازه گیری شد و کسانی که میزان سرب بیشتر از $0/68$ میکرومول در لیتر داشتند، افراد آلوده با سرب تلقی گردیدند. پروتوپورفیرین اریتروسیت توسط دستگاه اسپکتروفلورومتر (مدل RF-۵۰۰۰) اندازه گیری شد. کسانی که میزان پروتوپورفیرین اریتروسیت آنها بیشتر از $0/53$ میکرومول در لیتر بود، افراد آلوده با سرب تلقی شدند. در یک جدول 2×2 میزان حساسیت، ویژگی و نیز ارزش اخباری مثبت (PPV) و ارزش اخباری منفی (NPV) و همچنین میزان همبستگی این دو شاخص بررسی گردید. برای انجام آزمایش ها، از مراجعه کنندگان در حالی که از تابش مستقیم نور محافظت می گردید، ۳ میلی لیتر خون گرفته شد. برای اندازه گیری سرب سرم، ۵۰ میکرولیتر از سرم، تهیه شده با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول $0/8$ مول در لیتر اسید نیتریک مخلوط، سپس در دور ۳۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سرب موجود در سوپرناتانت توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی در طول موج ۲۱۷ نانومتر به صورت دوبلیکیت اندازه گیری شد. نمونه استاندارد سرب نیز در حدود مقادیر طبیعی $0/5$ تا ۵ میکرومول در لیتر تهیه و به همراه نمونه ها اندازه گیری شد. ۵۰ میکرولیتر دیگر از نمونه خون در لوله های آزمایش اضافه می شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن افزوده می گردید تا همولیز شود. سپس ۳ میلی لیتر اتانول ۹۰ درصد اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه توسط همزن مکانیکی مخلوط می گردید. پس از آن، در دور ۳۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می شد. پروتوپورفیرین اریتروسیت در سوپرناتانت محلول به دست آمده در طول موج 407 نانومتر توسط اسپکتروفلورومتری اندازه گیری گردید. استاندارد پروتوپورفیرین در حدود مقادیر طبیعی ۱ تا ۲۰ میکرومول در لیتر در حلال پیریدین تهیه و به همراه سایر نمونه ها اندازه گیری شد. مقادیر سرب در سرم و پروتوپورفیرین اریتروسیت بر حسب میکرومول در لیتر محاسبه گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری، روش Student t-test به کار رفت.

اختلاف معنی دار و میزان همبستگی دو روش را نشان می‌دهد ($P < 0/05$ و $r = 0/96$) است.



نمودار ۱- همبستگی بین غلظت پروتوپورفیرین اریتروسیت و سرب سرم. هر یک از مقادیر بر حسب $(Mean \pm SD)$ ارایه شده است. تعداد آزمایش‌ها در هر مورد ۶ عدد می‌باشد

بیشترین مقدار سرب خون در افرادی که در معرض سرب و یا ترکیبات آلی سرب دار قرار گرفته اند برابر با $5/31$ میکرومول در لیتر و کمترین مقدار سرب در افراد سالم برابر با $0/68$ میکرومول در لیتر بود. مقدار سرب خون در افراد سالم و افرادی که در معرض سرب بوده اند، نشان داده شده است (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقدار سرب سرم در افراد سالم و آلوده به سرب. هر یک از مقادیر بر حسب $(Mean \pm SD)$ ارایه شده است. تعداد آزمایش‌ها در هر مورد ۶ عدد می‌باشد

بالاترین مقدار پروتوپورفیرین در افرادی که در معرض سرب قرار گرفته اند، برابر با $10/75$ میکرومول در لیتر و کمترین مقدار برابر با $1/34$ میکرومول در لیتر است. (نمودار ۳)

یافته‌ها

از ۸۵۷ فرد مورد بررسی، ۲۸۵ مرد آلوده به سرب با محدوده سنی $58/19 - 12/45$ سال و ۱۴۲ زن آلوده به سرب با محدوده سنی $14/73 - 57/83$ سال بودند. همچنین ۲۰۶ مرد سالم با محدوده سنی $62/42 - 11/32$ سال و ۱۲۴ زن سالم با محدوده سنی $14/78 - 47/23$ سال مورد بررسی قرار گرفتند. در روش جذب اتمی، ۳۱۲ نفر آلوده به سرب و ۱۱۵ نفر غیر آلوده به سرب بودند. در روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت، ۴۱۹ نفر آلوده به سرب و ۸ نفر غیر آلوده به سرب بودند.

جدول ۱- نتیجه روش پروتوپورفیرین

اریتروسیت در تشخیص آلودگی با سرب

جمع	منفی	مثبت	آلودگی پروتوپورفیرین
۴۳۲	۱۳	۴۱۹	مثبت
۴۲۵	۴۱۷	۸	منفی
۸۵۷	۴۳۰	۴۲۷	جمع

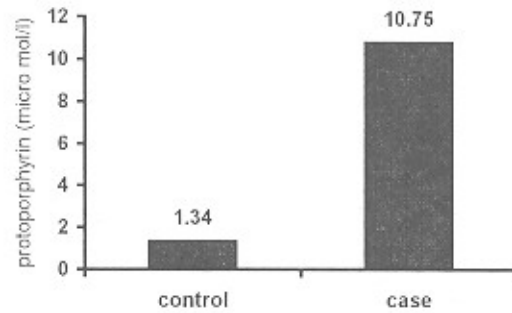
جدول ۲- نتیجه روش جذب اتمی در تشخیص

آلودگی با سرب

جمع	منفی	مثبت	آلودگی جذب اتمی
۴۵۰	۱۳۸	۳۱۲	مثبت
۴۰۷	۲۹۲	۱۱۵	منفی
۸۵۷	۴۳۰	۴۲۷	جمع

مقایسه وضعیت آنان در جدول (۱) و (۲) ارایه شده است و نشان می‌دهد که حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت (PPV) ارزش اخباری منفی (NPV) روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت نسبت به روش جذب اتمی بیشتر است، نمودار مقایسه نتایج به دست آمده با دو روش

سایر محققان گزارش دادند که پروتوپورفیرین در کسانی که میزان سرب آنان در حدود ۳/۸۵-۲/۸۸ میکرومول در لیتر است و حداقل ۶ ماه در معرض سرب قرار گرفته باشند به حدود ۱۴/۴۹ تا ۱۹/۳۰ میکرومول در لیتر می‌رسد (۹.۶.۲) که با نتایج به دست آمده از این پژوهش قابل مقایسه است. کنترل میزان سرب خون و تشخیص به موقع مسمومیت با سرب برای جلوگیری از اثرات بیشتر آن بسیار با اهمیت می‌باشد با انجام آزمایش ساده و دقیق می‌توان از بروز بسیاری از عوارض آن از جمله عقب ماندگی ذهنی در اطفال جلوگیری نمود. پس برای بررسی سلامت افرادی که در معرض سرب و یا ترکیبات سربی قرار می‌گیرند و برای بررسی مسمومیت ناشی از آن به همراه اندازه گیری سرب خون انجام آزمایش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت نیز جهت تشخیص دقیق تر مناسب است. همچنین با توجه به کم هزینه بودن، قابل دسترس بودن، حساسیت و دقت روش اندازه گیری پروتوپورفیرین برای تشخیص مسمومیت با سرب، این روش می‌تواند جایگزین روش اندازه گیری سرب خون شود. با فراهم آمدن امکانات در آینده، روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت علاوه بر استفاده در تشخیص و کنترل مسمومیت با سرب در بررسی بسیاری از بیماریهای مرتبط به خون نیز به کار می‌رود. بنابراین، با توجه به هماهنگی بین میزان سرب خون و غلظت پروتوپورفیرین اریتروسیت در افرادی که در معرض سرب بوده اند، روش بررسی پروتوپورفیرین اریتروسیت به دلیل قابل دسترس، کم هزینه، حساس و دقیق بودن نسبت به روش اندازه گیری سرب خون که تجهیزات آن قابل دسترس در همه آزمایشگاهها نمی‌باشد، مناسب تر است.



نمودار ۳- مقدار پروتوپورفیرین اریتروسیت

در افراد سالم و افراد آلوده با سرب. هر یک

از مقدار پیر حسب (Mean±SD) ارایه شده است

ارزیابی آماری مقایسه بین مقدار پروتوپورفیرین اریتروسیت در افراد سالم و افرادی که در معرض سرب بوده اند، اختلاف قابل توجهی را نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

بحث

تحقیق نشان داد که روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت قادر به تشخیص آلودگی با سرب است ($PPV = 97\%$ و $NPV = 98\%$). نتایج حاصل در افراد شاهد بیانگر آن هستند که مقدار سرب خون برابر با ۰/۶۸ میکرومول در لیتر و مقدار پروتوپورفیرین برابر با ۱/۳۴ میکرومول در لیتر می‌باشد و با گزارش سایر محققان که غلظت سرب خون را ۰/۷۲۴ تا ۰/۹۶۶ میکرومول در لیتر و مقدار پروتوپورفیرین را کمتر از ۱/۷ میکرومول در لیتر بیان داشته اند، منطبق است (۷.۹). نتایج به دست آمده از بررسی افرادی که در معرض سرب بوده اند، نشان می‌دهد که مقدار سرب خون آنان به طور متوسط برابر با ۵/۳۱ میکرومول در لیتر و مقدار پروتوپورفیرین اریتروسیت برابر ۱۰/۷۵ میکرومول در لیتر است که با نتایج سایر محققان، هم خوان می‌باشد (۱.۷).

سرب خون و غلظت پروتوپورفیرین اریتروسیت در افرادی که در معرض سرب بوده اند، روش بررسی پروتوپورفیرین اریتروسیت به دلیل قابل دسترس، کم هزینه، حساس و دقیق بودن نسبت به روش اندازه گیری سرب خون که تجهیزات آن قابل دسترس در همه آزمایشگاهها نمی باشد، مناسب تر است.

اندازه گیری پروتوپورفیرین برای تشخیص مسمومیت با سرب، این روش می تواند جایگزین روش اندازه گیری سرب خون شود. با فراهم آمدن امکانات در آینده، روش اندازه گیری پروتوپورفیرین اریتروسیت علاوه بر استفاده در تشخیص و کنترل مسمومیت با سرب در بررسی بسیاری از بیماریهای مرتبط به خون نیز به کار می رود. بنابراین، باتوجه به هماهنگی بین میزان

References:

- 1- Sassa S. Granick JL. Granick S. Kappas A. Levere RD. studies in lead poisoning. *Biochem Med.* 1973; 8: 135-148.
- 2- Zwennis W. Franssen A. Wijnans M Use of zinc protoporphyrin in screening individuals for exposure to lead. *Clin Chem.* 1990; 36 (8): 1456-1459.
- 3- Taylor A. Blood lead and zinc protoporphyrin cocentrations in road side workers employed in areas of high traffic density. *Ann Occup Hug.* 1982; 25(4): 439-442.
- 4- Fraser WD. Taggart DP. Fell GS. Lyon DB. Wheatley D. Garden O J. Shenkin A. Changes in iron, Zinc and Copper cocentration in serum and in their binding to transport proteins after cholecystectomy and cardiac surgery. *Clin Chem.* 1989; 35 (11): 2243-2247.
- 5- Piomeeli S. Free erythrocyte porphyrins in the detection of undue absorption of Pd an Fe deficiency. *Clin Chem.* 1977; 23(2) 264-269.
- 6- Kono K. Yoshida Y. Harada A. Takeda Y. Muro M. and Hirota, T. Zinc protoporphyrin as an indicator for occupational lead exposure. *Bull Osaka Med Sch.* 1982; 28 (1): 14-26.
- 7- Bush B. Doran DR. Jackson KW. Evaluation of erythrocyte protoporphyrin and zinc protoporphyrin as micro screening procedures for lead poisoning detection. *Anal Clin Biochem.* 1982; 19: 71-76.
- 8- Siegel R M. Lagrone D. H. The use of zinc protoporphyrin in screening young children for Iron deficiency. *Clin Ped.* 1994' 1: 473-479.
- 9- Kaul B. Slavin G. Davidow B. Free erythrocyte protoporphyrin and zinc protoporphyrin measurments compared as primary screening methods for detection of lead poisoning. *Clin Chem.* 1983; 29 (8): 1467-1470
- 19-Saenger P. Rosen JF. Markowitz M. Diagnostic significance of edetate disodium calcium testing in children with increades lead absorption. *Am J Dis Child.* 1982; 136: 312-315.