

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Fabiana de Lima Coutinho

Avaliação de biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em indivíduos expostos a resíduos industriais no Condomínio Volta Grande IV, município de Volta Redonda, RJ

Rio de Janeiro

2017

Fabiana de Lima Coutinho

Avaliação de biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em indivíduos expostos a resíduos industriais no Condomínio Volta Grande IV, município de Volta Redonda, RJ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública e Meio Ambiente. Área de Concentração: Toxicologia Ambiental

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria de Fátima Ramos Moreira

Rio de Janeiro

2017

Catálogo na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

C871a Coutinho, Fabiana de Lima
Avaliação de biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em indivíduos expostos a resíduos industriais no Condomínio Volta Grande IV, município de Volta Redonda, RJ. / Fabiana de Lima Coutinho. -- 2017.
168 f. : il. ; tab. ; mapas

Orientadora: Maria de Fátima Ramos Moreira.
Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2017.

1. Chumbo. 2. Metais. 3. Exposição Ambiental.
4. Biomarcadores. 5. Intoxicação por Chumbo.
6. Toxicocinética. 7. Resíduos Industriais. I. Título.

CDD – 22.ed. – 615.925688098153

Fabiana de Lima Coutinho

Avaliação de biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em indivíduos expostos a resíduos industriais no Condomínio Volta Grande IV, município de Volta Redonda, RJ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública e Meio Ambiente. Área de Concentração: Toxicologia Ambiental

Aprovada em: 27/03/2017

Banca Examinadora

Prof.^a Dra. Jamila Alessandra Perini Machado, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO)

Prof.^a Dra. Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Prof.^a Dra. Maria de Fátima Ramos Moreira, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) - Orientadora

Rio de Janeiro

2017

Dedico este trabalho a minha querida família, fonte de amor, educação, princípios, valores e virtudes. À minha querida mãe Nirma, meu querido pai José, minha querida, irmã Renata, minha querida irmã Rosana e meu querido sobrinho Guilherme: Muito obrigada por vocês serem o carinho que consola, o sorriso que acalma, a inspiração para continuar e as mãos para abençoar. Amo vocês, meus queridos!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela criação de tudo que há, pela revelação de seus mistérios, por ser a causa das causas não causada, pelos dons do Espírito Santo concedidos, por ser o meu repouso desde o início até o fim do mestrado. Amor maior, meu Senhor e meu Deus, eu te agradeço. Na dor e na alegria, eu te louvarei e digo: Obrigada, Senhor! No muito ou no pouco, sempre te honrarei!

A Nossa Senhora, tabernáculo da eterna glória, auxílio dos cristãos, por ser o coração acolhedor a consolar pelos caminhos que eu perfiz até aqui. Obrigada pela proteção!

A querida mãe Nirma, muito obrigada por ser a melhor mãe e muito obrigada por me amar desse jeito sem igual! Cuidou de mim, me deu a mão, me deu seu colo, compartilhou cada etapa da minha vida, desde a escola quando me esperava no portão, por toda vez que levantou cedo, dormiu tarde, me apoiou, esteve do meu lado. Agradeço por todo carinho, que fico sem palavras para descrever. Quando olho para trás, te vejo em todos os momentos passados. Quando olho o presente, te vejo aqui nessa conquista do término do mestrado. Quando olho para o futuro, eu estarei contigo quando a idade avançar, porque não te abandonarei, assim como nunca me abandonou em nenhum momento. Amo você mãe!

Ao querido pai José, muito obrigada por ser o melhor pai, por me amar e me acompanhar até chegar aqui. Agradeço por me ensinar o valor da humildade e da simplicidade. Se hoje me leva, amanhã serei eu a te levar. Amo você pai!

A querida irmã Renata, muito obrigada por estar em minha vida. É minha irmã que ficou aqui, aquela que tenho do meu lado. Cuidou de mim na infância, me acompanhou na escola, na faculdade, em tudo que fiz. Cheguei aqui e devo também muito a você. Amo você irmã!

A querida irmã Rosana: Minha querida irmã e Irmã da Ordem das Freiras Franciscanas Clarissas enclausuradas: Minha irmã, que também é freira: Agradeço pelas orações e pelas missas em minha intenção. Do Mosteiro de Santa Clara de Nova Iguaçu, sinta-se abraçada e te agradeço por tudo. Muito obrigada por ter trazido um pouco do céu para me ajudar nos momentos mais difíceis que enfrentei no mestrado, que não foram poucos. Amo você irmã!

À querida Orientadora Dra Maria de Fátima Ramos Moreira: Sou nimamente grata por tudo que recebi a partir da sua orientação. Todo conhecimento sobre o chumbo e em análises de elementos traços que a mim foram transmitidos significaram uma oportunidade singular de aprimoramento. Agradeço por me conduzir neste projeto e por toda experiência

que me proporcionou neste tempo do mestrado. Foi gratificante profissionalmente construirmos esta pesquisa genuína em toxicologia ambiental e, a partir disso, levar comigo um aprendizado para uma vida inteira, que, com certeza, eu não esquecerei. Meus cumprimentos e minha gratidão. Muito obrigada por tudo.

-À banca de qualificação e banca de mestrado.

- Ao Setor de metais do Cesteh. À Sayonara Azevedo, agradeço por todo o apoio, incentivo, pela palavra amiga, pelos momentos compartilhados no projeto, na ida a campo, pelas aulas ministradas, por todo tempo que se dedicou ao projeto, pela assistência na submissão, por toda ajuda ofertada. À Regina Aderne, por me acompanhar a cada passo na construção deste trabalho, por todos os ensinamentos valiosos de bancada que me passou, por toda assistência, por todas as vezes que abdicou de seu tempo para me ajudar a hoje chegar até aqui. À Fernanda Baptista, pelo tempo que se dedicou explicando as metodologias de análise, pelo planejamento, por todo apoio e assistência com o equipamento, por tudo que ajudou nesta pesquisa. À Thaisa, por todo auxílio, incentivo, apoio e ajuda em campo.

-Ao Leandro Vargas: Pelo trabalho executado na condução do laboratório, pelo planejamento, pela organização do espaço de trabalho, por priorizar sempre o coletivo, por todo incentivo, assistência e apoio a realização da pesquisa. Por todo tempo que se dedicou ao projeto e por todas as contribuições, ajuda ofertada e pelos ensinamentos. À Geisa e Mariana, por todo auxílio e incentivo.

- Ao Renato Borges, pela aula ministrada sobre EAA, pela ajuda com equipamentos no laboratório, por disponibilizar ajuda, pelo incentivo ao projeto e pelo tempo dedicado.

-À Jamila Perini, por fornecer todo apoio, cedendo o espaço do seu laboratório, equipamentos e materiais, para as análises do projeto, disponibilizando ajuda no que fosse preciso. À Mayara e a Jéssica Vilarinho, por toda ajuda prestada, pelo apoio e incentivo.

-Aos professores do mestrado e de curso de inverno, pelas aulas ministradas. À turma de mestrado 2015.1 e os que estudaram conosco, pela caminhada juntos, pela perseverança, pelo aprendizado e por todo incentivo.

- Aos meus amigos, de todos os lugares, da biologia e odontologia UFRJ, orientadores, professores e alunos, que me apoiaram, torceram e vibraram com cada conquista. Muito obrigada a todos!

- A todos que me ajudaram de alguma forma, muito obrigada!

*Não se imponha a verdade sem caridade, mas não se
sacrifique a verdade em nome da caridade*
SANTO AGOSTINHO, 413-424

RESUMO

O chumbo é um metal bioacumulativo e sofre biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, não possuindo nenhuma função fisiológica. Apresenta ocorrência natural, mas as atividades antropogênicas representam a principal forma de dispersão do metal no meio ambiente. A via de entrada do chumbo inorgânico no organismo humano é a respiratória e a gastrointestinal, sendo a via dérmica não significativa. É um metal que afeta principalmente o sistema hematopoiético e sistema nervoso, podendo comprometer sistema cardiovascular, renal, endócrino, imunológico, estomatognático. Este trabalho consistiu em um estudo observacional descritivo seccional, com o objetivo de analisar os biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em população exposta a resíduos industriais no Condomínio Volta Grande IV. A população avaliada foi de 27 indivíduos. A média aritmética obtida foi de $2,13 \pm 0,80 \mu\text{g dL}^{-1}$, para Pb-S; $2,80 \pm 2,61 \mu\text{g L}^{-1}$, para Pb-P; $4,35 \pm 4,41 \mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina, para Pb-U e $24,45 \pm 8,28 \text{ UL}^{-1}$, para a atividade da ALAD. Os níveis de Pb-S, Pb-P e Pb-U foram determinados por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (PinAAcle 900z) e a atividade da ALAD por espectrofotometria (Shimadzu 1601-A UV-Visível). As frequências genóticas do polimorfismo rs1800435 foram 92,52% para o genótipo ALAD 1-1, 7,40% para o genótipo ALAD 1-2 e 0,00% para o genótipo ALAD 2-2. Quanto às frequências alélicas, para o alelo selvagem C foi de 96,30% e o alelo polimórfico G foi de 0,0370%. A genotipagem do polimorfismo foi realizada em PCR tempo real (7500 Real-Time PCR System - Applied Biosystems). Em comparação a valores referenciais da literatura e da legislação internacional, os níveis de Pb-S e Pb-U estiveram de acordo com o observado em outros estudos de exposição ambiental, porém o chumbo em plasma mostrou-se elevado. Foram detectados onze indivíduos com inibições para a enzima ALAD e dois indivíduos com genótipos do tipo ALAD 1-2, contendo o alelo polimórfico. Em relação ao perfil da população, esta é composta pela maioria de mulheres (59,3%), etnia branca (88,9%), idade entre 40-50 anos (29,7%), tempo de moradia no condomínio de 16 a 20 anos (51,9%), apresentando como histórico de doenças sinusite (22,2%), anemia (14,8%), hipotireoidismo (14,8%), episódios de abortos espontâneos (7,4%), câncer de pele (3,7%), hepatite B (3,7%), malformação fetal (3,7%), morte neonatal precoce (3,7%), doença mista do tecido conjuntivo (3,7%) e geração de filhos com alterações no desenvolvimento, com um caso de autismo infantil (3,7%). Foram testadas as associações entre as variáveis Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD, por meio da Correlação de Pearson, porém não foram significativas. Outras associações foram testadas entre as variáveis idade, fumo do tabaco, tempo de moradia no Condomínio, tempo de moradia em Volta Redonda, contato com solo e níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U, atividade da ALAD, por meio da Correlação de Pearson e Spearman. Foi encontrada uma correlação positiva significativa entre idade e níveis de Pb-S ($r=0,5384$ e $p=0,0037$). Na aplicação do Qui-Quadrado e teste G, a população foi classificada em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Concluiu-se que os indivíduos avaliados no Condomínio Volta Grande IV apresentaram perfil de biomarcadores sugestivo de exposição ambiental ao chumbo. Não há nível seguro de exposição ao chumbo e a definição de valores de limiares de efeitos é considerada controversa por alguns autores.

Palavras-chave: Chumbo, metais, exposição ambiental, biomarcadores, intoxicação por chumbo.

ABSTRACT

Lead is a bioaccumulative metal and undergoes biomagnification along the food chain, having no physiological function. It presents a natural occurrence, but the anthropogenic activities represent the main form of dispersion of the metal in the environment. The route of entry of inorganic lead into the human body is respiratory and gastrointestinal, and the dermal route is not significant. It is a metal that mainly affects the hematopoietic system and nervous system, being able to compromise cardiovascular, renal, endocrine, immunological, stomatognathic system. This work consisted of a sectional descriptive observational study, with the objective of analyzing the biomarkers of exposure, effect and susceptibility to lead in a population exposed to industrial waste in the Condominium Volta Grande IV. The population evaluated was 27 individuals. The arithmetic mean obtained was $2,13 \pm 0,80 \mu\text{g dL}^{-1}$, for Pb-S; $2,80 \pm 2,61 \mu\text{g L}^{-1}$, for Pb-P; $4,35 \pm 4,41 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinine for Pb-U and $24,45 \pm 8,28 \text{ UL}^{-1}$, for ALAD activity. The levels of Pb-S, Pb-P and Pb-U were determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry (PinAAcle 900z) and ALAD activity by spectrophotometry (Shimadzu 1601-A UV-Visible). The genotype frequencies of the rs1800435 polymorphism were 92,52% for the ALAD 1-1 genotype, 7,40% for the ALAD 1-2 genotype and 0,00% for the ALAD 2-2 genotype. As for the allele frequencies, for the wild-type C allele was 96,30% and the polymorphic G allele was 0,0370%. Polymorphism genotyping was performed in real-time PCR (7500 Real-Time PCR System-Applied Biosystems). Compared to reference values in the literature and international legislation, levels of Pb-S and Pb-U were in agreement with that observed in other studies, but lead in plasma was high. Eleven individuals with inhibitions for the ALAD enzyme and two individuals with ALAD 1-2 genotypes containing the polymorphic allele were detected. The population profile is composed of the majority of women (59,3%), caucasian (88,9%), age between 40-50 years (29,7%), residence time in the condominium from 16 to 20 years old (51,9%), presenting with history of diseases sinusitis (22,2%), anemia (14,8%), hypothyroidism (14,8%), episodes of spontaneous abortions (7,4%), skin cancer (3,7%), hepatitis B, fetal malformation (3,7%), early neonatal death (3,7%), mixed connective tissue disease (3,7%) and generation of children with developmental disorders, with a case of childhood autism (3,7%). The associations between the variables Pb-S, Pb-P, PU and ALAD activity were tested by Pearson's Correlation, but were not significant. Other associations were tested among the variables age, tobacco smoke, time of residence in the Condominium, time of residence in Volta Redonda, contact with soil and levels of Pb-S, Pb-P, Pb-U, ALAD activity, through the Pearson and Spearman Correlation. A significant positive correlation was found between age and Pb-S levels ($r = 0,5384$ and $p = 0,0037$). In the application of Chi-Square and G test, the population was classified in Hardy-Weinberg equilibrium. It was concluded that the individuals evaluated in the Condominium Volta Grande IV presented a biomarkers profile suggestive of environmental exposure to lead. There is no safe level of exposure to lead and the definition of threshold value effects is considered controversial by some authors.

Keywords: Lead, metals, environmental exposure, biomarkers, lead poisoning.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Rota de distribuição e eliminação do chumbo no organismo.....	38
Figura 2 -	Conformação estrutural octamérica da enzima nativa 5- ácido aminolevulínico desidratase, por difração de raios-X	62
Figura 3 -	Estrutura dos domínios da enzima ALAD humana.....	63
Figura 4 -	Reação catalisada pela porfobilinogênio sintase (PBGS) ou ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALAD).....	63
Figura 5 -	Síntese do Heme	72
Figura 6 -	Localização do Condomínio Volta Grande IV, Volta Redonda, RJ.....	81
Figura 7 -	Mapa da sinopse por setores IBGE. Setor 1 (330630505000293) e Setor 2 (3306305505050000481), formando o Volta Grande IV, dentro do Bairro Santo Agostinho, Volta Redonda, RJ.....	81
Gráfico 1 -	Correlação entre Pb-S ($\mu\text{g L}^{-1}$) e log Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$)	130
Gráfico 2 -	Correlação entre Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$) e log Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)	131
Gráfico 3 -	Correlação entre Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$) e atividade da ALAD (UL^{-1})	132
Gráfico 4 -	Correlação entre log Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$) e log de Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina) ...	135
Gráfico 5 -	Correlação entre atividade da ALAD (UL^{-1}) e log de Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$)	136
Gráfico 6 -	Correlação entre atividade da ALAD (UL^{-1}) e log Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina).....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características físico-químicas do chumbo e seus compostos.....	31
Tabela 2 -	Usos e aplicações dos compostos de chumbo.....	32
Tabela 3 -	Usos e aplicações das ligas de chumbo	33
Tabela 4 -	Inibidores da ALAD humana	66
Tabela 5 -	Agentes químicos porfirinogênicos, efeitos produzidos na síntese do heme e tipos de porfirinas excretadas.....	73
Tabela 6 -	Frequência genotípica do polimorfismo rs1800435 da enzima ácido delta - aminolevulínico desidratase (ALAD), em população adulta exposta ocupacionalmente ao chumbo, de diferentes países.....	78
Tabela 7 -	Frequência genotípica do polimorfismo rs1800435 da enzima ácido delta - aminolevulínico desidratase (ALAD), em população adulta não exposta ocupacionalmente ao chumbo, de diferentes países	79
Tabela 8 -	Programa de temperatura para determinação do chumbo em sangue.....	83
Tabela 9 -	Programa de temperatura para determinação do chumbo em plasma	84
Tabela 10 -	Programa de temperatura para determinação do chumbo em urina.....	84
Tabela 11 -	Primers e sondas utilizados na determinação do polimorfismo SNP rs1800435	88
Tabela 12 -	Estatística descritiva da população do Condomínio Volta Grande IV	89
Tabela 13 -	Dados sociodemográficos da população do Condomínio Volta Grande IV....	90
Tabela 14 -	Dados antropométricos da população do Condomínio Volta Grande IV	91
Tabela 15 -	Fontes de exposição ao chumbo para a população do Condomínio Volta Grande IV	92
Tabela 16 -	Hábitos sociais da população do Condomínio Volta Grande IV	93
Tabela 17 -	Dados ocupacionais da população do Condomínio Volta Grande IV	95
Tabela 18 -	Doenças e sintomas relatados pela população do Condomínio Volta Grande IV	97
Tabela 19 -	Uso de medicamentos pela população do Condomínio Volta Grande IV.....	98
Tabela 20 -	Resultados encontrados para os biomarcadores de chumbo nos indivíduos residentes no Condomínio Volta Grande IV	99
Tabela 21 -	Estatística descritiva para os biomarcadores de chumbo	100

Tabela 22 -	Resultados do estudo de estabilidade da enzima ALAD a baixas temperaturas.....	113
Tabela 23 -	Porcentagem de aumento (A) ou diminuição (D) da atividade da enzima ALAD inativada, ativada e status da enzima, comparado ao controle.....	114
Tabela 24 -	Perfil dos indivíduos com inibição da atividade da ALAD	115
Tabela 25 -	Médias aritméticas e geométricas dos níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U, % Pb-P/Pb-S, nos indivíduos com genótipo ALAD 1-1 e ALAD 1-2	126
Tabela 26 -	Frequências genótípicas e alélicas para o polimorfismo rs1800435	126
Tabela 27-	Teste de Shapiro-Wilk para as amostras de dados de Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD.....	128
Tabela 28 -	Teste de Shapiro-Wilk, após a transformação logarítmica das amostras de dados de Pb-P e Pb-U	129
Tabela 29 -	Correlação de Pearson entre os diferentes biomarcadores.....	129
Tabela 30 -	Teste do Qui Quadrado com correção para pequeno tamanho amostral	138
Tabela 31-	Correlação entre os biomarcadores e as diferentes variáveis	139

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABLES	Adult Blood Lead Epidemiology & Surveillance
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ALA	Ácido delta- aminolevulínico
ALAD	Ácido delta- aminolevulínico desidratase
ALA-P	Concentração de ácido delta- aminolevulínico plasmático
ALAS	Ácido delta- aminolevulínico sintetase
ALA-U	Concentração de ácido delta- aminolevulínico urinário
AOEC	Association Occupational and Environmental Clinics
ASSQ	Autism Spectrum Screening Questionnaire
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BFU-E	Burst forming unit- erythroid
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e Xilenos
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CPO	Coproporfirinogênio ou coproporfirina
COPRO	Coproporfirinogênio Oxidase
COX-2	Ciclooxigenase 2
CREB	Cyclic AMP Response Element-Binding Protein
CSN	Companhia Siderúrgica Nacional
CSTE	Council of State and Territorial Epidemiologist
DAB	Dimetilamino benzaldeído
DCT1	Divalent Cation Transporter 1
DMT1	Divalent Metal Transporter 1
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
DTT	Ditiotreitól
EAA	Espectrometria de absorção atômica

E.C.	Enzyme Commission Numbers
E.D.T.A.	Ácido Etilenodiamino tetra-acético
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública
FQ	Ferroquelatase
FSH	Hormônio Folículo - Estimulante
GABA	Ácido gama- aminobutírico
GF AAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy
GPx	Glutathione peroxidase
GSK-3	Glicogênio Sintase Quinase 3
HDL	High - Density Lipoprotein
HEPTA	Heptaporfirinogênio
HEXA	Hexaporfirinogênio
HFE	High iron Fe (Gene ou proteína relacionado à hemocromatose humana)
HHS	U.S. Department of Health and Human Services
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
IAB	Instituto Aço Brasil
IARC	International Agency for Research on Cancer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
I.B.M.P.	Índice Biológico Máximo Permitido
I.C.	Intervalo de confiança
ICP-MS	Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente
I.M.C.	Índice de Massa Corporal
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
IUBM	International Union Biochemistry and Molecular Biology
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
LAPESF	Laboratório de Pesquisa de Ciências Farmacêuticas
LDL	Low Density Lipoprotein
LH	Hormônio luteinizante
MACN	Molécula de Adesão da Célula Neuronal
MCP1	Proteína quimiotática de monócito 1
MDA	Metalotioneína

MIP-1 α	Proteína inflamatória do macrófago 1-alfa
NF-KB	Fator nuclear Kappa B
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
N.R.	Norma Regulamentadora
NTP	National Toxicology Program
PBGD	Porfobilinogênio desaminase
PBGS	Porfobilinogênio sintetase
PCB	Bifenilas policloradas
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PENTA	Pentacoproporfirinogênio
PKC	Proteína quinase C
PNRS	Plano Nacional de Resíduos Sólidos
PPO	Protoporfirinogênio
PVC	Policloreto de Vinila
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ácido Ribonucleotídeo
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SAAEVR	Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Volta Redonda
SMS/VR	Secretaria Municipal de Saúde de Volta Redonda
SNC	Sistema Nervoso Central
SRS	Social Responsiveness Scale
T.C.L.E.	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade
TNF- α	Fator de necrose tumoral- alfa
UEZO	Centro Universitário Estadual da Zona Oeste
UNEP	United Nations Environment Programme
URO	Uroporfirinogênio
URO-D	Uroporfirinogênio descaboxilase
URO-S	Uroporfirinogênio sintetase
USEPA	United States Environmental Protection Agency
VDR	Receptor de vitamina D
WHO	World Health Organization
ZPP	Zincoprotoporfirina

LISTA DE SÍMBOLOS

Pb-S	Concentração de chumbo no sangue total
Pb-P	Concentração de chumbo no plasma
Pb-U	Concentração de chumbo na urina
Pb	Chumbo
Pb ⁺²	Chumbo divalente
Pb ⁺⁴	Chumbo tetravalente
mg Kg ⁻¹	Miligrama por quilograma
PbSO ₄	Anglesita
Pb ₃ (PO ₄) ₂	Fosfato de chumbo II
PbS	Galena
PbO	Letárgio
pH	Potencial hidrogeniônico
µgL ⁻¹	Micrograma por litro
PbCO ₃	Cerusita
Pb(OH) ₂	Hidróxido de chumbo II
PbCl ₂	Cloreto de chumbo II
E.F.	Estado Físico
P.M	Peso Molecular
g cm ⁻³	Grama por centímetro cúbico
P.F.	Ponto de Fusão
P.E.	Ponto de Ebulição
S	Solubilidade
µm	Micrômetro
(-SH)	Grupo sulfidril
O ₂ ⁻	Íon oxigênio
OH ⁻	Íon hidroxila
µg dL ⁻¹	Micrograma por decilitro
µg dia ⁻¹	Micrograma por dia
ppm	Partes por milhão
µM	Micromolar

g dL^{-1}	Gramas por decilitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
$\mu\text{mol L}^{-1}$	Micromol por litro
mLmin^{-1}	Mililitro por minuto
Zn^{+2}	Zinco divalente
pM	Picomolar
m^2	Metro ao quadrado
mg g^{-1}	Miligramas por grama
Cd	Cádmio
$\mu\text{mol L}^{-1}$	Micromol por litro
Pb-O	Concentração de chumbo no osso
Km^2	Quilômetro ao quadrado
Km	Quilômetro
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
nm	Nanômetro
% v/v	Porcentagem em volume
TCA/HgCl ₂	Ácido Tricloroacético/Cloreto de Mercúrio II
HClO ₄	Ácido perclórico
s	Segundo
Lmin^{-1}	Litro por minuto
μL	Microlitro
HNO ₃	Ácido nítrico
m	Metro
Kg	Quilograma
Kg m^{-2}	Quilograma por metro ao quadrado
$\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina	Micrograma por grama de creatinina
U/L	1 micromol de ALA consumido por minuto, por litro de eritrócito a 37°C, pH 6.4
ng mL^{-1}	Nanograma por mililitro
pmol L^{-1}	Picomol por litro
$\mu\text{g g}^{-1}$ Hb	Micrograma por grama de hemoglobina
fl	Fentolitro
mUI L^{-1}	Miliunidade Internacional por L

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	OBJETIVOS	26
3	JUSTIFICATIVA	27
4	CARACTERIZAÇÃO DO CHUMBO	28
4.1	PROPRIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS	28
4.2	OCORRÊNCIAS NA NATUREZA	28
4.3	USO E APLICAÇÕES.....	30
5.	TOXICOLOGIA DO CHUMBO	34
5.1	TOXICOCINÉTICA	34
5.1.1	Absorção	34
5.1.2	Distribuição	36
5.1.3	Metabolismo e excreção	37
5.2	TOXICODINÂMICA	39
6	EFEITOS SISTÊMICOS PRODUZIDOS PELO CHUMBO	42
6.1	SISTEMA NERVOSO.....	42
6.2	SISTEMA HEMATOPOIÉTICO	46
6.3	SISTEMA CARDIOVASCULAR	48
6.4	SISTEMA RENAL	50
6.5	REPRODUÇÃO, CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO.....	52
6.6	SISTEMA ENDÓCRINO	55
6.7	SISTEMA IMUNOLÓGICO	57
6.8	SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO	59
6.9	CARCINOGENICIDADE DO CHUMBO	61
7	PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS DA ÁCIDO DELTA AMINOLEVULÍNICO DESIDRATASE	62
8	BIOMARCADORES	67
8.1	BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO	67
8.2	BIOMARCADORES DE EFEITO	69
8.3	BIOMARCADORES DE SUSCETIBILIDADE.....	74
9	METODOLOGIA	80

9.1	DESENHO DE ESTUDO	80
9.2	LOCAL DA PESQUISA	80
9.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO	82
9.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	82
9.5	COLETA DE DADOS	82
9.6	EXPERIMENTAL	83
9.6.1	Instrumental	83
9.6.2	Descontaminação do material	84
9.6.3	Reagentes e Soluções	84
9.6.4	Coleta de amostras e armazenamento	85
9.6.5	Preparo das amostras	86
9.6.5.1	Determinação da concentração de chumbo.....	86
9.6.5.2	Determinação da atividade da ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD).....	86
9.6.5.3	Extração de DNA	87
9.6.5.4	Genotipagem	87
9.7.	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	88
9.8	QUESTÕES ÉTICAS	89
10	RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
10.1	PERFIL DA POPULAÇÃO DE ESTUDO	89
10.2	BIOMARCADORES DE CHUMBO	99
10.2.1	Pb-S	101
10.2.2	Pb-P	106
10.2.3	Pb- U	109
10.2.4	Atividade da ALAD	110
10.2.5	Frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo SNP rs1800435	124
10.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	128
10.3.1	Teste de Normalidade	128
10.3.2	Correlação de Pearson	129
10.3.3	Teste do Qui Quadrado	138
10.3.4	Teste G	139
10.3.5	Teste de Correlação entre as diferentes variáveis	139
10.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	142

11	CONCLUSÃO	147
	REFERÊNCIAS.....	148
	ANEXO - PARECER CONSUBSTANCIADO (APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA CEP ENSP/FIOCRUZ)	166

1 INTRODUÇÃO

Considerado um metal não essencial ao organismo, o chumbo, além de ocasionar efeitos adversos, como os neurológicos e hematológicos, por meio da exposição, mesmo a baixas concentrações, apresenta como característica a bioacumulação e biomagnificação. Sua inserção no meio ambiente pode ocorrer por meio de fontes pontuais ou difusas, de origem natural, como o vulcanismo e o intemperismo, ou de origem antropogênica, como a atividade industrial, por exemplo, a siderurgia, que emite o chumbo durante o processo de produção (RUELAS-INZUNZA *et al.*, 2014; WHO, 2010; UNEP, 2008; ATSDR, 2007).

Escórias e outros resíduos de siderurgia, contendo substâncias que oferecem risco à saúde pública e meio ambiente, compreendem resíduos denominados de perigosos Classe 1, que englobam resíduos em estado sólido, semissólido e também líquido, resultantes de atividades como a industrial, que possui a periculosidade como característica principal e exibe pelo menos uma das seguintes propriedades: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade, patogenicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade (BRASIL, 2010; ABNT, 2004).

Atividades siderúrgicas, que envolvem a fabricação do aço e fundição de ferro, podem gerar resíduos sólidos perigosos Classe 1, de fonte específica, como o chumbo, por exemplo. Entre os possíveis resíduos resultantes de processo industrial de siderurgia, que contenham este elemento, podem-se destacar resíduos tóxicos como o lodo e poeira, advindos dos controladores de gases, presentes em fornos utilizados na produção de aço, ferro e ferroligas, assim como resíduos corrosivos, provenientes do banho de decapagem exaurido (ABNT, 2004).

Anterior à promulgação da lei 12305/2010, que instituiu a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), o uso do solo de forma inadequada, para a deposição de resíduos consistia prática frequente (BRASIL, 2012). Com a aprovação dessa política, a deposição direta de resíduos em solo, na forma *in natura* e a céu aberto, foi vedada, exceto para resíduos de mineração. Da mesma forma, foi proibida a destinação final de resíduos sólidos em qualquer corpo hídrico, não sendo mais permitida a existência de lixões (BRASIL, 2010).

Embora a implantação da PNRS estabeleça maior rigor para o gerenciamento dos resíduos, de modo que a deposição em aterros ou Central de Tratamento de Resíduos (CTR) seja realizada em células com eficientes sistemas de impermeabilização e drenagem, o uso inadequado do solo para descarte de produtos resultantes de atividade industrial vigorou por

muitos anos e continua a ocorrer, principalmente devido à ausência de um plano de gerenciamento de resíduos sólidos em 3301 dos 5570 municípios brasileiros (IBGE, 2013; BRASIL, 2012; GOUVEIA, 2012; BRASIL, 2010).

Em geral, do total de resíduos gerados pela siderurgia, a destinação de escórias de alto forno é para venda (99%) e reutilização interna (1%), com uso na produção de cimento (97%) e na construção civil (3%). No caso das escórias de aciaria, 52% são vendidas, 26% reutilizadas, 13% doadas, e 9%, armazenadas para produção de cimento, base de estradas, nivelamento terrestre, uso agrônômico, construção civil, lastro rodoviário ou ainda reaplicadas na fabricação de aço (IAB, 2014).

Desta forma, os resultados da contaminação do solo, água e ar, produzida em áreas de lixões ou aterros inadequados, começam a apresentar impactos negativos sobre os ecossistemas e populações locais, a exemplo do ocorrido no município de Volta Redonda, Rio de Janeiro. De 1986 a 1999, a Companhia Siderúrgica Nacional utilizou terreno no bairro de Volta Grande IV, em Volta Redonda, para deposição de resíduos industriais em células, distribuindo os materiais resultantes da atividade siderúrgica nestes locais e, conseqüentemente, contaminando o ambiente (MOREIRA, 2015; BRASIL, 2012).

O Condomínio Volta Grande foi construído em terreno doado pela indústria ao Sindicato de Metalúrgicos, situado em área adjacente ao local onde foram depositados os resíduos (BRASIL, 2012). Em análises efetuadas por empresas contratadas pela indústria siderúrgica, foram detectadas diversas substâncias tóxicas, dentre estas, o chumbo em concentrações superiores aos níveis permitidos para água e solo, estabelecidos pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) (BRASIL, 2012).

O biomonitoramento humano é a medida de substâncias químicas ou de seus produtos metabólitos em tecidos, secreções, excreções, ar exalado ou em qualquer combinação destas matrizes, com o objetivo de avaliar o risco à saúde e comparar com referências apropriadas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica o biomonitoramento humano para avaliar a exposição em dois tipos: o realizado em estudos transversais, com dosagem pontual, em um único momento no tempo, ou em estudos longitudinais, que seguem uma coorte, realizando dosagens contínuas (WHO, 2015; SILINS & HÖGBERG, 2011; SANDERS *et al.*, 2009; AMORIM, 2003).

Para a interpretação de dados do biomonitoramento humano, pode ser considerada a utilização de modelos de farmacocinética, baseados na fisiologia, que consideram os fatores de variabilidade individual, como os polimorfismos genéticos, interferindo no processo de

absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). Desta forma, os modelos iniciais de biomonitoramento humano, que consideravam características individuais como variáveis de confundimento ou fatores de incerteza, em modelos atuais, estes elementos passam a ser mensuráveis e inter-relacionados aos dados brutos do biomonitoramento, podendo também ser utilizados conceitos de ômica (WHO, 2015; PÉREZ-GOMES *et al.*, 2013; WHO, 1993).

Para a realização do biomonitoramento humano, são utilizados os indicadores biológicos ou biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade. Biomarcadores de exposição são diferenciados em dose interna e de dose biologicamente efetiva, representando a quantidade da substância presente no organismo que foi absorvida e quantidade real que atingiram tecidos e alvos moleculares, respectivamente. Já os biomarcadores de efeito consistem em uma alteração fisiológica, bioquímica ou genética que indicam um efeito precoce ou um efeito clínico associado à exposição ao toxicante, enquanto que os biomarcadores de suscetibilidade indicam a capacidade inerente ou adquirida de um indivíduo para responder a exposição a um elemento tóxico (MUSSALI-GALANTE *et al.*, 2012; SCHULTE & HAUSER, 2012; SILINS & HÖGBERG, 2011; NORDBERG, 2009).

O biomonitoramento humano não consiste apenas quantificar um agente químico através de biomarcadores, mas também de relacionar os dados mensurados pelos indicadores biológicos com parâmetros que indiquem os limites de exposição, de modo a utilizar os resultados em complementação com o monitoramento ambiental. Desta forma, o biomonitoramento fornece elementos que auxiliam nas ações de controle ambiental da fonte de exposição e ainda constitui um instrumento de informações complementares aos profissionais de saúde que permitem uma avaliação clínica mais completa (AMORIM, 2003).

A avaliação da exposição compreende determinar ou estimar o número de indivíduos e perfil dos expostos; as fontes de emissão; as concentrações ambientais do poluente; a exposição humana (rota de exposição, magnitude, duração, frequência); a quantidade da dose interna e da dose efetiva, através da mensuração por biomarcadores de exposição. Já avaliação de efeito pode ser efetuada, verificando a inter-relação entre as concentrações ambientais do poluente, da exposição humana, da dose interna e efetiva com efeitos à saúde (mortalidade e morbidade) (FREITAS, 2002; SEXTON, 1992; USEPA, 1992).

Os biomarcadores podem ser utilizados na avaliação de risco à saúde humana, no diagnóstico clínico ou no monitoramento biológico. Corresponde ao método considerado padrão ouro para avaliar a exposição a poluentes, podendo ser utilizado em estudos epidemiológicos, a fim de avaliar a associação da carga corpórea do poluente e as implicações

para o estado de saúde. A avaliação da exposição corresponde uma das quatro fases que compõem uma avaliação de risco para a saúde humana, que são a identificação do perigo, avaliação da dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco (WHO, 2015; PÉREZ-GOMES *et al.*, 2013; AMORIM, 2003; FREITAS *et al.*, 2002; COVELLO & MERKHOFFER, 1993).

A realização do biomonitoramento humano com o uso do biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo, em populações expostas a resíduos industriais perigosos, representa um importante mecanismo para a prevenção e controle dos efeitos adversos produzidos por este elemento químico. É necessário efetuar o biomonitoramento, utilizando os biomarcadores para chumbo na população do conjunto habitacional de Volta Grande IV, de modo a verificar o nível de contaminação da população pelo metal e a existência de possíveis efeitos.

A importância do tema abordado nesta pesquisa é a contribuição deste tipo de estudo na caracterização de perfis de biomarcadores para exposição ambiental ao chumbo, como resultado de um biomonitoramento humano do tipo transversal, para avaliação da exposição.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo, em população residente no Condomínio Volta Grande IV, Volta Redonda, RJ, exposta aos metais provenientes de escórias de siderurgia, durante estudo piloto realizado naquela localidade.

Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações de chumbo em sangue total (Pb-S), plasma (Pb-P) e urina (Pb-U);
- Determinar a atividade da enzima ALAD;
- Determinar as frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo rs1800435 no gene que codifica a enzima ALAD;
- Comparar os resultados obtidos nos biomarcadores avaliados com valores de referência encontrados na literatura, norma regulamentadora e legislação internacional;
- Verificar a correlação entre os biomarcadores;
- Verificar a correlação entre o tempo de fumo do tabaco pelos moradores, tempo de moradia no Condomínio Volta Grande IV, tempo de moradia em Volta Redonda, tempo de contato com solo do Condomínio Volta Grande IV, com os níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD.

3 JUSTIFICATIVA

O chumbo inorgânico é classificado no grupo 2A da Internacional Agency for Research on Câncer (IARC) e no Grupo 2 da German Research Foundation (MK Comission), sendo considerado um provável carcinogênico (WILHELM *et al.*, 2010).

No Programa Internacional de Segurança Química, está incluído entre os dez elementos ou grupos químicos que representam um grande problema para a saúde pública, devido aos riscos que oferecem à saúde e meio ambiente, englobando o arsênio, amianto, benzeno, cádmio, dioxinas e similares, fluoretos, mercúrio e pesticidas (WHO, 2010).

Em 2013, segundo o Institute for Health Metrics and Evaluation, o chumbo apresentou relação com 853 mil mortes. A exposição ao chumbo representou 9,3% da carga global de deficiências intelectuais idiopáticas, 4% da carga global de cardiopatia isquêmica e 6,6% da carga global de acidente vascular encefálico, além de contribuir para o surgimento a cada ano de 600 mil novos casos de crianças com deficiências intelectuais (WHO, 2016).

O chumbo pode ocasionar efeitos graves à saúde. Atravessa a barreira hematoencefálica, acomete sistema nervoso central e periférico, levando a encefalopatia, induzindo a morte neuronal por apoptose, reduzindo a velocidade de condução de fibras nervosas. Também atravessa a barreira placentária, contribuindo para a má-formação fetal, o baixo peso ao nascer, as alterações no desenvolvimento e ocorrência de abortos espontâneos (ARNOLD e MORGAN, 2015; TANRIKUT *et al.*, 2015; KUMAWAT *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2014; RANA, 2014; WHO, 2010; MANSOURI e CAULI, 2009).

Os resultados dos laudos ambientais, em solo e água subterrânea, na área do Condomínio Volta Grande IV e das células de resíduos, revelaram presença de chumbo em valores acima dos referenciais de intervenção do CETESB. Em 2000, chumbo, naftaleno, cádmio, BTEX foram detectados em água de poço de monitoramento das células; em 2009, foram identificados chumbo, arsênio, bário, cobalto, cromo, ferro, manganês, níquel, nitrato, selênio, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, indeno (1, 2, 3 -c, d) pireno, em 35 amostras de água subterrânea; em 2012, chumbo, cromo, BTEX, HPAs estavam presentes em material de coloração escura de subsolo das casas da parte leste do condomínio (BRASIL,2012).

Constata-se que há poucos estudos populacionais que avaliam exposição ambiental, justificando a relevância deste trabalho na obtenção de valores de referência regionais para os biomarcadores do chumbo, fornecendo subsídios para planejamento de políticas públicas de controle ambiental de contaminação por chumbo, praticamente inexistentes no Brasil.

4 CARACTERIZAÇÃO DO CHUMBO

4.1 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Classificado pela Internacional Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) no grupo 14 da tabela periódica, número atômico 82, o chumbo (Pb) é um metal maleável, cor branco-azulada, prateada ou cinza e estrutura cristalina cúbica. Pode ser facilmente fundido e sua viscosidade diminui com o aumento da temperatura. Apresenta ainda elevada resistência à corrosão e baixa condutividade elétrica, sendo insolúvel em água e solúvel em ácido nítrico (O'NEIL *in* TOXNET, 2006).

O chumbo pode formar compostos inorgânicos ou orgânicos, sendo encontrado na forma divalente (+2), a mais frequente em compostos inorgânicos, ou tetravalente (+4). Estabelece ligações químicas semelhantes a metais divalentes do grupo 2 como o cálcio, magnésio, estrôncio, bário e berílio (NTP, 2014; ATSDR, 2007).

As principais propriedades físico-químicas do chumbo e seus compostos estão dispostos na tabela 1.

4.2 OCORRÊNCIAS NA NATUREZA

É um metal em relativa abundância na crosta terrestre. As fontes naturais de emissão do chumbo são intemperismo, atividades vulcânicas, partículas do solo em suspensão, pulverização da água do mar e queima de matéria orgânica (UNEP, 2008). Rochas ígneas e metamórficas correspondem às principais fontes geológicas do metal, sendo a galena (PbS), seu principal mineral. Na natureza, o chumbo pode ser encontrado associado a outros metais como o zinco, cádmio, estanho, ouro, prata, bismuto, antimônio, gálio, tálio, índio, germânio e telúrio (UNEP, 2008; ATSDR, 2007). Apesar da contribuição das emissões naturais de chumbo para a atmosfera, são as atividades antropogênicas que mais contribuem para as concentrações deste metal no ar (ATSDR, 2007).

Em geral, a maior parte do chumbo lançado na atmosfera é depositada próxima à fonte, porém 20% são dispersos, podendo atingir longas distâncias, no caso das partículas com tamanho reduzido. O ar representa o principal meio de distribuição do chumbo no ambiente, que raramente se encontra no estado elementar. Seu tempo de permanência na atmosfera dura de dias a semanas, sendo removido do ar pela chuva e partículas, que se

depositam no solo ou água. Essa deposição de partículas atmosféricas contendo chumbo representa a principal fonte do metal no solo (ATSDR, 2007).

O chumbo raramente ocorre no estado elementar. Geralmente quando liberado no solo, converte-se em formas insolúveis como sulfato (PbSO_4), fosfato ($\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$), sulfeto (PbS) e óxido (PbO). Pode também ser encontrado na forma solúvel, adsorvido na argila, coprecipitados, matéria orgânica coloidal ou associado a sesquióxidos (ATSDR, 2007; IARC, 2006).

A presença de ácidos húmicos e fúlvicos, o valor de pH e a quantidade de compostos orgânicos presentes no solo influenciam a mobilização do metal. Geralmente, em solos ácidos, o chumbo se encontra em menor concentração e os ácidos húmicos e fúlvicos do solo podem funcionar como quelantes para esse elemento. Logo, ao atingir pH de 4 a 6, o chumbo do solo forma complexos orgânicos mais solúveis e disponíveis para serem absorvidos pelas plantas. Por outro lado, na faixa de pH de 6 a 8, o chumbo forma complexos insolúveis (UNEP, 2008; ATSDR, 2007).

Ainda que o chumbo esteja presente naturalmente em plantas, resultante da captação do meio ambiente, este metal não é essencial ao seu metabolismo. Em geral, o chumbo presente no solo não está biodisponível para ser absorvido pelas plantas, por se encontrar na forma insolúvel em grande parte. Entretanto, como é altamente adsorvido por matéria orgânica, pode estabelecer ligações eletrostáticas com argila, siltes, óxido de ferro e óxido de manganês (UNEP, 2008).

Desta forma, a quantidade de chumbo que se encontra biodisponível para a absorção da planta é dependente da capacidade de trocas catiônicas, da quantidade de matéria orgânica, da umidade do solo e do pH. Assim, solos com maior acidez e menor quantidade de chumbo adsorvido à matéria orgânica são mais favoráveis para absorção do metal pelas raízes, absorção direta pelas folhas e a translocação dentro do vegetal (UNEP, 2008; ATSDR, 2007; IARC, 2006).

Pela erosão de solo, partículas de chumbo presentes em sedimentos podem atingir as águas superficiais. A solubilidade de seus compostos em água depende do pH, dureza, salinidade e ácidos húmicos. Em geral, são pouco solúveis, possuindo uma solubilidade maior em água doce, ácida e fria. Por ter alta adsorção em solo, o chumbo tende a se manter estável em camadas superiores deste compartimento e não sofrer lixiviação para águas superficiais, subsolo e águas subterrâneas (UNEP, 2008; ATSDR, 2007). Com isso, em geral, as

concentrações de chumbo em águas superficiais e subterrâneas são baixas, menores que $10 \mu\text{g L}^{-1}$, visto que este valor depende das condições de pH e constituição do solo (UNEP, 2008).

Nos corpos hídricos, o chumbo pode estar na forma iônica, móvel e biodisponível, formar compostos orgânicos associados a elementos dissolvidos na água, ligar-se a partículas coloidais como óxido de ferro, tendo menor mobilidade; estabelecer associações a partículas de argila ou a restos de animais mortos, tendo a mobilidade limitada e dependendo da biodisponibilidade (UNEP, 2008).

Os compostos de chumbo encontrados variam com o tipo de água, doce ou do mar. Na água doce, predomina a forma divalente Pb^{+2} , quando a água se apresenta mais ácida, enquanto as formas PbCO_3 e Pb(OH)_2 prevalecem em águas mais alcalinas. Já na água do mar, as espécies de chumbo dependem da concentração de cloreto, de modo que aquelas de maior ocorrência, por ordem crescente, são $\text{PbCl}_3^- > \text{PbCO}_3 > \text{PbCl}_2 > \text{PbCl}^+ > \text{Pb(OH)}^+$. Na água, as partículas contendo chumbo podem permanecer de 2 a 5 anos (UNEP, 2008; ATSDR, 2007).

4.3 USOS E APLICAÇÕES

Por apresentar alta resistência à corrosão, maleabilidade, baixo ponto de fusão, alta densidade e baixa condutividade térmica, o chumbo tem ampla utilização (FLORA *et al.*, 2012; IARC, 2006). Seus principais usos estão nas baterias, munições, fios e cabos elétricos, ligas metálicas, tubulação, soldas, produtos de proteção contra os raios-X, pigmentos, tintas, borracha, praguicidas, produtos cerâmicos, vitrificantes, entre outros (KREUSH, 2005; PAOLIELLO & CHASIN, 2001). Importantes aplicações do metal e de seus compostos são encontradas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 1 - Características físico-químicas do chumbo e seus compostos

	E.F.	Cor	P.M	D a 20°C (g cm ⁻³)	P. F (°C)	P.E (°C)	S
Chumbo	Sólido	Cinza-azulado	207,20	11,34	327,4	1740	I Água e solvente orgânico S: HNO ₃ H ₂ SO ₄ concentrado
Acetato de Chumbo	Sólido (Pó)	Branco	325,28	3,25	280	Decomposição	S: Glicerol, moderadamente em álcool
Cloreto de Chumbo	Sólido	Branco	278,11	5,85	501	950	S: S/D I: Álcool
Nitrato de Chumbo	Sólido	Incolor ou Branco	331,21	4,53	S/D	Decomposição a 470°C	S: Água e Álcool I: Ácido Nítrico
Azida de Chumbo	Sólido	Branco	291,25	S/D	S/D	Explode a 350°C	S: Água e Ácido Acético
Carbonato de Chumbo (Cerusita)	Sólido	Cristais rômnicos Incolor	267,2	6,6	315	S/D	S: Água e Ácido Nítrico I: Amônia e Álcool
Chumbo tetraetila	Líquido Oleoso	Incolor	323,45	1,653	S/D	220°C a 227°C com decomposição	S: Água, benzeno, etanol, dietil éter, gasolina, petróleo
Fluorborato de Chumbo	Sólido (Pó Cristalino)	Incolor	380,81	1,75	S/D	S/D	Decompõe-se em álcool
Fosfato de Chumbo	Sólido	Branco	811,54	6,9	1014	S/D	S: Água, HNO ₃ , hidróxidos I: Álcool
Iodeto de Chumbo	Sólido (Cristais hexagonais)	Brilhante Amarelo-ouro	461,01	6,16	402	Decomposição a 872°C	S: Água I: Álcool
Sulfato de Chumbo (Anglesita)	Sólido	Branco	303,26	6,2	1170	S/D	S: Água, HNO ₃ , H ₂ SO ₄ concentrado
Óxido de Chumbo (Litárgio)	Sólido	Avermelhado Amarelo a t > 489°C	223,20	9,3	888	Decomposição a 1472°C	S: Cloretos, bases I: Álcool
Sulfeto de Chumbo (Galena)	Sólido (Cristais metálicos)	Preto, Azul ou Prata	239,27	7,57-7,59	1114	Sublima a 1281°C	S: Água, HNO ₃ , H ₂ SO ₄ concentrado I: Álcool
Cromato de Chumbo	Sólido	Amarelo-Laranja	323,19	6,12 a 15°C	844	Decompõe-se	S: Água, HNO ₃ , diluído. I: Ácido Acético

E.F. (Estado Físico); P.M (Peso Molecular); D (Densidade); P.F (Ponto de Fusão); P.E (Ponto de Ebulição); S (Solubilidade); I (Insolubilidade); S/D (Sem Dados); t (temperatura).

Fonte: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007, pp. 278-287.

Tabela 2 - Usos e aplicações dos compostos de chumbo

Compostos de Chumbo	Usos e aplicações
Acetato de chumbo	Impermeabilizante, vernizes, pigmentos cromados, pigmentos para cianetação do ouro, tinta anticrustante, reagentes analíticos, inseticidas, tintas para tingimento de têxteis, proteção contra fungo, mordente para fibra de algodão, tintura de cabelo
Brometo de chumbo	Carga inorgânica em plástico, catalisador de fotopolimerização, fluxo de solda
Acetato de chumbo triidratado	Vernizes, pigmentos cromados, reagentes analíticos
Cloreto de chumbo	Embreagem de amianto, forro de freio, catalisador, retardador de chama
Nitrato de chumbo	Fósforo, explosivos, estabilizador de calor em nylon, revestimento de papel para fototermografia, oxidante para corantes
Subacetato de chumbo	Soluções clarificantes de substâncias orgânicas e reagentes para análise de açúcares
Azida de chumbo, Estifinato de chumbo	Munição, explosivos
Carbonato de chumbo	Catalisadores e revestimento de impressoras termográficas
Fluoreto de chumbo	Catalisadores, produtos eletrônicos e ópticos
Fluorborato de chumbo	Catalisadores e agente de cura em resina epóxi
Chumbo tetraetila	Gasolina de aviação
Fosfato de chumbo, Estereato de chumbo	Estabilizadores em produtos plásticos
Iodato de chumbo	Filme Fotográfico e materiais termoeletrônicos
Sulfato de chumbo	Acumuladores de bateria, bateria, filme fotográfico, tinta, cerâmica, compostos vinílicos
Óxido de chumbo	Acumuladores de baterias, cimentos, fluxo de cerâmica, cerâmicas, vidro, esmalte, refino de petróleo, acelerador de vulcanização
Sulfeto de chumbo	Agente de vulcanização em borracha, sensor de umidade, cerâmica, detector de radiação infravermelha, semicondutores, esmaltes
Cromato de chumbo	Borracha, materiais plásticos, pigmentos
Tetraóxido de chumbo	Tinta de revestimento, esmaltes, vernizes
Tiocianato de chumbo	Fósforos de Segurança

Fonte: National Toxicology Program, 2014, p.2; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007, p.298; United States Environmental Protection Agency, 1998, pp. 34 -36.

Tabela 3 - Usos e aplicações das ligas de chumbo

Ligas de Chumbo	Usos e aplicações
Chumbo e Estanho	Grade de Bateria, placa positiva e negativa de baterias ácidas de chumbo, solda, placa de circuito impresso, radiador de automóvel, permutador de calor, chassi de televisão, tanque de combustível, filtro de óleo, juntas, revestimento para chapa de cobre utilizado em rufo de construção, revestimento de componente eletrônico de cobre e aço, galvanoplastia, folha de flandres
Chumbo e Antimônio	Baterias, grade positiva de bateria de chumbo ácida, revestimento de cabos elétricos, munição, forro de tanque, válvula, bomba, tubo, bobina de aquecimento e de arrefecimento, anodos em metal, braçadeira de cabo de bateria, contra peso para balanceamento de roda de automóveis e caminhões
Chumbo-Antimônio-Estanho	Bucha para rolamento, rolamento de luva, mancais de rolamento de vagão de carga, troféu, guindaste móvel, fivela de cinto
Chumbo e Cálcio	Bateria automotiva, grade negativa de bateria, submarino, revestimento de cabo, quilha de barco
Chumbo-Cálcio-Alumínio	Grade negativa para bateria
Chumbo e Cobre	Folha de chumbo e canos de chumbo, arame, forro de tanque, tubos para precipitadores ácidos, chapeamento de tubo de aquecimento de vapor
Chumbo e Prata	Solda, anodo para zinco e manganês, grade positiva de bateria de chumbo ácida
Chumbo-Prata-Antimônio	Componente de folha de cobre para eletrônica
Chumbo-Prata-Cálcio	Eletroextração de zinco
Fusível (Chumbo-Cádmio-Bismuto-Estanho)	Fusível, mandril, tubo flexível, solda de baixa temperatura
Chumbo-Estrôncio-Estanho	Grade de bateria livre de manutenção e rolamentos
Chumbo-Telúrio	Blindagem para reator nuclear, revestimento de cabo, tubo
Chumbo-Lítio	Grade para bateria
Chumbo-Lítio-Estanho	Rolamentos
Chumbo-Irídio	Solda para vidros

Fonte: United States Environmental Protection Agency, 1998, pp. 34-36

5 TOXICOLOGIA DO CHUMBO

5.1 TOXICOCINÉTICA

5.1.1 Absorção

As principais rotas de entrada do chumbo inorgânico no organismo são a respiratória e digestiva. Já para o chumbo orgânico, a via principal é a dérmica. Com esse elemento, não ocorre o processo de metabolização, havendo assim sua associação com macromoléculas. Dessa forma, é absorvido, distribuído e excretado de forma direta (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Em relação à via respiratória, partículas de chumbo com tamanho superior ou igual a 5 µm atingem a região do trato respiratório superior da nasofaringe. Pelo transporte mucociliar, essas partículas são deslocadas até o esôfago, onde são deglutidas e seguem pela via gastrointestinal, podendo passar aos capilares por difusão e chegar ao sangue para serem distribuídas. Aquelas partículas com tamanhos de 2 a 5 µm, que alcançam a região traqueobronqueal, podem também chegar aos capilares por difusão e, do sangue, serem distribuídas (OGA, 2008; ATSDR, 2007).

As partículas de chumbo de tamanho menor ou igual a 1µm se depositam nos alvéolos pulmonares. A meia vida de retenção do chumbo nos pulmões é de 15 horas. Nos alvéolos, pode ocorrer a fagocitose das partículas depositadas, remoção pela linfa e entrada no capilar, partindo do sangue para a distribuição (UNEP, 2008; ATSDR, 2007; IARC, 2006).

Quanto à via gastrointestinal, a entrada de chumbo no organismo pode ocorrer pela ingestão de água, frutos do mar, vegetais, cereais, legumes, enlatados, sucos, leite e derivados, carne e derivados, bebidas alcoólicas, especiarias, além da ingestão eventual de solo e também de poeira, principalmente por crianças. A absorção do chumbo, que ocorre predominantemente no duodeno, pode acontecer pelo transporte ativo ou passivo, transcelular ou paracelular, do chumbo na forma iônica Pb^{+2} , orgânica e inorgânica (ATSDR, 2007).

A absorção dependerá da idade, estado de jejum, dieta do indivíduo, características das partículas ingeridas como tamanho, solubilidade e espécie do chumbo. Estima-se que crianças de 2 semanas a 8 anos de idade podem absorver de 40 a 50% do chumbo ingerido, que está solúvel em água. Por outro lado, os adultos, quando ingerem compostos de chumbo solúveis

em água na forma de acetato, cloreto e nitrato de chumbo, podem absorver de 3 a 10% do chumbo do que foi ingerido. Grávidas apresentam uma maior capacidade de absorção de chumbo (ATSDR, 2007).

Quando o indivíduo encontra-se em jejum, possui maior capacidade de absorver o chumbo dissolvido em água, tendo menor absorção deste metal quando há presença de alimento no trato gastrointestinal. Cálcio e fósforo presentes nas refeições podem inibir a absorção de chumbo ingerido (ATSDR, 2007). Crianças com deficiência de cálcio apresentam maior capacidade de absorver chumbo em relação àquelas com ingestão regular do mineral. O ferro também influencia na absorção de chumbo. Dietas enriquecidas com ferro estão associadas, em estudos realizados, com baixas concentrações de chumbo no sangue de crianças, ao passo que dietas deficientes em ferro contribuem para que ocorra maior absorção do metal (IARC, 2006).

Estudos demonstraram associação positiva entre crianças com dietas ricas em gorduras saturadas e maiores níveis de chumbo no sangue, porém nenhuma relação significativa foi encontrada entre dieta rica em gorduras ou proteínas e concentrações corporais de chumbo em idosos. Embora em estudos com ratos, a ingestão de ácido ascórbico tenha resultado em maior eliminação do chumbo pela urina, a mesma relação não foi observada em humanos (IARC, 2006).

Em estudo realizado no Brasil com a população do Estado de São Paulo, foram avaliados 669 adultos maiores de 20 anos, 264 adolescentes entre 12 e 19 anos, e crianças menores de 11 anos, de ambos os sexos. Foi verificada associação positiva entre altas concentrações de chumbo no sangue e a ingestão de miúdos de animais em geral. O acúmulo de metais é maior em rins e fígados dos animais, em relação a outras partes comestíveis como o músculo (KIRA *et al.*, 2016).

O tamanho da partícula de chumbo influencia na absorção gastrointestinal, possuindo uma relação inversamente proporcional. Em estudo com ratos, que receberam uma dieta que possuía partículas metálicas de chumbo, com diâmetro menor que 38 μm , ingerindo uma dose de 37,5 mg Pb Kg⁻¹, apresentaram 2 a 3 vezes maiores concentrações de chumbo nos tecidos em relação a ratos que ingeriram partículas com diâmetros entre 150-250 μm . Em estudo *in vitro*, a solubilidade do sulfeto de chumbo no ácido gástrico, foi maior quando as partículas de chumbo apresentavam diâmetro de 30 μm , em relação a partículas de 100 μm de diâmetro (ATSDR 2007).

5.1.2 Distribuição

Uma vez absorvido, o chumbo chega ao sangue. Para um adulto, sua meia vida neste compartimento é de aproximadamente 30 dias, variando principalmente com a forma de exposição, idade e sexo (ATSDR, 2007). Do total de chumbo presente no sangue, 99% encontram-se nos eritrócitos, sendo que a maior parte do metal está associada às proteínas encontradas dentro destas células sanguíneas. Entre as proteínas presentes no citoplasma dos eritrócitos, o chumbo se encontra mais associado a Ácido Delta Aminolevulínico Desidratase (ALAD), também chamada de Porfobilinogênio Sintase (ATSDR, 2007; IARC, 2006; LAMADRID-FIGUEROA, 2006).

O nível de chumbo em plasma, no geral, é $< 0.5\%$ dos níveis do chumbo no sangue total e menor que $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$ ou $0.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Cerca de 1% do chumbo do sangue está no plasma, sendo que 40 a 75% deste estão associados às proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, podendo se associar a α_2 -globulina e também a gama globulina (γ -globulina). O chumbo que não se encontra associado a proteínas no soro, forma complexos com compostos de baixo peso molecular contendo sulfidrina, cisteína e homocisteína. Liga-se fortemente a metaloproteínas. Ali, a fração do chumbo ionizada na forma de Pb^{+2} presente no plasma representa a porção biodisponível para distribuição e excreção, de modo que o metal excretado na urina é diretamente proporcional a concentração de chumbo no plasma (GERLACH, GONÇALVES, DE SOUZA GUERRA, 2009; ATSDR, 2007; IARC, 2006; MOREIRA & MOREIRA, 2004; SMITH *et al.*, 2002, BERGDAHL, 1997; SCHUTZ *et al.*, 1996).

As concentrações sanguíneas de chumbo variam conforme a idade e estados fisiológicos como a gravidez, menopausa e amamentação, períodos em que a mobilização do chumbo aumenta. Estudos demonstraram que maior ingestão de cálcio pode ser adotada durante a gravidez, a fim de favorecer o deslocamento do chumbo por competição nos sítios de ação. Na amamentação, a ingestão maior de cálcio não possui contribuição significativa no impedimento da mobilização do chumbo (IARC, 2006).

Do sangue, o chumbo segue para a distribuição no fígado, rins, medula óssea e cérebro, ou vai se depositar nos tecidos mineralizados como ossos e dentes, promovendo o deslocamento do cálcio da matriz óssea. A distribuição pelos tecidos depende da afinidade que possuem com o metal, gradiente de concentração e grau de perfusão sanguínea, sendo a aorta, o fígado e os rins, os compartimentos corporais onde se encontram as maiores

concentrações de chumbo (MOREIRA & MOREIRA, 2004). Esse elemento pode atravessar a barreira placentária e hematoencefálica (GUNDACKER *et al.*, 2010).

Uma autópsia realizada em amostras de tecidos verificou que a distribuição de chumbo foi de 33% no fígado, 18% no músculo esquelético, 16% na pele, 11% no tecido conjuntivo denso, 6,4% em tecido adiposo; 4% nos rins, 4 % no pulmão, 2% na aorta, 2% no cérebro e demais tecidos, < 1% (ATSDR, 2007).

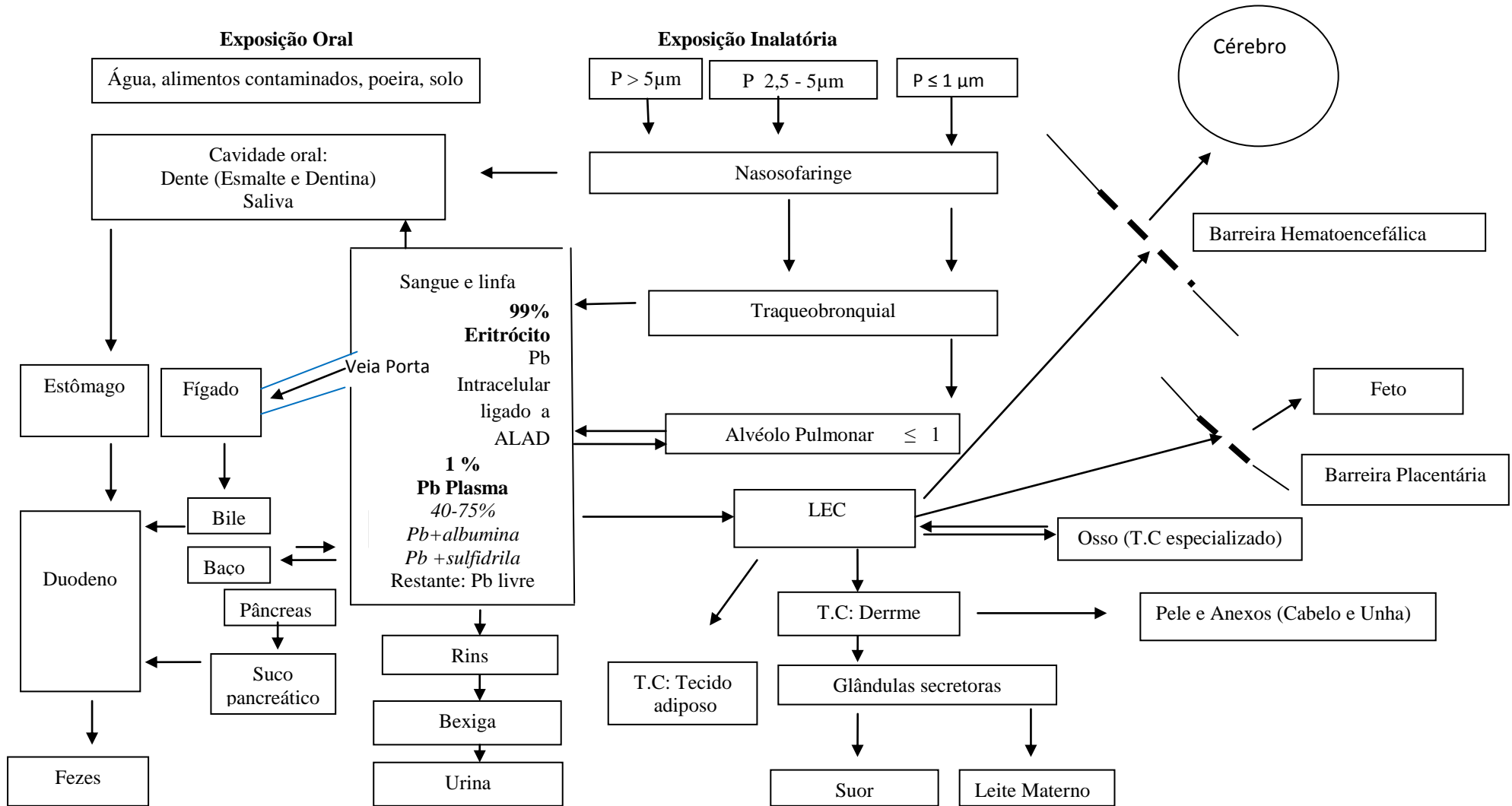
Nos adultos, acima de 90% da carga corporal de chumbo está nos ossos, sendo que, em crianças, aproximadamente 70% dessa carga está presente neste compartimento. O osso representa um estoque de chumbo, que libera este metal para o sangue na medida em que ocorre o processo de remodelação óssea, com o aumento da idade, na menopausa ou em determinados estados fisiológicos como a gravidez, em que o osso da mãe é reabsorvido e o chumbo ali presente liberado, podendo atingir o esqueleto do feto em formação. De 40 a 70% de chumbo no sangue são provenientes do osso, resultante da remodelagem óssea (ATSDR, 2007; IARC, 2006).

O acúmulo de chumbo nos ossos ocorre de forma não uniforme, tendo concentração nos locais em que a calcificação é mais ativa, de modo que, na criança, esta região corresponde ao osso trabecular. Já em adultos, em que centros de calcificação podem ocorrer no osso trabecular como no cortical, o chumbo pode apresentar acumulação nestes pontos. As estimativas de meia vida do chumbo no osso trabecular é de 12-16 anos, enquanto que, para o osso cortical, é de 13-27 anos (ATSDR, 2007).

5.1.3 Metabolismo e excreção

O metabolismo de chumbo orgânico, como compostos alquílicos de chumbo, é realizado no fígado por desalquilação oxidativa catalisada pelo citocromo P450. Já o chumbo inorgânico não sofre metabolismo, forma complexos com proteínas no meio extracelular, como albumina, e elementos não proteicos, como sulfidrilas (ATSDR, 2007). O chumbo estabelece também ligações com proteínas intracelulares, como a ALAD presente nos eritrócitos, e com proteínas nucleares. O chumbo absorvido pelo organismo é eliminado principalmente pela urina, de 75 a 80%, e fezes (15%) (MOREIRA & MOREIRA, 2004). Pode ser eliminada ainda pela bile, secreção pancreática, suor, cabelo, unhas (ATSDR, 2007). A Figura 1 representa a rota de distribuição e eliminação do chumbo inorgânico no organismo.

Figura 1 - Rota de distribuição e eliminação do chumbo inorgânico no organismo



Pb (chumbo); P (Partícula de Chumbo); LEC(Líquido Extra Celular); T.C (Tecido Conjuntivo); ALAD (Enzima Ácido Delta-Amnolevulínico Desidratase); μm (micrômetro)

Fonte: Baseado em Klaassen, Casarett, Doull, 2013, p.108.

5.2 TOXICODINÂMICA

O chumbo não apresenta nenhuma função no organismo, por não ser metal essencial (UNEP, 2010). Como tem alta afinidade por grupamentos tiol, liga-se aos grupos sulfidrilas (-SH), afetando as atividades de diversas enzimas e moléculas no organismo. Interfere nos mecanismos de necrose, apoptose, expressão gênica, reparo de DNA, sinalização intra e extracelular, liberação de neurotransmissores e adesão celular. (MOSTAFALOU *et al.*, 2015; KASPERCZYK *et al.*, 2014). Afeta as vias de sinalização celular via proteína G, via proteína CREB (elemento de ligação em resposta ao AMP cíclico), de sinapse de potencialização de longa duração e de junções gap (GILLIS *et al.*, 2012).

É capaz de substituir outros cátions bivalentes como cálcio, magnésio, ferro e também cátion monovalente como o sódio. A substituição do cálcio pelo chumbo pode ocorrer até mesmo em concentrações picomolares do metal. Esta permuta afeta a ativação da proteína quinase C (PKC), normalmente realizada pelo cálcio. A PKC regula a excitação neuronal em longo prazo e o armazenamento de memória, de modo que sua inibição resulta em prejuízo destas funções. Já a substituição do íon sódio pelo chumbo afeta gravemente a geração de potenciais de ação excitatórios e a captação de neurotransmissores como GABA, colina e dopamina (FLORA *et al.*, 2012).

Liga-se ao zinco e cobre, elementos cofatores da superóxido dismutase, enzima antioxidante. O cobre, presente na ferredoxina, promove a oxidação do ferro e é catalisador do transporte de ferro para a transferrina. O chumbo liga-se a ferredoxina e a transferrina, de modo a afetar o metabolismo do ferro (KASPERCZYK *et al.*, 2014). Interage com o cofator para glutatona peroxidase, o selênio, formando complexos, de modo que uma menor quantidade de íon de chumbo fica biodisponível no organismo. Por outro lado, a ligação com o selênio resulta em menor ativação da glutatona peroxidase, levando ao aumento da peroxidação lipídica e de danos ao DNA e RNA (KASPERCZYK *et al.*, 2012).

O chumbo vai se associar a um conjunto de proteínas chamadas de proteínas de ligação do chumbo, de baixo peso molecular e semelhantes à metalotioneína. A principal destas proteínas é a ALAD, presente no citosol dos eritrócitos. Outras proteínas são a timosina β_4 nos rins, cérebro; e a acil coa, nos rins (GONICK, 2011). O acúmulo do ácido delta aminolevulínico (ALA) no organismo, devido à inibição da enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD) ocasiona a formação de ROS - espécies reativas de oxigênio (IARC, 2006). O chumbo inativa a principal molécula antioxidante do organismo, a

glutathiona, pela ligação aos grupos tióis desta molécula e inibe as atividades das principais enzimas antioxidantes, glutathiona peroxidase, glutathiona redutase e glutathiona S-transferase, superóxido desmutase e catalase (KASPERCZYK *et al.*, 2014; FLORA *et al.*, 2012).

A presença do chumbo estimula a atividade da calmodulina e do AMP cíclico fosfodiesterase, o que resulta na fosforilação de proteínas mediadas pela calmodulina nas vesículas sinápticas, interferindo na liberação de neurotransmissor, que possui como mediador o complexo cálcio-calmodulina. Estabelece ligação a fosfatidilcolina, podendo ocasionar a peroxidação lipídica e alterações das propriedades biofísicas da membrana plasmática (GILLIS *et al.*, 2012).

É um metal que tem a capacidade de ativar a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral α (TNF- α); e quimiocinas, como a interleucina 8 (IL-8) e proteína inflamatória do macrófago 1-alfa (MIP -1 α). Ativa as expressões de genes da metalotioneína, da proteína nuclear de ligação ao ferro, do receptor endotelina B, da aldeído desidrogenase 1, do triptofano 2,3 dioxigenase, aspartato beta hidroxilase, prostaglandina redutase e da enzima málica (GILLIS *et al.*, 2012).

A ativação da GSK-3 (quinase glicogênio sintase 3), a indução do estresse do retículo endoplasmático e aumento das atividades enzimáticas do fígado relacionadas à gliconeogênese ocasionada pelo chumbo podem promover a inibição da secreção de insulina pelas Ilhotas de Langerhans (MOSTAFALOU *et al.*, 2015).

O estresse oxidativo é um dos principais mecanismos moleculares de toxicidade apresentado pelo chumbo, podendo levar, por exemplo, a peroxidação lipídica das membranas dos eritrócitos, resultando na hemólise destas células sanguíneas e anemia. Proporciona a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) como o ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxila (OH \cdot), peróxido de hidrogênio, e de espécies reativas de nitrogênio como o óxido nítrico (MATOVIC *et al.*, 2015).

É importante ressaltar que a toxicidade do chumbo está associada não somente a indução ao estresse oxidativo provocada por este metal, mas também à mimetização e substituição do cálcio que ele ocasiona. O íon cálcio é segundo mensageiro celular, atuando em diversos processos fisiológicos dependentes do cálcio como a sinalização, divisão e proliferação celular, apoptose, necrose, contração muscular, plasticidade neuronal, fertilização, respiração celular, gliconeogênese, glicogenólise, secreção de insulina pelas células β pancreáticas, liberação de neurotransmissores, potencialização e depressão de longo prazo, envolvidos no armazenamento da memória e aprendizado, regulação de proteínas, de

modo que o deslocamento deste íon provocado pelo chumbo, em qualquer sítio de ligação de Ca^{+2} , é capaz de alterar qualquer uma das funções mencionadas (RESENDE *et al.*, 2012; IARC, 2006).

Por exemplo, a associação do chumbo inorgânico com a ocorrência de câncer pode ser explicada pelo estresse oxidativo induzido por este metal, em que a formação de espécies reativas de oxigênio pode ocasionar danos ao DNA, como mutações e quebras da cadeia, produzindo efeitos genotóxicos. Entretanto, também pode ser explicada pela mimetização do cálcio, uma vez que este íon controla a proliferação, morte celular, vias de sinalização associadas à angiogênese e metástases. O chumbo pode induzir mudanças no aumento de expressão dos canais de cálcio, que levam a intensa ativação da via de proliferação celular dependente de Ca^{+2} , ocasionando a formação de células cancerígenas (RESENDE *et al.*, 2012; IARC, 2006).

6 EFEITOS SISTÊMICOS PRODUZIDOS PELO CHUMBO

6.1 SISTEMA NERVOSO

A barreira hematoencefálica possui uma integridade ao longo do sistema nervoso central (SNC). Entretanto, o endotélio capilar apresenta maior permeabilidade em algumas regiões, como partes do hipotálamo, da glândula pineal e teto do terceiro ou quarto ventrículo (MARTINI, 2009). São estas áreas mais permeáveis que podem representar a via de passagem para metais, como o chumbo, pela barreira hematoencefálica, facilitada pelos transportadores de elementos divalentes DCT1, encontrados, por exemplo, em neurônios do hipocampo (POSSER, 2005).

O chumbo é uma neurotoxina, sendo o receptor de glutamato N-metil D-aspartato (NMDA) um dos principais sítios de ligação do metal no sistema nervoso. Este receptor é encontrado principalmente no hipocampo e córtex cerebral, estando associado a canais iônicos de cálcio, sódio e potássio, mediando os processos de transmissão sináptica, plasticidade neuronal, formação de memória e aprendizagem. A ligação do chumbo a este receptor ocorre parcialmente no sítio de ligação ao zinco presente na subunidade NR2A do receptor. O chumbo inibe a expressão da subunidade NR2A, resultando em alterações na transmissão sináptica, reduzindo a expressão da proteína CREB, ocasionando a redução da potenciação a longo prazo, levando prejuízos ao processo de formação de memória e para a aprendizagem (BARANOWSKA-BOSIACKA *et al.*, 2012).

Quando as concentrações de chumbo em sangue total atingem valores superiores a $100 \mu\text{g dL}^{-1}$, é mais comum a ocorrência de manifestações clínicas como as neuropatias periféricas, encefalopatias e síndrome do tunel do carpo, além de alterações clínicas musculoesqueléticas, como fraqueza dos músculos extensores dos pulsos e tornozelos e artralgia (BECERRA *et al.*, 2016). A encefalopatia se caracteriza pelos sintomas de alteração de estado mental, irritabilidade, cefaleia, quadros convulsivos e associação ao maior consumo de bebidas alcoólicas. Foi observado, em um estudo de caso, quadro de encefalopatia na contaminação por chumbo de paciente com Pb-S de $148 \mu\text{g dL}^{-1}$ e $232 \mu\text{g dia}^{-1}$ na urina de 24 horas (ARNOLD & MORGAN, 2015).

Em um estudo de caso, que avaliou paciente do sexo masculino, 47 anos, após exposição ocupacional no intervalo de 5 anos, com níveis de chumbo sangue total de $97,67 \mu\text{g dL}^{-1}$, constatou-se a co-existência de neuropatia periférica secundária à exposição ao chumbo e poliomiosite crônica, confirmados por eletromiografia, ressonância magnética, biópsia

muscular e elevação das enzimas musculares fosfoquinase creatina, CPK, (1000 UL^{-1} , intervalo de referência $0-53 \text{ UL}^{-1}$), desidrogenase láctica, DLH (556 UL^{-1} , intervalo de referência $0-200 \text{ UL}^{-1}$) e aldolase ($8,4 \text{ UL}^{-1}$, intervalo de referência $0-6 \text{ UL}^{-1}$). Foram observados sintomas de parestesia nos membros superiores e inferiores, atrofia mais a diminuição da força muscular proximal dos músculos deltóide e vasto mediano, e nos músculos flexores e alongadores do pescoço, além de fraqueza muscular generalizada e disfagia precoce (BECERRA *et al.*, 2016).

Em estudo com 461 trabalhadores expostos ao chumbo e 175 não expostos, foi observado em indivíduos portadores do alelo ALAD 2, expostos ocupacionalmente, médias de concentração de chumbo sangue total de $606 \mu\text{g L}^{-1}$ e de chumbo em urina de 233 mg g^{-1} creatinina, níveis estes superiores aos indivíduos expostos com alelo ALAD 1, que apresentaram Pb-S de $499 \mu\text{g L}^{-1}$ e $164 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina. As concentrações elevadas de Pb-S e Pb-U apresentaram correlação significativa com a velocidade de condução motora dos nervos mediano, ulnar e peroneal. Para os mesmos níveis de chumbo em sangue e urina, os portadores do alelo ALAD 1 apresentaram velocidades menores de condução motora dos nervos citados, em relação aos portadores do alelo ALAD 2. A média de velocidade de condução motora para o nervo mediano, ulnar peroneal, para o grupo de homens expostos foi de $56,8$; $58,9$; $48,0 \text{ ms}^{-1}$, respectivamente, e para mulheres expostas foi de $57,1$; $59,5$; $49,4 \text{ ms}^{-1}$. Já para o grupo de homens não expostos, as velocidades apresentadas foram de $58,8$; $60,9$; $50,4 \text{ ms}^{-1}$, e para mulheres não expostas de $60,2$; $61,7$; $50,8 \text{ ms}^{-1}$, respectivamente (ZHENG *et al.*, 2011).

No estudo em que avaliou 34 trabalhadores com exposição ocupacional ao chumbo e 20 controles foram observados nos trabalhadores que possuíam concentrações de chumbo acima de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ e protoporfirina livre eritrocitária (FEP) no valor de $70 \mu\text{g}$ por 100 mL de eritrócitos, uma velocidade reduzida de condução em fibras motoras de condução lenta do nervo ulnar e peroneal, com alterações neurogênicas observadas em eletromiografia do músculo interósseos (BILINSKA *et al.*, 2005).

O aumento brusco dos níveis de chumbo no organismo podem ocasionar perda seletiva e distribuição anormal dos nervos motores distais. Em estudo de relato de caso, em indivíduo de 31 anos, apresentando múltiplos fragmentos de projétil retido em escápula esquerda, pulmão superior esquerdo, quarta e quinta costela esquerda, foi observado quadro de intoxicação por chumbo 6 semanas após o alvejamento e fraqueza muscular proximal

generalizada em membros após 10 semanas (SRISUMA, LAVONAS, WANANUKUL, 2015).

Os níveis de chumbo em sangue neste caso foi de $126 \mu\text{g dL}^{-1}$, força muscular grau III para os cotovelos e quadris, e de grau II para os ombros, ausência do reflexo tendinoso profundo, geração de potenciais de ação composto dos músculos (CMAP) de menor amplitude e encefalopatia, além de anemia microcítica, com volume corpuscular médio de 70 fl; hematócrito de 24 %; nível de tiroxina 4 (T4) em $2,14 \text{ ng dL}^{-1}$, exibindo um aumento transitório deste hormônio e sintomas característicos do saturnismo. A piora do quadro de encefalopatia e da fraqueza muscular, com perda da consciência, insuficiência respiratória ocorreu no quarto dia de tratamento, com uso de quelante dimercaprol e EDTA, com a fraqueza muscular resultando em força inspiratória negativa. Houve progressão favorável no quadro, após duas semanas de administração apenas de EDTA, em que foi observada melhora na força motora dos músculos distais (SRISUMA, LAVONAS, WANANUKUL, 2015).

Em um estudo piloto, com o objetivo estudar a neurotoxicidade proporcionada pela exposição ao chumbo no primeiro trimestre de gravidez, foram recrutadas voluntariamente e avaliadas 2306 grávidas em uma clínica de pré-natal, situada na cidade de Shenzhen, China, seguidas entre janeiro de 2009 a janeiro de 2010. Os autores verificaram a inexistência de um nível seguro de exposição para o desenvolvimento dos recém-nascidos e concluíram que concentrações de chumbo no sangue materno iguais a $5 \mu\text{g dL}^{-1}$ foram capazes de prejudicar o neurodesenvolvimento infantil (JIAN'AN *et al.*, 2014).

Um estudo de coorte verificou a relação do estresse pré-natal como um elemento modificador nos efeitos neurotóxicos gestacionais do chumbo, submetendo 360 crianças de 24 meses ao teste Bayley Scales of Infant Development III, para avaliação da cognição, linguagem e capacidade motora. A média dos níveis de chumbo no sangue materno no terceiro trimestre de gravidez foi de $3,9 \pm 3,0 \mu\text{g dL}^{-1}$ e o estresse pré natal foi avaliado, durante a gravidez, através da escala NLE (negative life events) e o questionário CRYISIS. A concentração de chumbo em sangue naquele estudo e o nível de estresse que obteve score médio de 3 na escala NLE apresentaram correlação negativa significativa com os scores alcançados pelas crianças na escala Bayley III. Verificou-se um efeito dose resposta entre as concentrações de chumbo em sangue materno menores que $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ e os scores relativos ao desenvolvimento das crianças na escala Bayley III (TAMOYO Y ORTIZ *et al.*, 2017).

Na presença de alto nível de estresse pré-natal, com score na escala NLE de 6, foram observados os menores scores cognitivos em crianças de ambos os sexos, mas em relação a

baixos scores em linguagem, este foi menor para o sexo feminino. Para os casos detectados de ausência de estresse pré natal, foi observado uma correlação negativa entre os níveis de chumbo materno e todos os escores obtidos na escala Bayley III pelas crianças avaliadas. Os autores concluíram que o alto nível de estresse pode ter mascarado a magnitude da associação negativa entre níveis de Pb-S materno e scores obtidos pelas crianças na avaliação da linguagem e capacidade motora na escala Bayley III (TAMOYO Y ORTIZ *et al.*, 2017).

Um estudo avaliou a associação da concentração de chumbo presente no osso com a doença de Parkinson em 330 casos e 308 controles. Foi observado para o quarto quartil, referente aos níveis de chumbo na tíbia $> 17,3 \mu\text{g g}^{-1}$, uma odds ratio de 3,21 para a doença de Parkinson, não sendo encontrada associação entre chumbo da patela e o parkinsonismo (WEISSKOPF *et al.*, 2010). No estudo em que foram avaliados 184 casos e 194 controles de 2003-2007, os níveis de chumbo no sangue foram associados a um aumento em 1,9 vezes no risco de um indivíduo ter esclerose lateral amiotrófica (ELA), após ajustamento da variável idade e do biomarcador de reabsorção óssea CTX (telopectídeos C terminais do colágeno tipo 1). A média de concentração de chumbo no sangue, nos casos, foi de $2,38 \pm 1,28 \mu\text{g dL}^{-1}$, sendo a média de $2,67 \pm 1,28 \mu\text{g dL}^{-1}$, para os casos de ELA com atrofia muscular, e de $1,93 \pm 0,79 \mu\text{g dL}^{-1}$, para casos de ELA com esclerose lateral primária. Já os controles apresentaram uma média de Pb-S de $1,76 \mu\text{g dL}^{-1}$ (FANG *et al.*, 2010).

Os estudos experimentais em ratos de avaliação da neurotoxicidade tem demonstrado que o chumbo induz as alterações epigenéticas de hipermetilação de DNA em regiões hipocampais; o aumento de fator de necrose tumoral (TNF- α), de interleucina 6 (IL-6), de proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP1) e da ciclo-oxigenase 2 (COX-2); a inibição de moléculas de adesão da célula neural; a vulnerabilidade da barreira hematoencefálica; a apoptose neuronal; a diminuição da expressão da proteína CREB; a ativação da micróglia; a expressão de genes associados a doenças psiquiáticas interferindo em plasticidade e migração neuronal, transmissão sináptica, resultando em distúrbios de aprendizagem e memória, no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer, e de transtornos psíquicos como a esquizofrenia (FENG *et al.*, 2016; KUMAWAT *et al.*, 2014; SANCHÉZ-MARTIN *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2012; YOU *et al.*, 2012; HU *et al.*, 2010).

6.2 SISTEMA HEMATOPOIÉTICO

O sistema hematopoiético é um importante alvo na toxicidade do chumbo. O metal é capaz de estabelecer ligações fortes com proteínas eritrocitárias, ocasionando modificações na membrana dos eritrócitos, visto que possui a habilidade de se ligar aos grupos sulfidrilas das proteínas. Assim, pode induzir aos danos oxidativos nos eritrócitos, inibir a atividade da ATPase na membrana eritrocitária e afetar o transporte pelas bombas de cátions presentes nesta estrutura, contribuindo para diminuição da sobrevivência dos eritrócitos (SOUZA & TAVARES, 2009).

Por atuar sobre as células renais inibindo a síntese de eritropoetina, o chumbo provoca uma diminuição na quantidade dos progenitores eritróides (BFU-E). Enzimas participantes da síntese do heme, como a ácido δ aminolevulínico sintetase, ácido δ aminolevulínico desidratase (ALAD), porfobilinogênio desaminase, uroporfirinogênio descarboxilase, coproporfirinogênio oxidase e ferroquelatase podem ser inibidas por esse metal, resultando no acúmulo de produtos das reações catalisadas por estas enzimas. Desta forma, a inibição da ALAD pode levar ao acúmulo do ácido δ aminolevulínico (ALA), aumentando o ácido gama aminobutírico (GABA) no sistema nervoso central (SOUZA & TAVARES, 2009).

O chumbo também inibe a síntese das cadeias globulínicas α e β , favorecendo o aparecimento de anemia hipocrômica normocítica. Em casos de deficiência de ferro ocorrer juntamente com a intoxicação por chumbo, quadros de anemia mais severos, com microcitose e hipocromia elevada, são observados (SOUZA & TAVARES, 2009). A redução dos níveis de hemoglobina e a presença de anemia têm sido observadas em trabalhadores expostos ao chumbo e crianças com exposição prolongada a altas concentrações do metal (DAL MOLIN *et al.*, 2006).

Um estudo seccional realizado com 340 crianças com o objetivo de determinar os níveis de chumbo no sangue e a prevalência de anemia ferropriva em crianças paquistanesas de 1 a 5 anos, verificou que crianças com anemia leve (concentração de hemoglobina $< 10 \text{ g dL}^{-1}$) ou severa (concentração de hemoglobina $< 8 \text{ g dL}^{-1}$), possuíam médias de concentração de chumbo no sangue maiores do que crianças não anêmicas (concentração de hemoglobina $> 10 \text{ g dL}^{-1}$). A concentração de chumbo no sangue em 53% das crianças com anemia severa estava na faixa de $100 - 200 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que, nos 47% restantes, a concentração foi maior do que $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Nos dois tipos de anemia, foi encontrada uma correlação significativa negativa entre os níveis de chumbo no sangue e as concentrações de hemoglobina e ferro. Por

outro lado, uma correlação positiva foi obtida entre concentração de chumbo no sangue e idade (SHAH *et al.*, 2010).

No estudo de coorte, com 384 crianças brasileiras entre 2 a 11 anos, acompanhadas de 2001-2003, residentes em Santo Amaro da Purificação, Bahia, foi observado que 84,4% apresentavam anemia normocítica; 14,6%, anemia microcítica; 1,0%, anemia macrocítica; 90,3%, anemia normocrômica; 9,4%, anemia hipôcromica; 0,3%, anemia hiperocrômica. Os níveis de chumbo no sangue estavam entre 5,0 a 9,0 $\mu\text{g dL}^{-1}$ em 44,3% ; < 5,0 $\mu\text{g dL}^{-1}$ em 37,5 % ; $\geq 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ em 18,2%; com níveis de ferritina $\geq 12 \mu\text{gL}^{-1}$ em 94,1%, níveis de ferro sérico $\geq 60 \mu\text{g dL}^{-1}$ em 84 %; entre 40,0 a 60,0 $\mu\text{g dL}^{-1}$, em 12,5%; e < 40 $\mu\text{g dL}^{-1}$, em 3,5%. Houve correlação negativa significativa entre concentrações de chumbo em sangue, os níveis de hemoglobina, de ferritina e a distância da moradia até a antiga Companhia Brasileira de Chumbo (COBRAC), com 44% das crianças moradoras próximas da indústria de chumbo (distância < 1650 metros); 31,8%, com moradias longe das instalações da indústria (distância de 3000 a 5000 m) e 24,2%, com moradias a uma distância média da fonte poluidora (distância 1650 a 3299 m) (RONDÓ *et al.*, 2011).

Em estudo que avaliou 53 trabalhadores de indústria de reciclagem de baterias automotivas e 53 controles, com idade de 18 a 55 anos, foi observado anemia (níveis de hemoglobina < 13 g dL^{-1}) em 34% dos expostos e 7,5% do grupo controle, com diferença significativa entre os grupos. Uma média de níveis de chumbo em sangue nos expostos ocupacionalmente foi de $59,43 \pm 28,34 \mu\text{g dL}^{-1}$, e para os controles, de $2,44 \pm 1,15 \mu\text{g dL}^{-1}$. Para os expostos, 20,8% possuíam níveis de Pb-S até $40 \mu\text{g dL}^{-1}$, 35,8% apresentaram Pb-S variando de 40,0 a 60,0 $\mu\text{g dL}^{-1}$, e Pb-S acima de 60 $\mu\text{g dL}^{-1}$ foi verificado em 43,4%. (MINOZZO *et al.*, 2009).

6.3 SISTEMA CARDIOVASCULAR

O chumbo e seus compostos são considerados como potenciais fatores de risco para as doenças cardiovasculares, possuindo a capacidade de promover alterações nas concentrações lipídicas, elevando os níveis do colesterol total, LDL, triglicérides e diminuição nos níveis de HDL, o que favorece o desenvolvimento da arteriosclerose (POREBA *et al.*, 2011).

A concentração de chumbo no osso pode ser utilizada como um fator preditivo de aumento da pressão arterial. Alguns estudos epidemiológicos demonstraram, por exemplo, que elevadas concentrações de chumbo na patela, sem Pb-S alto, estavam associadas à elevação da pressão arterial sistólica e alterações no eletrocardiograma (ATSDR, 2007).

Uma pesquisa realizada com 153 indivíduos saudáveis, expostos ocupacionalmente ao chumbo, e submetidos a exames de ultrassom da carótida, eletrocardiograma e índice tornozelo-braquial, mostrou que os trabalhadores com níveis elevados de chumbo no sangue apresentaram pressão arterial elevada, intervalo QT longo no eletrocardiograma (intervalo entre o início da onda Q, que representa a despolarização septal, e o final da onda T, que indica a repolarização do ventrículo), bloqueio do ramo direito e índice de tornozelo-braquial baixo (DOROSZKO, 2008).

A exposição ao chumbo pode levar ao aumento da pressão arterial durante a gravidez e a ocorrência de pré-eclâmpsia (FLORA *et al.*, 2012). Em estudo com 285 mulheres grávidas, o aumento significativo da pressão arterial foi observado durante o trabalho de parto, com níveis de chumbo no sangue do cordão umbilical menor do que $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ (média geométrica: $0,66 \mu\text{g dL}^{-1}$ e p valor = 0,05). Um aumento significativo de pressão sistólica em 6,87 mmHg e de diastólica em 4,40 mmHg foi verificado entre o quartil superior de elevada exposição e o quartil inferior de baixa exposição ao chumbo. Também observaram que, para cada aumento de uma unidade na pressão sistólica e diastólica, os níveis de chumbo no sangue eram menores do que $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ (WELLS *et al.*, 2011).

No estudo de coorte, que avaliou 4452 indivíduos, de idade entre 46 a 67 anos, de 1991 a 1994, seguidos por 16 anos, foi observado uma média de níveis de chumbo em sangue de $28 \mu\text{g L}^{-1}$, média de pressão arterial de 141/87 mmHg, hipertensão arterial em 63% da população, com uso de anti-hipertensivos em 16%. Para o quarto quartil, houve associação significativa entre os níveis de Pb-S e alta pressão sistólica e diastólica. O estudo sugere que baixos níveis de chumbo no sangue podem levar ao aumento da pressão arterial e podem aumentar o risco de hipertensão arterial (GAMBELUNGHE *et al.*, 2016).

A indução do estresse oxidativo pelo chumbo pode estar relacionada à etiologia da hipertensão arterial. O óxido nítrico, em concentrações adequadas, é necessário para a ocorrência da vasodilatação, agregação plaquetária, adesão de monócitos, inibição da proliferação de células musculares lisas e para o controle da atividade do sistema nervoso simpático. As espécies reativas de oxigênio (ROS), geradas pelo estresse oxidativo provocado pelo chumbo, podem inativar o óxido nítrico, resultando em estímulo maior do sistema nervoso simpático e elevação da pressão arterial (PATRICK, 2006).

6.4 SISTEMA RENAL

O chumbo produz efeitos nefrotóxicos e a exposição a este metal pode resultar em lesão nos túbulos proximais. Conforme aumentam as concentrações de chumbo no sangue, a gravidade da nefrotoxicidade ocasionada pelo metal é crescente, de modo que níveis sanguíneos de chumbo menores do que $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ podem alterar a filtração glomerular, enquanto que, acima de $30 \mu\text{g dL}^{-1}$, podem ser observadas proteinúria e enzimúria. Déficit grave de função renal e alterações patológicas podem ocorrer acima de $50 \mu\text{g dL}^{-1}$ (ATSDR, 2007).

As células do túbulo renal podem apresentar inclusões intranucleares, formadas pela associação do chumbo com proteínas presentes no núcleo e modificações nas mitocôndrias, que resultam em alterações na fosforilação oxidativa e na respiração celular (ATSDR, 2007; MOREIRA & MOREIRA, 2004).

A lesão dos túbulos proximais resulta em atrofia tubular e pode levar a diminuição da função renal, estabelecendo um quadro semelhante à Síndrome de Fanconi, em que há o aumento da eliminação de glicose, fosfato, proteína e aminoácidos na urina. As inclusões intranucleares desaparecem com o tempo de exposição e, em seu lugar, forma-se uma fibrose intersticial (FLORA *et al.*, 2012; MOREIRA, 2010).

Alterações irreversíveis na estrutura e função dos rins podem ocorrer, caso a exposição não cesse, caracterizando quadro de insuficiência renal, em que as inclusões intranucleares não são mais observadas, dando lugar à esclerose vascular, fibrose intersticial, atrofia ou hiperplasia das células tubulares. O chumbo promove maior reabsorção tubular de uratos, levando à menor excreção de ácido úrico, podendo resultar no quadro de gota (MOREIRA, 2010; MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Um ensaio clínico randomizado foi realizado com 1302 participantes com o objetivo de verificar a incidência de cálculos renais e exposição ao chumbo. A concentração média de chumbo no sangue, determinada entre 1985 e 2005, foi de $0,29 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a média da razão de risco, expressando o risco da associação do cálculo renal com a exposição ao chumbo, foi igual a 1,35 (1,06-1,73; $p=0,015$), ajustado por idade, sexo, nível sérico de magnésio, volume de urina de 24 horas e cálcio. Quanto à incidência de cálculos renais, 40 pacientes apresentaram este problema após 11 anos e meio de acompanhamento dos participantes. Os resultados sugeriram que a exposição ao chumbo pode ser um fator de risco para a formação dos cálculos renais (HARA *et al.*, 2016).

Em um estudo com 4875 participantes, média de idade igual a 44,1 anos, foi avaliada a relação entre as concentrações de chumbo no sangue, urina e a disfunção renal. As médias geométricas encontradas foram 1,23 e 0,45 $\mu\text{g dL}^{-1}$ para o chumbo no sangue e urina, respectivamente. Um total de 418 indivíduos (6,13%) apresentou taxa de filtração glomerular menor do que $60 \text{ mL min}^{-1} 1,73 \text{ m}^{-2}$, que representa uma taxa indicativa de doença renal crônica; 584 indivíduos (8,79%) apresentaram taxa de albumina/creatinina urinária maior ou igual a 30 mg g^{-1} , indicativo de albuminúria. Uma associação positiva significativa foi observada entre a taxa de filtração glomerular e chumbo na urina, enquanto que uma associação negativa significativa foi encontrada entre a concentração de chumbo no sangue e taxa de filtração glomerular (BUSER *et al.*, 2016).

Um estudo avaliou a relação entre níveis de exposição ocupacional ao chumbo e doença renal crônica. Foram acompanhadas 926 pessoas com doença crônica renal severa entre 7 a 9 anos. O grupo controle contou com 998 participantes. Sujeitos com maior exposição ao chumbo apresentaram uma taxa de filtração glomerular igual a $3,39 \text{ mL min}^{-1} 1,73 \text{ m}^{-2}$, enquanto que esse valor foi de $4,27 \text{ mL min}^{-1} 1,73 \text{ m}^{-2}$ entre aqueles que já possuíam alguma exposição prévia ao metal. Por outro lado, os indivíduos sem exposição ao chumbo exibiram $4,55 \text{ mL min}^{-1} 1,73 \text{ m}^{-2}$ como taxa de filtração glomerular. Não foi encontrada associação significativa entre baixos níveis de exposição ocupacional ao chumbo e doença renal crônica (EVANS *et al.*, 2010).

Em estudo seccional realizado com 1719 adultos na Coreia, foram avaliados 128 pacientes, que possuíam doença renal crônica (DRC), a fim de estabelecer a associação entre DRC e exposição a chumbo, cádmio e mercúrio. Após estratificação da amostra, com apenas hipertensos ou diabéticos, nenhuma associação foi encontrada entre DRC e concentrações baixas de chumbo, cádmio e mercúrio no sangue. No entanto, constatou que a exposição ao cádmio estava associada à DRC, principalmente nos indivíduos com hipertensão ou diabetes (KIM *et al.*, 2015).

6.5 REPRODUÇÃO, CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO

A exposição ao chumbo, mesmo em baixas concentrações, pode levar a alterações no crescimento de crianças, por exemplo, a baixa estatura. O chumbo é capaz de agir sobre os condrócitos e também de interferir no processo de formação endocondral, afetando o desenvolvimento ósseo (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Alguns estudos identificaram uma frequência de abortos espontâneos e de natimortos em mulheres expostas ocupacionalmente ao chumbo (MOREIRA & MOREIRA, 2004). Em outra pesquisa, a exposição pré-natal ao chumbo foi relacionada com nascimentos de bebês prematuros de baixo peso (ZHANG, 2015). O chumbo pode afetar o sistema reprodutor masculino, levando a uma menor produção espermática e menor motilidade dos espermatozoides (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Um estudo avaliou a relação da concentração dos metais chumbo, cádmio, mercúrio e arsênio no endométrio com a etiologia da infertilidade inexplicada. Foram avaliadas 32 mulheres férteis e 33 com infertilidade sem explicação. Observou-se a presença de chumbo e cádmio no endométrio de 3% e 34%, respectivamente, das mulheres férteis. Em relação às inférteis, o chumbo foi encontrado em 15% dessas mulheres, enquanto que o cádmio estava presente em 91%. Portanto, o Cd mostrou maior relação com a etiologia da infertilidade inexplicada do que o chumbo. Por outro lado, arsênio e mercúrio não foram encontrados em nenhuma das amostras endometriais de mulheres dos dois grupos (TANRIKUT *et al.*, 2014).

Um estudo com 27 pintores inférteis avaliou a qualidade do sêmen e função endócrina / reprodutiva em relação às concentrações sanguíneas de chumbo. Nos pintores com tempo de exposição ao chumbo superior a 15 anos, houve uma correlação negativa entre a quantidade de espermatozoides, grau de motilidade e concentração sanguínea de chumbo. Por outro lado, não foram observadas correlações entre concentração de chumbo no sangue e alterações nos níveis do hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e testosterona (T). Os pintores com Pb-S maior do que $20 \mu\text{g dL}^{-1}$ apresentaram diminuição na motilidade dos espermatozoides, aumento apenas da testosterona e sem alteração significativa nas contagem de espermatozoides (HOSNI *et al.*, 2013).

Uma pesquisa com 154 homens em Twain, recrutados em um centro de medicina reprodutiva, constatou que o aumento da concentração de chumbo no sangue estava associado com a baixa qualidade do sêmen. Níveis de chumbo no sangue superiores a $50 \mu\text{g dL}^{-1}$

representaram um risco 11 vezes maior de produção de sêmen de baixa qualidade (LI *et al.*, 2015).

A crise do chumbo, ocorrida em Washington DC entre 2000-2004, foi analisada por um estudo ecológico. Os níveis deste metal na água chegaram a 70 μg por dia, enquanto que o Pb-S da população foi superior a 5 e 10 $\mu\text{g dL}^{-1}$ em crianças e adultos, respectivamente. Neste período, foram elevados a taxa de mortalidade fetal e o número de abortos ocorridos, associados significativamente aos níveis do metal na água, devido ao uso de tubulações a base de chumbo. Com a substituição das tubulações antigas, houve redução da taxa de mortalidade fetal e aumento da natalidade (EDWARDS, 2013).

O chumbo presente no sangue materno pode atravessar a placenta com facilidade (KAYAALTI *et al.*, 2016). Uma pesquisa que avaliou 55 recém-nascidos encontrou uma correlação negativa significativa entre concentração de chumbo no cordão umbilical e tamanho do bebê ao nascer. O chumbo pode reduzir os hormônios tireoideanos fetais e levar a um menor tamanho do feto e circunferência da cabeça do bebê (LIU *et al.*, 2015; ZENTNER, 2006). A exposição pré-natal ao chumbo pode estar associada com o mau desenvolvimento fetal, sendo um risco para a ocorrência de defeitos congênitos do coração (LIU *et al.*, 2015).

Um grupo de 348 mulheres grávidas foi acompanhado até o parto e observado que o risco de parto pré-termo aumentava de acordo com o incremento de uma unidade na concentração de chumbo no sangue. A média de chumbo no sangue das mães de bebê prematuro foi igual a $4,46 \pm 1,86 \mu\text{g dL}^{-1}$, superior àquela das mães que tiveram bebê a termo, $3,43 \pm 1,22 \mu\text{g dL}^{-1}$ (VIGEH, 2011).

Concentrações sanguíneas de chumbo entre 2 e 10 $\mu\text{g dL}^{-1}$ podem levar a alterações no desenvolvimento, não havendo um nível de chumbo no sangue considerado seguro. Assim, é controverso o estabelecimento de limiares para valores sanguíneos do metal, capazes de gerar efeitos adversos (BELLINGER, 2008). A exposição ao chumbo pode ocasionar malformação congênita como defeitos do tubo neural, malformações e deformidades congênitas osteomusculares, fendas labiais e palatinas (LIU *et al.*, 2015).

Um estudo caso-controlado avaliou as concentrações de chumbo e mercúrio em sangue e cabelo de 45 crianças diagnosticadas como autistas (casos) e 45 crianças definidas como controle. As médias de Pb-S foram $55 \pm 10,02$ e $9,75 \pm 0,58 \mu\text{g dL}^{-1}$ para casos e controles, respectivamente. No cabelo, foi encontrada uma média igual a $60,045 \pm 9,75 \mu\text{g g}^{-1}$ para os casos, enquanto que esse valor foi de $12,03 \pm 0,45 \mu\text{g g}^{-1}$ nos controles. Em relação ao nível de mercúrio no sangue, este foi de $4,02 \pm 0,54 \mu\text{g dL}^{-1}$, para os casos, e de $0,00 \pm 0,02$, para os

controles. A porcentagem de crianças autistas que apresentaram altos níveis de chumbo em sangue foi de 30,9%; de mercúrio, 18,2%; de ambos os metais, 32,7%. Já a porcentagem de crianças autistas que não apresentaram nível detectável em sangue para ambos os metais foi de 18,2%. Assim, elevadas concentrações de chumbo e mercúrio foram encontradas em crianças com autismo, podendo considerar ambos os metais como importantes contribuidores para o quadro de autismo (YASSA *et al.*, 2014).

Em estudo de coorte com 2473 crianças coreanas com 7 a 8 anos, seguidas até completarem a idade de 11 a 12 anos, foi observado que baixa concentração de chumbo em sangue total nas crianças de 7-8 anos, com média geométrica para Pb-S de $1,64 \mu\text{g dL}^{-1}$, apresentou correlação significativa com os comportamentos autistas exibidos pela população de estudo aos 11-12 anos, baseados nos escores obtidos nos instrumentos de avaliação ASSQ, Autism Spectrum Screening Questionnaire e o SRS, Social Responsiveness Scale (KIM, KWON, HONG, 2016).

A exposição pós-natal ao chumbo pode resultar em alterações no desenvolvimento infantil. Um estudo de caso-controle avaliou a relação da exposição aos metais chumbo, cádmio e mercúrio com o transtorno de déficit da atenção e hiperatividade (TDAH), em crianças e adolescentes. Foram utilizados 71 casos diagnosticados como TDAH e 58 controles. Foi constatada uma associação significativa entre concentração sanguínea de chumbo maior ou igual a $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ e o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). No entanto, não foi encontrada associação de TDAH com exposição a cádmio e mercúrio, corroborando os achados de outros estudos (Braun *et al.*, 2006, Froehlich *et al.*, 2009, Ciesielski *et al.*, 2012; Nigg *et al.*, 2008, 2010; Boucher *et al.*, 2012; Cho *et al.*, 2010; Ha *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010; Szkup-Jablonska *et al.*, 2012; Nicolescu *et al.*, 2010; Yousef *et al.*, 2011), em que encontraram relação, entre exposição e TDAH em crianças, somente para chumbo, em concentrações sanguíneas menores do que $5 \mu\text{g dL}^{-1}$ (KIM *et al.*, 2013).

6.6 SISTEMA ENDÓCRINO

Desreguladores endócrinos ou disruptores endócrinos são substâncias que apresentam ação agonista ou antagonista de um efeito endócrino no organismo, interferindo nas vias de síntese ou na atividade de hormônios endógenos. Metais como o chumbo, cádmio, arsênio, níquel, mercúrio e zinco podem agir como desreguladores endócrinos sendo considerados metais disruptores ou desreguladores endócrinos. O chumbo interfere no eixo hipotálamo-hipófise-ovário, de forma dose-dependente, inibindo a síntese e a atividade da progesterona, da 17-hidroxiprogesterona, 17,20 dihidroxiprogesterona, corticosterona, 21 desoxicortisol. Quando há baixa exposição ao chumbo, este metal age estimulando síntese e atividade do 17 β estradiol, testosterona e cortisol, e, inibindo, se há alta exposição. Inibe a P450 aromatase e receptor β estradiol nas células granulosas do folículo ovariano. Alterações nas funções hormonais associadas ao rejuvenescimento, à libido, à fertilidade, ao desenvolvimento podem ser ocorrer com a exposição ao chumbo (GEORGESCU *et al.*, 2011).

O chumbo inorgânico pode afetar a atividade da tireóide. Em estudo com 141 trabalhadores expostos e 141 controles, foi observado que os níveis de hormônio estimulante da tireoide (TSH), média aritmética de $2,05 \pm 1,29$ mUI L⁻¹, e de tiroxina 4 livre (T4 livre), média de $18,07 \pm 2,27$ pmol L⁻¹, foram significativamente elevados no grupo dos expostos, com média de chumbo em sangue de $40,30 \pm 20,59$ μ g L⁻¹. Os níveis de T4 livre nos expostos apresentou correlação positiva com níveis de chumbo no sangue e níveis de zincoprotoporfirina (ZPP), cuja média foi de $49,61 \pm 60,03$ μ g g⁻¹ Hb. Já os níveis de tiroxina 3 livre (T3) nos expostos, média de $4,71 \pm 0,77$ pmol L⁻¹, apresentou correlação negativa com a idade dos participantes, que teve como média 41,86 anos. As concentrações de TSH apresentou nos expostos correlação positiva com a ZPP. Foi observado que os níveis de T3 livre foram significativamente altos em não expostos, cuja média foi $4,97 \pm 0,86$ pmol L⁻¹, apresentando média de níveis de Pb-S de $6,08 \pm 1,03$ μ g L⁻¹, média de níveis de T4 livre de $17,52 \pm 2,74$, média de níveis de TSH de $1,71 \pm 0,99$ mUI L⁻¹ (BOUKERMA *et al.*, 2014).

O chumbo interfere na homeostase do cálcio e na via dopaminérgica, processos controlados pela hipófise, responsáveis pela regulação da secreção da prolactina. Por outro lado, níveis séricos elevados de prolactina tem a capacidade, por feedback negativo, de inibir a ação do chumbo na via dopaminérgica. O feto começa secretar a prolactina entre 7 semanas e meia até a 10ª semana e ocorre de forma independente das concentrações de prolactina no

sangue materno. Um estudo avaliou 101 mulheres grávidas quanto à exposição ao chumbo ambiental e os efeitos sobre a secreção da prolactina. Foi observada uma correlação negativa significativa entre as concentrações de chumbo no sangue materno e os níveis séricos de prolactina materno (TAKSER, 2005).

Naquele estudo, a média dos níveis de Pb-S materno no momento do parto foi de 2,1 $\mu\text{g dL}^{-1}$, variando de não detectável a 16,6 $\mu\text{g dL}^{-1}$. A média dos níveis de chumbo no cordão umbilical foi 1 $\mu\text{g dL}^{-1}$, variando de não detectável a 14,3 $\mu\text{g dL}^{-1}$, sendo verificada correlação positiva significativa entre Pb-S materno e concentrações de chumbo no cordão umbilical. Já a média dos níveis séricos de prolactina materna no primeiro trimestre foi de 44 ng mL^{-1} , com variação de 15 a 201 ng mL^{-1} ; no momento do parto foi de 248 ng mL^{-1} , variando de 82,1 a 500 ng mL^{-1} ; no cordão umbilical foi de 372,3 ng mL^{-1} , variando de 146 a 500 ng mL^{-1} . Os níveis de prolactina no cordão umbilical apresentou correlação fraca com os níveis de chumbo no sangue materno (TAKSER, 2005).

As alterações endócrinas promovidas pelo chumbo podem estar associadas com a obesidade. Estudos experimentais demonstram, no geral, a associação da exposição ao chumbo com o aumento do peso corporal, em animais. Em humanos, alguns estudos encontram associação positiva entre níveis de chumbo em dentina ou sangue, com o índice de massa corporal (IMC), porém em outros, ocorre associação negativa entre as variáveis Pb-S e IMC. Na pesquisa sobre prevalência na China oriental de doenças metabólicas e fatores de risco (SPECT- China 2014), realizada com 5558 chineses, foi observado, após ajuste das variáveis idade, local de moradia em meio urbano, classe econômica, fatores metabólicos, associação positiva entre níveis de chumbo em sangue com IMC, apenas em mulheres. Nos quartis que possuíam as concentrações mais altas de chumbo em sangue, os níveis de Pb-S estavam relacionados com o aumento da Odds Ratio para a obesidade (WANG *et al.*, 2015).

Além de alterar hormônios tireoideanos ligados ao metabolismo, o chumbo pode ocasionar alterações epigenéticas de hipometilação na região promotora do gene que codifica o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e a metilação do gene tipo 1 do adenoma pleomórfico (PLAGL1), que codifica a proteína de dedo de zinco PLAGL1. Estas mudanças epigenéticas, juntamente com as alterações neurotóxicas que modificam o apetite e a disbiose na microbiota intestinal promovidas pelo chumbo, correspondem à hipótese atual que busca compreender a ligação entre chumbo e obesidade (PARK *et al.*, 2016).

6.7 SISTEMA IMUNOLÓGICO

O chumbo pode afetar o sistema imunológico, ocasionando imunodepressão, favorecendo as respostas alérgicas e o desenvolvimento de doenças autoimunes (HSIAO *et al.*, 2011; MISHRA, 2009).

Em estudo com 590 crianças chinesas residentes em áreas de depósito de resíduos eletrônicos e 289 controles, que receberam vacinas contra o vírus da hepatite B, de acordo com o programa de vacinação local, foi observado que 50% das crianças com exposição crônica ao chumbo, apresentaram títulos mais baixos de anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B em relação ao grupo de referência, não apresentando uma resposta imune satisfatória a vacina recebida. A média dos níveis de chumbo em sangue nas 590 crianças expostas foi de $6,76 \pm 0,18 \mu\text{g dL}^{-1}$ e das 289 crianças não expostas foi de $6,05 \pm 0,18 \mu\text{g dL}^{-1}$. A média de titulação de anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B do grupo exposto foi 1,04 s/co (amostra/valor de corte), quatro vezes menor que a do grupo não exposto, que foi de 4,06 s/co (XU *et al.*, 2015).

O chumbo pode alterar os níveis de linfócitos T helper, estimulando a síntese de T helper 2 e inibir a síntese de T helper 1, ocasionando desregulação na síntese de citocinas, podendo ocasionar aumentos de interleucina 4 e 10, diminuição dos níveis de interferon γ , de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), contribuindo para o desenvolvimento de doenças alérgicas (HSIAO *et al.*, 2011).

Em um estudo realizado com estudantes em Taiwan, divididos em três grupos com 50 indivíduos e um grupo com 64 indivíduos, subdivididos em subgrupos de saudáveis e com alergia respiratória, sendo o grupo 1, de moradores de área urbana, com idade menor que 10 anos; grupo 2, de moradores de área urbana, com idade maior que 10 anos; grupo 3, de moradores de área rural, com idade menor que 10 anos; e grupo 4, com, moradores próximos a refinaria de petróleo, foi observado que os níveis de chumbo em sangue do grupo 4 foi significativamente mais elevado que todos os outros grupos, apresentando média de Pb-S de $5,23 \pm 0,36 \mu\text{g dL}^{-1}$, nos 30 indivíduos sem alergia respiratória, e de $8,80 \pm 0,45 \mu\text{g dL}^{-1}$, nos 34 indivíduos com alergia respiratória (HSIAO *et al.*, 2011).

As crianças alérgicas do grupo IV tiveram níveis séricos de citocinas produzidas pelo linfócito T helper 2, interleucina 4 (média $45,30 \pm 27,50 \text{ pg mL}^{-1}$) e interleucina 5 (média $25,70 \pm 11,50 \text{ pg mL}^{-1}$), significativamente maiores que as citocinas produzidas pelo T helper 1, o interferon γ (média $0,20 \pm 0,14 \text{ pg mL}^{-1}$) e interleucina 12 (média $0,16 \pm 0,11 \text{ pg mL}^{-1}$).

Entretanto, os indivíduos saudáveis do grupo IV, apesar de níveis elevados de chumbo em sangue, não apresentaram valores de citocinas produzidas pelas células T helper 1 e T helper 2 alterados significativamente em relação aos grupos controle I, II e III, apresentando médias de níveis séricos de interferon γ , de interleucina 12, 4 e 5, respectivamente de $9,11 \pm 2,28$; $4,5 \pm 1,24$; $6,93 \pm 3,38$; $4,00 \pm 2,17$ pg mL⁻¹ (HSIAO *et al.*, 2011).

6.8 SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO

A exposição crônica ao chumbo pode estar associada ao desenvolvimento de doenças periodontais, principalmente devido à indução a resposta inflamatória que o metal promove, com a elevação da produção de citocinas e mediadores da inflamação. Outras manifestações orais identificadas são a estomatite ulcerativa, excessiva produção salivar, tremores na língua, gosto metálico ou adocicado, presença de pigmentação gengival, formando a linha de Burton, presente em coloração azulada, principalmente em gengiva marginal de incisivos inferiores. A linha é formada pela reação do sulfeto de hidrogênio do biofilme bacteriano com o chumbo do sulco gengival, formando o precipitado de sulfeto de chumbo. Pode ser verificada ainda a ocorrência de áreas acizentadas na mucosa jugal e língua em indivíduos expostos ao chumbo (NEVILLE, 2009; CARRANZA *et al.*, 2015).

Em estudo que avaliou a condição bucal de 134 trabalhadores em fábrica de baterias em Bauru, São Paulo, expostos ao chumbo e o uso de serviços odontológicos, foi observado para o Índice Periodontal Comunitário (IPC), índice 3 em 17,9% da população de estudo, referente a bolsas periodontais de 4 a 5 mm, e índice 4, referente a bolsas periodontais de 6 mm ou mais. A presença de sangramento a sondagem associado aos quadros periodontais mais graves esteve presente em 25% (AZNAR *et al.*, 2015).

Quanto ao Índice de Perda de Inserção (PIP), foi atribuído índice 0, com perda de 0 a 3 mm em 73,48%, e índice 1 a 22,73% dos trabalhadores, referente à perda de inserção de 4 a 5 mm. Já as perdas de inserção severa (índice 2, com perda de 6 a 8mm; índice 3, de 9 a 11 mm; índice 4, de 12 mm ou mais) foram observados em 3,79% da população. O índice CPOD médio (dentes cariados, perdidos e obturados) foi de 8,49. Foi observado desgaste dentário em todos os trabalhadores avaliados, com 11% apresentando desgaste severo, se estendendo até a polpa dentária, sendo os dentes incisivos mais acometidos pelo desgaste de esmalte e dentina. Do total de trabalhadores, 55,22% utilizavam serviços odontológicos (AZNAR *et al.*, 2015).

O chumbo pode se depositar em esmalte dentário e dentina. Esmalte e dentina possuem processo de mineralização diferenciados. Na dentina, a mineralização ocorre de forma aposicional, apresentando áreas de dentina primária, quando o dente se forma até erupcionar, e de dentina secundária, que é produzida durante toda a vida, após a erupção dentária, em uma velocidade reduzida. A dentina secundária e a raiz dentária são as estruturas que possuem grande quantidade depositada de chumbo em comparação à dentina primária e o

osso. A mineralização no esmalte não é aposicional, envolvendo uma fase secretória e de maturação. A incorporação de íons a superfície do esmalte como flúor, chumbo, cádmio e zinco ocorre em fluxo contínuo após a mineralização da matriz, que pode ocorrer por meses ou anos (GERLACH, GONÇALVES, DE SOUZA GUERRA, 2009).

Em estudo de coorte na Inglaterra, que avaliou 10 dentes decíduos (6 incisivos e 4 molares), de crianças com 5 a 8 anos, foi observado nos nascidos em 2000, depois da proibição do uso do chumbo na gasolina, níveis de chumbo em dentina ($< 0,2 \mu\text{g Pb g}^{-1}$) menores que o grupo nascido em 1997, e a proporção de isótopos de chumbo identificadas $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ estavam correlacionadas aos materiais particulados PM_{10} e $\text{PM}_{2,5}$ de aerossóis de indústrias atuais. Já o grupo de crianças nascidas em 1997 apresentaram maiores concentrações de chumbo em dentina ($> 0,4 \mu\text{g Pb g}^{-1}$) e a relação de isótopos $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ estava correlacionada a emissões de chumbo pela gasolina e também a de aerossóis industriais (SHEPHERD *et al.*, 2016).

6.9 CARCINOGENICIDADE DO CHUMBO

O chumbo inorgânico é classificado no grupo 2A pela International Agency for Research on Câncer (IARC), sendo considerado como provável carcinogênico. O chumbo orgânico se encontra no grupo 3 da IARC, por não ser considerado carcinogênico para humanos (IARC, 2017, 2006; WILHELM *et al.*, 2010). No estudo de coorte, com 4114 indivíduos trabalhadores australianos expostos ao chumbo inorgânico, seguidos por 16,2 anos, foi observada mortalidade global elevada, com a razão padronizada de mortalidade (SMR) igual a 111, IC 95% (101-123), porém taxas globais de incidência do câncer baixas. A ocorrência de câncer foi verificada em 228 indivíduos, com taxa de incidência padronizada (SIR) de 83, IC 95% (73-95). Para câncer no fígado, SIR foi igual a 217, IC 95% (103-454). Já para câncer esofágico, SIR foi de 240, IC 95% (129-447). Concluiu-se que há a necessidade de maiores estudos que investiguem uma associação biológica plausível entre chumbo inorgânico e o câncer esofágico ou de fígado (GWINI *et al.*, 2012).

Um estudo com 81 pacientes e 81 controles, foi observado que a frequência genotípica ALAD 1-2 foi significativamente maior em pacientes com tumores cerebrais do que nos controles. As médias de Pb-S para indivíduos ALAD 1 foi $28,93 \pm 12,73 \mu\text{g dL}^{-1}$ e alelo ALAD 2, de $34,39 \pm 17,87 \mu\text{g dL}^{-1}$. Em 41 pacientes com glioma, a média dos níveis de Pb-S foi de $28,86 \pm 20,12 \mu\text{g dL}^{-1}$ (26 pacientes com alelo ALAD1 e 15 com ALAD 2). Os genótipos ALAD 1-2 e ALAD 2-2 foram significativamente mais frequentes naqueles que apresentaram meningioma. Os 31 pacientes com meningioma, a média dos níveis de Pb-S foi de $29,37 \pm 14,35 \mu\text{g dL}^{-1}$ (14 pacientes com alelo ALAD 1 e 17 com ALAD 2). Já em relação aos 9 pacientes com outros tipos de tumores, foi observado os o níveis de Pb-S de $24,44 \pm 15,97 \mu\text{g dL}^{-1}$, (6 pacientes com alelo ALAD 1 e 3 com ALAD 2) (TAHA *et al.*, 2015).

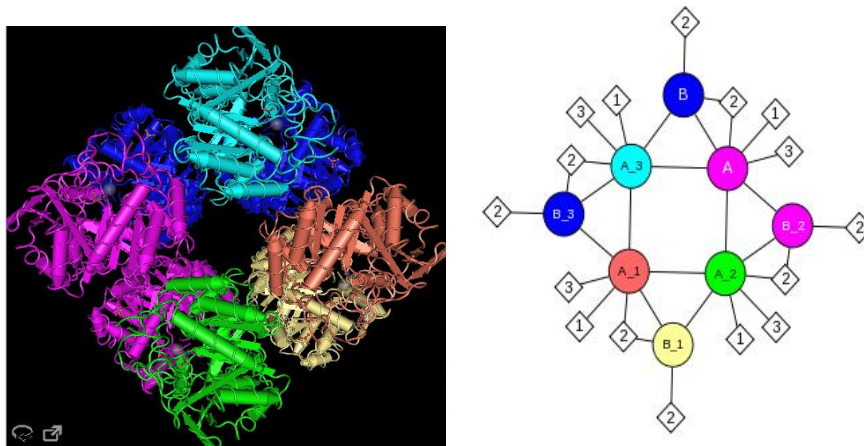
No estudo realizado na Nigéria, 12 pacientes com confirmação histopatológica para carcinoma ductal infiltrante apresentaram média de Pb-S de $6,1 \mu\text{g dL}^{-1}$ ($2,2-14 \mu\text{g dL}^{-1}$) e de chumbo no cabelo, de $23,8 \mu\text{g /g}$ ($5-67 \mu\text{g /g}$); nos 12 controles, foi de $5,0 \mu\text{g dL}^{-1}$ ($1,8 - 8,5 \mu\text{g dL}^{-1}$) e $10,3 \mu\text{g /g}$ ($0,76-26 \mu\text{g /g}$), respectivamente. A média de idade das participantes foi 50 anos. Os níveis de Pb-S apresentou correlação significativa positiva com o chumbo presente no tumor e com selênio no sangue. Já o chumbo em cabelo apresentou correlação positiva significativa com log de volume tumoral, IMC e correlação negativa com níveis de zinco e selênio em sangue. A paciente com nível de Pb-S de $14 \mu\text{g dL}^{-1}$ apresentou carcinoma estágio 4, metástase espinhal e foi a óbito (ALATISE & SCHRAUZER, 2010).

7 PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS DA ÁCIDO DELTA AMINOLEVULÍNICO DESIDRATASE (ALAD)

A enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (E.C. 4.2.1.24), também conhecida por porfobilinogênio sintetase, 5-ácido aminolevulínico desidratase ou ácido aminolevulinato desidratase, é uma metaloenzima, pertencente à classe das liases, subclasse das liases carbono-oxigênio, da sub-subclasse das hidrolases e da série da porfobilinogênio sintase (IUBMB, 2016).

A ALAD humana, localizada no citosol, é uma enzima multimérica, do tipo barril $\alpha\beta$ ou barril TIM, que possui 8 cadeias α -hélice e 8 cadeias β , com braço N-terminal interconectando as subunidades que a compõe. O tipo selvagem desta enzima possui conformação estrutural predominante em octâmero a pH 7, sendo formada por 8 subunidades iguais (figura 2). Cada subunidade (> 330 resíduos) possui de dois a três domínios, sendo constituída do braço N-terminal (> 25 resíduos); um domínio central $\alpha\beta$ barril, que contem o sítio ativo enzimático, a tampa do sítio ativo com início e término entre os resíduos de lisina; uma extensão C-terminal (~ 12-20 resíduos) (figura 2 e 3) (JAFJE, 2016; WARREN *et al.*, 1998).

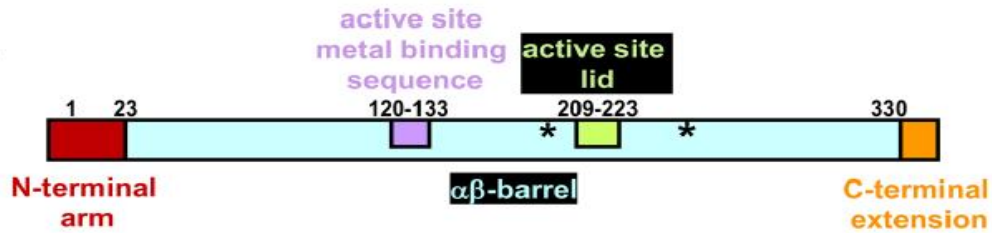
Figura 2 - Conformação estrutural octamérica da enzima nativa 5- ácido aminolevulínico desidratase, por difração de raios-X .



1. Zn^{+2} (Sítios de ligação do chumbo) . 2. Íon sulfato. 3. Ácido delta amino valérico. A.Cadeia α .
B. Cadeia β .

Fonte: NCBI, 2016

Figura 3 - Estrutura dos domínios da enzima ALAD humana

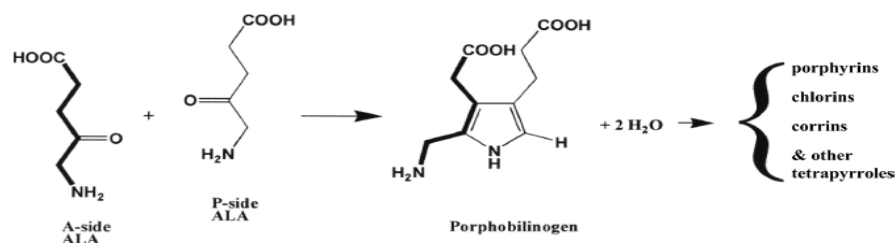


*Resíduos de lisina no sítio ativo da enzima ALAD

Fonte: Jaffe, 2016

Catalisa a reação de condensação de duas moléculas de ALA (ácido delta-aminolevulínico), resultando no porfobilinogênio, que corresponde a uma etapa comum a via de biossíntese dos tetrapirróis. O sítio ativo da enzima apresenta duas lisinas, que estão dispostas lado a lado. Uma molécula de ALA se liga ao sítio ativo da enzima que contém lisina e forma o lado da cadeia de porfobilinogênio, que contém propionato (sítio P), estabelecendo uma base de Schiff. Posteriormente, uma molécula de água se desprende do substrato e a outra molécula de ALA estabelece a ligação no outro sítio ativo da enzima, formando o lado da cadeia de porfobilinogênio que contém o grupo acetato (sítio A) (figura 4). Além de catalisar a síntese do heme, interage com o proteossoma 26 S, que é uma subunidade proteolítica que participa da via ubiquitina-proteossoma, realizando a degradação e oxidação de proteínas (TIAN, ERDTMAN, ERIKSSON, 2012; BADARG-GORCE & FRENCH, 2011; WARREN *et al.*, 1998).

Figura 4 - Reação catalisada pela porfobilinogênio sintase (PBGS) ou ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALAD)



Fonte: Jaffe, 2016.

Constitui o principal reservatório do chumbo presente no sangue e necessita do íon Zn^{+2} no seu sítio ativo. O zinco ativa a enzima quando está nas concentrações de 0,1 a 0,02 mM, porém a inibe quando atinge a concentração de 1,0 mM. Em cada subunidade enzimática, 4 íons de zinco se ligam ao sítio que contém elementos polares e resíduos de

lisina, chamado de sítio A, considerado como provavelmente o essencial para a atividade catalítica. Outros quatro íons de zinco se ligam ao sítio B, que possui resíduos de cisteína na extremidade C-terminal da tampa do sítio ativo, estabelecendo um local estreito para a associação de íons Pb^{+2} (figura 3) (JAFFE, 2016; BERGDAHL *et al.*, 1998; WARREN *et al.*, 1998).

A ligação do chumbo à enzima ocorre provavelmente através dos resíduos de cisteína, no sítio B, deslocando o zinco desta localidade. Foi observado em modelo de predição, baseado no estudo realizado com trabalhadores expostos ao chumbo, que até seis átomos de chumbo podem se ligar a 4 sítios enzimáticos que contem Zn^{+2} , relacionados à atividade catalítica, por octâmero, ou se ligarem aos oito sítios totais de ligação de Zn^{+2} presentes, sendo de 1 a 2 átomos de chumbo o suficiente para ocasionar o decréscimo da atividade enzimática em 50% (BERGDAHL *et al.*, 1998; WARREN *et al.*, 1998).

A afinidade da ALAD pelo chumbo é 25 vezes maior que a afinidade pelo zinco. O Zn^{+2} ativa a enzima com constante de Michaelis (Km) de $1,6 \pm 0,2$ pM e o chumbo a inibe com constante de ionização de $0,0065 \pm 0,009$ pM. Os eritrócitos apresentam níveis de íons Zn^{+2} intracelular em torno de 24 pM, com capacidade de ativar cerca de 95 % da atividade enzimática. Em geral, a atividade da enzima tem decréscimo de 50% quando a concentração de chumbo nos eritrócitos é de $30 \mu g dL^{-1}$, correspondendo a $15 \mu g dL^{-1}$ de chumbo sangue total. Em estudos com trabalhadores expostos ao chumbo ou em estudos *in vitro*, a inibição de 50% da atividade da enzima, em populações, ocorreu na faixa de $16,5 \mu g dL^{-1}$ a $25 \mu g dL^{-1}$ (BERGDAHL *et al.*, 1998; SIMONS, 1995).

Em estudo na França, com 241 mães e seus recém-nascidos, foi observado um limiar entre $3,2$ e $4,8 \mu g dL^{-1}$ para concentrações de chumbo no cordão umbilical, acima do qual poderia ocorrer inibição da ALAD materna, e, abaixo, a enzima seria insensível ou poderia ser ativada pelo chumbo (CAMPAGNA *et al.*, 1999). Em outra pesquisa, com 191 trabalhadores expostos ao chumbo e 26 não expostos, perceberam que concentrações de chumbo no sangue total maiores do que $5 \mu g dL^{-1}$ foram significativas para redução da atividade da ALAD e elevação do ALA sangue total (ALA-S) e plasmático (ALA-P) (SAKAI, 2000). Desta forma, a concentração de chumbo sangue total igual a $5 \mu g dL^{-1}$ foi considerada como valor limiar, nível sem efeito, a partir do qual se observa elevação dos níveis de ALA-S, ALA-P e inibição enzimática (SAKAI & MORITA, 1996).

A capacidade máxima de ligação de chumbo a ALAD nos eritrócitos seria de $850 \mu g L^{-1}$, correspondendo a $400 \mu g L^{-1}$ de chumbo sangue total, equivalente a uma fração de

chumbo citoplasmático livre Pb^{+2} de 15 pM. Para a inibição de 50% da enzima, seria necessário a concentração de 1 pM de chumbo citoplasmático livre Pb^{+2} (MURATA *et al.*, 2003; BERGDAHL *et al.*, 1998; SIMONS, 1995). Foi demonstrado, em estudos populacionais, que a atividade da enzima apresenta correlação negativa em níveis de Pb-S na faixa entre 5 a 95 $\mu\text{g dL}^{-1}$, sendo observado no biomonitoramento realizado em população portuguesa, com 70 trabalhadores expostos ao chumbo e 38 controles, que a inibição enzimática ocorreu de forma rápida e acentuada nos níveis de Pb-S entre 5 a 50 $\mu\text{g dL}^{-1}$ (GARCÍA-LESTÓN *et al.*, 2011; ATSDR, 2007).

Os inibidores da ALAD humana estão dispostos na tabela 4. A não inclusão do mercúrio entre os agentes inibidores deve-se ao fato de que foram observados falta de evidências científicas, de plausibilidade biológica entre a ação do mercúrio e a interferência da atividade da enzima humana, além de erros de registro em bases de dados (referências de estudos de inibição da enzima em animais indexadas em categoria da inibidores da enzima humana), sugerindo a necessidade de mais estudos populacionais que demonstrem uma associação plausível em humanos.

Tabela 4 - Inibidores da ALAD humana

Inibidor da ALAD	Autor e ano
1,1,2 -Tris-Organoselênio derivado do alceno	Borges <i>et al.</i> , 2007
2,3 dimercaptopropanol, 2,3 dimercaptopropano 1- ácido sulfônico meso 2,3 ácido dimercaptosuccínico	Nogueira <i>et al.</i> , 2004
5,5' – ditiobis (2- ácido nitrobenzóico)	Gibbs, Chaudhry, Jordan, 1985
7-(3-aminopentan-3-il)-5-cloroquinolin-8-ol	Lawrence <i>et al.</i> , 2009
bis(4-clorofenil)disseleneto bis(4-metoxifenil)disseleneto bis[3-(trifluorometri)fenil]disseleneto	Saraiva <i>et al.</i> , 2012
Carbonato	Choinieri <i>et al.</i> , 2010
D-frutose, D-glicose, D-ribose	Gabriel <i>et al.</i> , 2005
Disseleneto de difenila Ditelureto de difenila Ebselen	Nogueira <i>et al.</i> , 2003
EDTA	Gibbs, Chaudhry, Jordan, 1985
Fe⁺²	Anderson & Desnick, 1979
N-(3-metoxifenil)-1-metil-6-oxo-2- [(piridin-2-ilmetol) sulfanil]-1,6- dihidropirimidina-5-carboxamida	Lawrence <i>et al.</i> , 2009
Pb⁺²	Gibbs, Chaudhry, Jordan, 1985 Gibbs, Gore, Jordan, 1985 Hueckel & Beyersmann, 1985
piridoxal 5'-fosfato Zn⁺²	Anderson & Desnick, 1979 Anderson & Desnick, 1979 Choinieri <i>et al.</i> , 2010

Fonte: Baseado em BRENDA, 2016.

8 BIOMARCADORES

Biomarcadores compreendem substâncias e seus metabólitos, ou qualquer alteração bioquímica, fisiológica, molecular, que podem ser detectadas e mensuradas em fluidos biológicos, em tecidos ou em qualquer compartimento corporal, que possua uma correlação com a exposição a agentes químicos, físicos ou biológicos e com os efeitos produzidos em resposta a esta exposição (GRANDJEAN, 2012; STIMBU & TAVEL, 2010; AMORIM, 2003).

8.1 BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO

Um biomarcador de exposição compreende uma substância, um composto químico, ou um dos seus metabólitos, ao qual o indivíduo foi exposto, que pode ser detectado e mensurado em matrizes biológicas (GRANDJEAN, 2012; ATSDR, 2007; AMORIM, 2003). Os biomarcadores de exposição podem ser de dose interna ou de dose efetiva. Um biomarcador de exposição de dose interna indica a dose real da substância ou de um metabólito, dentro do organismo, representando as diferenças que cada indivíduo apresenta em termos de absorção, metabolismo, bioacumulação e excreção. Já o biomarcador de dose efetiva indica a quantidade de uma substância ou de seu metabólito que atingiu alvos celulares e moleculares (MUSSALI-GALANTE, 2013).

Constituem-se biomarcadores de exposição de dose interna para chumbo, a concentração de chumbo no sangue total (Pb-S) e a concentração plasmática de chumbo (Pb-P). São considerados biomarcadores de dose efetiva para chumbo os adutos de DNA formados diretamente ou indiretamente por este metal. O chumbo no sangue representa a dose interna e exposição recente. Retirando a fração de chumbo presente no plasma, a concentração de chumbo no restante do sangue indica a quantidade do metal que se encontra inserida nos eritrócitos, não refletindo os níveis do chumbo nos tecidos associados à toxicidade que o metal proporciona, não representando uma relação direta entre exposição e concentração tecidual disponível (MUSSALI-GALANTE, 2013, TIAN *et al.*, 2013; ATSDR, 2007).

A fração de chumbo plasmática, na forma iônica Pb^{+2} , corresponde à fração livre, biodisponível, que pode atravessar as membranas plasmáticas e atingir sítios alvo específicos, tendo relação direta com o chumbo liberado do osso. Portanto, a concentração de chumbo plasmático indica uma relação mais linear entre a exposição e a quantidade de substância

absorvida. Por isso, é um indicador de exposição mais adequado do que o chumbo no sangue, visto que reflete o conteúdo corpóreo do metal (TIAN *et al.*, 2013; ATSDR, 2007; MOREIRA & MOREIRA, 2004).

A concentração de chumbo no osso (Pb-O) é uma medida indicativa de exposição crônica a este metal. O plasma realiza a transferência do chumbo para dentro do osso, o que ocasiona a substituição do cálcio por chumbo dentro dos cristais de hidroxiapatita. O osso representa um compartimento de armazenamento, com mais de 90% do chumbo da carga corporal, sendo que, aproximadamente, 20% encontram-se no osso trabecular e 80%, no cortical (WONG *et al.*, 2015; ATSDR, 2007).

O mecanismo de remodelagem óssea mostra-se aumentado em estados fisiológicos de alterações hormonais tais como menopausa, gravidez e hipertireoidismo. Por esta razão, a mobilização do chumbo do osso é acelerada, aumentando a concentração do metal no plasma. Com isso, eleva-se o nível plasmático da fração livre de chumbo, disponível para ser distribuída entre órgão e sistemas. A determinação do chumbo no osso *in vivo* pode ser realizada utilizando o isótopo de cádmio 109 (^{109}Cd) por fluorescência de raios-X, incidindo sobre áreas em que há pouco tecido mole como porções média da tíbia, calcâneo e patela (WONG *et al.*, 2015).

A concentração de chumbo nos dentes representa um importante biomarcador de exposição ao chumbo para crianças, pois é possível estabelecer uma cronologia de exposição pelos dentes decíduos perdidos (GERLACH, 2009).

A concentração de chumbo na urina (Pb-U) como um biomarcador de exposição tem uso limitado na determinação individual desses níveis, pois é desfavorecido devido às variações na excreção diária de chumbo e dificuldades no estabelecimento de uma correlação entre o chumbo na urina e sangue. No entanto, este biomarcador pode ser aplicado nos estudos populacionais (MOREIRA & NEVES, 2008).

O chumbo na saliva não representa um biomarcador de exposição, por ser dependente do fluxo salivar e variar entre os indivíduos, além de não se correlacionar com os níveis de chumbo no sangue (DE SOUZA GUERRA *et al.*, 2015; MORTON *et al.*, 2014; STAFF, 2014).

8.2 BIOMARCADORES DE EFEITO

Biomarcador de efeito consiste em alterações bioquímicas, fisiológicas ou genéticas mensuráveis, que refletem os efeitos precoces ou efeitos clínicos no organismo, produzidos por substâncias ou compostos químicos com os quais o indivíduo teve contato e que já atuaram em sítios alvo (GRANDJEAN, 2012; AMORIM, 2003).

Uma das principais ações do chumbo no organismo é a inibição da síntese do heme. O metal pode inibir as atividades enzimáticas associadas a essa biosíntese, devido à sua afinidade pelos radicais sulfidríla presentes nas enzimas. Desta forma, os produtos de compostos degradados durante as reações catalisadas por estas enzimas se acumulam no organismo. Assim, a mensuração dessas substâncias é utilizada para avaliar a exposição ao chumbo (MOREIRA, 2010).

A síntese do heme em eucariotos, que ocorre por volta de 85% nos eritrócitos e cerca de 15% nos hepatócitos, representada na figura 5, inicia-se no interior da mitocôndria, pela união da succinilcoenzima A (succinil-COA) com a glicina, cuja reação é catalisada pela enzima aminolevulinato sintetase (ALAS). O produto dessa reação é o ácido 5 aminolevulínico (ALA), que migra da mitocôndria para o citosol, onde é convertido a porfobilinogênio, pela ação da enzima porfobilinogênio sintase ou ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD) (BARUPALA *et al.*, 2016; ALVES *et al.*, 2004, ONUKI *et al.*, 2002).

No citosol, o porfobilinogênio é transformado a hidroximetilbilano, pela atuação da enzima porfobilinogênio desaminase, também chamada uroporfirinogênio I sintetase (ONUKI *et al.*, 2002). O hidroximetilbilano se converte espontaneamente em uroporfirinogênio I, que é transformado pela enzima uroporfirinogênio descarboxilase em heptaporfirinogênio 1 (hepta 1), hexaporfirinogênio 1 (hexa1), pentaporfirinogênio 1 (penta1), até a forma de coproporfirinogênio I. Caso esse processo espontâneo não ocorra, o hidroximetilbilano sofre ação da enzima uroporfirinogênio III sintetase, sendo transformado em uroporfirinogênio III, que, por sua vez, é convertido pela enzima uroporfirinogênio descarboxilase a heptaporfirinogênio III (hepta 3), hexaporfirinogênio III (hexa III), pentaporfirinogênio III (penta III), até a forma de coproporfirinogênio III .O coproporfirinogênio III migra do citosol para a mitocôndria, sendo transformado em protoporfirinogênio IX pela enzima coproporfirinogênio oxidase (CPO) e, depois, convertido a protoporfirina IX. Por fim, a enzima ferroquelatase (FQ) catalisa a inserção do Fe ²⁺ no anel da protoporfirina IX para

formar o heme (figura 5) (BARUPALA *et al.*, 2016; ALVES *et al.*, 2004, ONUKI *et al.*, 2002).

O chumbo estimula a enzima mitocondrial ALAS a sintetizar mais ALA, fator limitante para a síntese do heme, visto que maiores concentrações deste elemento inibem essa síntese. O metal inibe de forma não competitiva a ALAD, ligando-se a grupos sulfidrilas em áreas do sítio ativo dessa enzima. Pode inibir a FQ por inibição não competitiva, ligando-se a grupos sulfidrilas desta enzima ou impedindo um transporte eficiente de ferro mitocondrial. Inibe também a CPO, pela ligação aos grupos sulfidrilas (ATSDR, 2007; IARC, 2006).

Com a inibição da ALAD, o ALA eleva-se no plasma e aumenta sua excreção urinária. Assim, a concentração do ácido delta aminolevulínico urinário (ALA-U) é um biomarcador de efeito para chumbo. O ALAU não representa um indicador sensível para baixos níveis de chumbo no sangue. Os níveis de ALAU diminuem, com o acréscimo de chumbo em sangue, quando a concentração de Pb-S está menor que $20 \mu\text{g dL}^{-1}$. Já o ALAU aumenta, com o acréscimo de Pb-S, quando o Pb-S é de cerca de $22,4 \mu\text{g dL}^{-1}$. O aumento expressivo de ALAU ocorre quando Pb-S for de $35,5 \mu\text{g dL}^{-1}$. A partir de estudos, foi considerado que o limiar a partir do qual se eleva os níveis de ALA-U em homens foi de $21,7 \mu\text{g dL}^{-1}$ e em mulher de $28,6 \mu\text{g dL}^{-1}$. A concentração de Pb-S que em homens excede o limite superior dos níveis normais, em 95 % , foi de $62 \mu\text{g dL}^{-1}$, e , em mulheres, de $50 \mu\text{g dL}^{-1}$, sendo o Pb-S de $58 \mu\text{g dL}^{-1}$ o valor para homens e mulheres, no geral (WANG *et al.*, 2010).

Outro biomarcador de efeito é a atividade da enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD). A inibição da ALAD ocorre para níveis de chumbo no sangue menores do que $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ (ATSDR, 2007; IARC, 2006). Observa-se correlação negativa da atividade da ALAD com concentração de chumbo no sangue na faixa de 5 a $90 \mu\text{g dL}^{-1}$ (ATSDR, 2007).

O consumo de álcool e o hábito de fumar podem ocasionar interferência na atividade da ALAD, bem como algumas doenças hepáticas, diabetes, hipotireoidismo e cirrose (ATSDR, 2007). Todos estes fatores e outros desconhecidos atuam como fatores de confundimento na relação exposição ao chumbo e efeito, podendo alterar a atividade da ALAD de forma direta ou indireta pela interação com o chumbo (WANG *et al.*, 2010). O impacto destes fatores sob a atividade da ALAD pode ser mais intensa que a promovida pelo chumbo em níveis baixos, de modo que a relação de níveis baixos a moderado de chumbo e a atividade da ALAD pode ser não linear (WANG *et al.*, 2010).

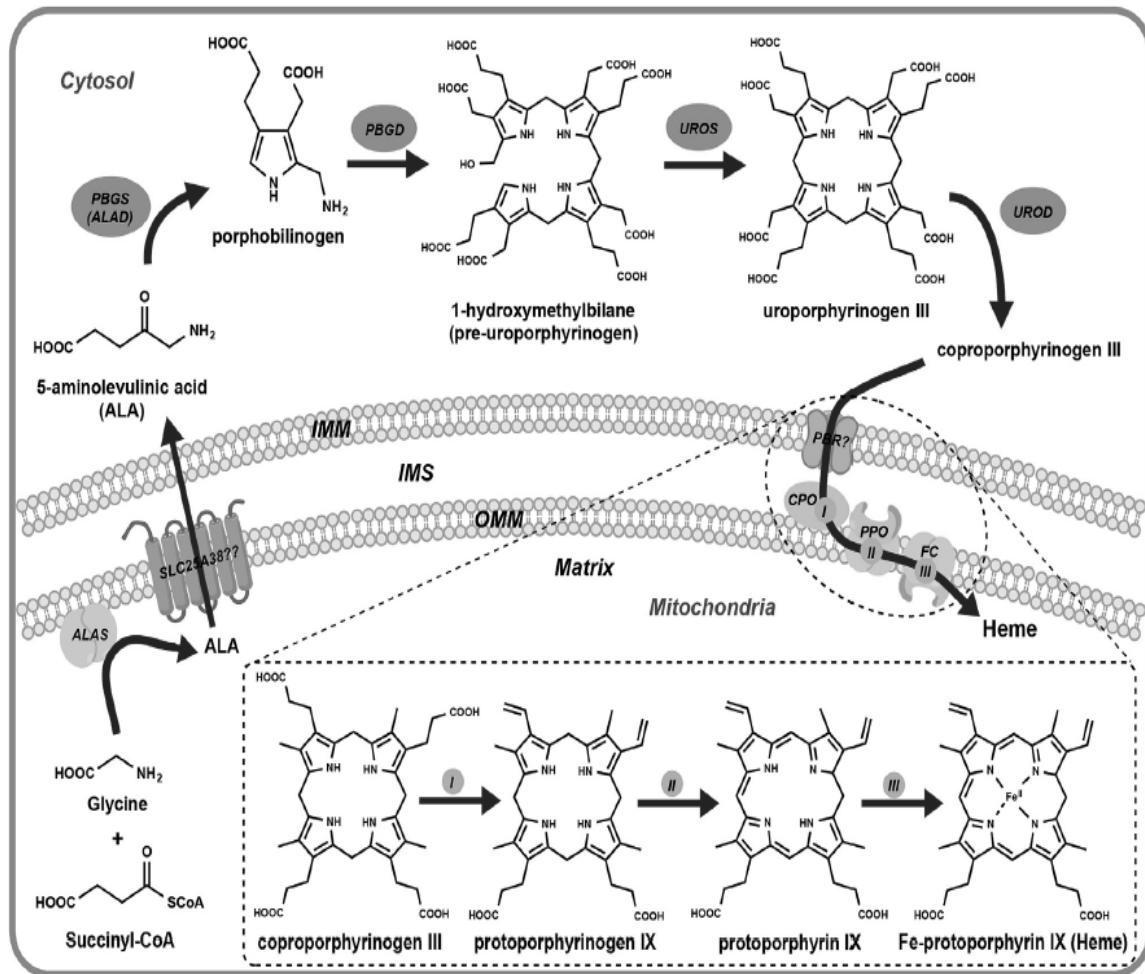
Um estudo realizado com pacientes recrutados no Hospital em Santa Maria, RS, avaliou 92 pacientes, sendo 29 controles. Entre os restantes, 11 pacientes eram diabéticos compensados; 23, não compensados para diabetes; 19, compensados para hipertireoidismo; 10, não compensados para hipertireoidismo. A atividade da ALAD em pacientes não compensados para diabetes estava reduzida em 50%, em comparação com os pacientes diabéticos compensados. Quanto aos pacientes com hipotireoidismo não compensados, a atividade da ALAD foi maior do que aquela encontrada no grupo controle, pacientes com hipotireoidismos compensados e ambos os grupos de diabéticos (SOUZA, 2004).

O chumbo diminui a atividade da ferroquelatase por sua ligação aos radicais sulfidrilas ou por impedir o transporte de ferro na mitocôndria. Assim, não há a formação do heme sem o ferro na Protoporfirina IX, que acaba por se ligar ao zinco, formando a zinco protoporfirina (ZPP), presente nos eritrócitos circulantes e ligada ao grupo heme da hemoglobina. A ZPP eritrocitária representa um biomarcador de efeito para chumbo (ORTEGA *et al.*, 2013). Os níveis de ZPP começam a aumentar quando se observam concentrações de chumbo no sangue na faixa entre 15-20 $\mu\text{g dL}^{-1}$ em mulheres e 20-30 $\mu\text{g dL}^{-1}$ em homens (IARC, 2006).

Como o chumbo também inibe a CPO, através da ligação ao seu grupamento sulfidrilas, não há a conversão do coproporfirinogênio III em protoporfirinogênio IX, e sim, sua oxidação à coproporfirina III, elevando sua concentração sanguínea e aumentando a excreção urinária deste composto. A coproporfirina III representa um biomarcador de efeito para chumbo e os seus níveis elevam-se na urina, quando a concentração de chumbo no sangue atinge 40 $\mu\text{g dL}^{-1}$ (IARC, 2006).

As substâncias porfirinogênicas, os efeitos na síntese do heme e porfirinas excretadas estão representadas na tabela 4.

Figura 5 - Síntese do Heme



ALA: Ácido 5-aminolevulinico; ALAS: ALA sintetase; PBGS: porfobilinogênio sintetase; ALAD: ALA desidratase; PBGD: porfobilinogênio desaminase; UROS: uroporfirinogênio sintetase; UROD: uroporfirinogênio decarboxilase; PBR: receptor periférico tipo benzodiazepínico; CPO: coproporfirinogênio III oxidase; PPO: protoporfirinogênio IX oxidase; FC: Ferroquelatase; IMM: Membrana Mitocondrial Interna; IMS: Espaço Intermembrana; OMM: Membrana Mitocondrial Externa.

Fonte: Barupala *et al.*, 2016.

Tabela 5 - Agentes químicos porfirinogênicos, efeitos produzidos na síntese do heme e tipos de porfirinas excretadas

Agente químico porfirinogênico	Efeito produzido	Porfirinas excretadas
Hexaclorobenzeno (HCB)	Inibição da uroporfirinogênio descarboxilase hepática (URO-D)	Aumento de uroporfirina (URO) e heptaporfirinas (HEPTA)
Pentaclorofenol (PCP)	Inibição da uroporfirinogênio descarboxilase hepática (URO-D)	Aumento de hexaporforina (HEXA), heptaporfirina (HEPTA) pentaporfirina (PENTA) coproporforina (COPRO)
Dioxinas	Inibição da uroporfirinogênio descarboxilase hepática (URO-D)	Aumento de uroporfirina (URO) e coproporforina (COPRO)
Arsênio	Aumento da atividade da porfobilinogênio desaminase (PBG-D) e uroporfirinogênio descarboxilase (URO-D) dos eritrócitos	Aumento de coproporforina III (COPRO III) e uroporfirina III (URO III) Aumento de COPRO/URO e COPRO III/COPRO I
Mercúrio	Alteração do metabolismo das porfirinas nas células renais dos túbulos proximais	Aumento de pentaporfirina (PENTA) e coproporforina (COPRO) e de uma espécie intermediária denominada de pré-coproporfirina
Chumbo	Inibição da ALAD Inibição da coproporfirinogênio oxidase Inibição da ferroquelase	Aumento de ZPP nos eritrócitos, excreção urinária de ALA e coproporfirina

Fonte: Baseado em Alves *et al.*, 2004.

8.3 BIOMARCADORES DE SUSCETIBILIDADE

Biomarcadores de suscetibilidade são elementos constituintes do organismo, definidos por fatores genéticos ou epigenéticos, que vão resultar em uma predisposição para um organismo responder de certa maneira à ação de um elemento xenobiótico (GRANDJEAN, 2012; AMORIM, 2003).

Entre os 19 genes envolvidos na toxicocinética do chumbo, quatro se destacam, que são o gene que codifica a enzima ALAD, o gene do receptor de vitamina D (VDR), o gene da hemocromatose (HFE) e o gene que codifica a glutatona peroxidase (GPx). Os polimorfismos ocorridos nestes genes são utilizados como biomarcadores de suscetibilidade para chumbo (DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015; PAWLAS *et al.*, 2012; GUNDACKER *et al.*, 2010).

O gene que codifica a enzima ALAD é polimórfico e localiza-se no cromossomo 9q33.1. A ALAD é expressa em todos os tecidos, com concentrações maiores nos eritrócitos e no fígado, possuindo três fenótipos, ALAD1-1, ALAD 1-2, ALAD 2-2. Além da função relacionada à síntese do heme, estudos demonstram que a ALAD pode atuar como subunidade reguladora de proteossomas, no controle da degradação de proteínas (NCBI, 2016; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2012; BADARG-GORCE & FRENCH, 2011; VAN BEMMEL *et al.*, 2011).

O polimorfismo da ALAD do tipo Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) mais conhecido é o rs1800435, em que há a transversão da Guanina por Citosina na posição 177, resultando na mudança do aminoácido lisina por asparagina na ALAD. Os indivíduos portadores deste polimorfismo podem apresentar o alelo ALAD1, e/ou o alelo ALAD 2, e os genótipos homozigotos CC ou ALAD 1-1, GG ou ALAD 2-2; ou heterozigoto CG ou ALAD 1-2. (NCBI, 2016; DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; KRIEG JR *et al.*, 2009).

Estudos demonstraram que os portadores do alelo ALAD 2 possuem maiores níveis de chumbo no sangue, porém, menor biodisponibilidade do metal. Desta forma, o chumbo tem menor distribuição para os tecidos nervosos, resultando em menos efeitos neurotóxicos. Indivíduos com alelo ALAD 2 apresentam maior quantidade de chumbo na placenta e menor quantidade no fígado. Em estudo com 257 trabalhadores em fábricas de bateria no Brasil foi observada correlação significativa entre portadores do alelo ALAD 2 e menor atividade da ALAD (DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015). Os indivíduos com alelo polimórfico podem apresentar ligação mais forte ao chumbo no eritrócito, em relação aos portadores do alelo

ALAD 1, menor concentração plasmática de ALA e menores níveis de ALA-U. Efeitos renais mais severos para portadores de alelo ALAD-2 têm sido observado. Por outro lado, pesquisas também já demonstraram que os portadores do alelo ALAD-1 apresentam maiores concentrações de chumbo biodisponível e efeitos neurotóxicos mais graves (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015; VAN BEMMEL *et al.*, 2011).

A ocorrência do alelo 2 na população, em geral, é baixa, tendo maior frequência em caucasianos, alcançando 20% (tabela 6 e 7). Em países da África e da Ásia, a frequência é rara, sendo observada a não ocorrência do alelo 2 com mais frequência na China, Malásia e Mongólia. Já em países como a Índia, Nepal, Sri Lanka e Turquia, o genótipo ALAD 2-2 tem sido detectado, em estudos do polimorfismo rs1800435, com populações não expostas e expostas ocupacionalmente (tabela 6 e 7). Indivíduos com alelo 2 polimórfico apresentaram diminuição do risco relativo ajustado para mortalidade por todas as causas e por câncer em relação aos portadores do alelo selvagem, demonstrando que o genótipo da ALAD pode possuir relação com a diminuição de mortalidade por qualquer causa, incluindo aquela por câncer. (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015; WAN *et al.*, 2014; YAN, WU, SUNG, 2012; VAN BEMMEL *et al.*, 2011; FUJIHARA *et al.*, 2009; CHIA, YAP, CHIA, 2004; SÜZEN, 2001).

No Brasil, no estudo realizado do polimorfismo rs1800435 da ALAD, em população de 332 indivíduos da comunidade amazônica, residentes às margens do rio Tapajós, com exposição ambiental concomitante para chumbo e mercúrio, foi constatado a frequência genotípica de 95% para ALAD 1-1, 5% para ALAD 1-2 e a não presença do ALAD 2-2, como esperado em populações das Américas. No estudo com 119 brancos e 115 negros, de Bauru, São Paulo, sem exposição ocupacional, foi encontrada diferença significativa interétnica na distribuição dos genótipos, sendo o alelo ALAD 2 com mais ocorrência em brancos (12%) do que em negros (4%) (tabela 6 e 7), estando de acordo com o verificado em outros países (BARCELOS *et al.*, 2014; MONTENEGRO *et al.*, 2006b).

Já para a população exposta no Brasil, em estudo realizado com 278 trabalhadores de fábricas de bateria automotiva do Paraná, sendo 125 brancos, 110 pardos, 36 negros e 7 de outras etnias não especificadas, foi observada frequência para o genótipo ALAD 1-1 de 87 %, para ALAD 1-2 de 32% e de ALAD 2-2 de 1%, semelhante as frequências observadas no estudo com os 119 indivíduos brancos, não expostos ocupacionalmente, residentes em Bauru, São Paulo (MARTINS JUNIOR, 2014; MONTENEGRO *et al.*, 2006b).

O gene que codifica o VDR, receptor da vitamina D3, controla a homeostase de cálcio e fosfato, regula metabolismo ósseo e o armazenamento de cálcio neste compartimento, atua no processo de absorção do cálcio no intestino, apresentando também funções imunossupressoras, de estímulo a apoptose e de inibição de proliferação celular. Como a absorção de chumbo é influenciada pelas concentrações de cálcio no organismo, os polimorfismos do gene VDR consistem em importantes marcadores biológicos de suscetibilidade para o metal. Existem dois alelos para o receptor VDR, o B e o b, que resultam em três fenótipos BB, Bb e bb. Indivíduos com o polimorfismo VDR, que possuem o alelo B apresentam concentrações mais elevadas de chumbo no sangue, osso e urina do que aqueles com alelo b (SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; PAWLAS *et al.*, 2012; GUNDAKER *et al.*, 2010).

Hemocromatose hereditária é uma doença autossômica recessiva comum em caucasianos, que ocorre devido a polimorfismos do gene da proteína HFE, que está associada à regulação da absorção de ferro no organismo, controlando também a absorção de chumbo. A falta desta proteína resulta em aumento da absorção de ferro e maior acúmulo de chumbo no organismo, levando a insuficiência hepática e doenças cardíacas. Com as alterações polimórficas do gene da HFE, pode ocorrer maior captação de chumbo, levando ao aparecimento de sintomas ligados a toxicidade de chumbo como neuropatia e desmineralização óssea (NCBI, 2016; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; GUNDAKER *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2009).

Os indivíduos, que apresentam o polimorfismo C282Y, podem ser homozigóticos CC, com expressão fenotípica da HFE, contendo cisteína; heterozigótico CY, com expressão fenotípica da HFE, contendo cisteína e tirosina; homozigótico YY, com expressão fenotípica da HFE, apresentando apenas tirosina. Grande parte dos estudos demonstrou que os indivíduos que são homozigóticos CC, possuem maiores níveis sanguíneos de chumbo, e os homozigóticos YY, possuem menores concentrações de ZPP. Porém, no estudo de Wright e colaboradores (2004), concentrações menores de chumbo no sangue foram observadas em indivíduos homozigóticos CC, indicando que algumas variáveis, como a idade, podem influenciar na absorção do chumbo, independente da ocorrência de polimorfismo (SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015).

Já os indivíduos com polimorfismo H63D, podem ser homozigóticos HH, com expressão fenotípica da HFE contendo histidina; heterozigóticos HD, com expressão fenotípica da HFE, contendo histidina e aspartato; e homozigóticos DD, com expressão

fenotípica da HFE, possuindo aspartato. A maioria dos estudos demonstrou que os portadores do alelo D possuem concentrações elevadas de chumbo no sangue e os heterozigotos HD apresentam altos níveis de ZPP. No entanto, outra pesquisa (WRIGHT *et al.*, 2004) constatou menor nível de chumbo em indivíduos homozigóticos HH, demonstrando que fatores como a idade podem influenciar na absorção de chumbo, independentemente da ocorrência de polimorfismo (SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015).

A enzima glutationa peroxidase 1 (GPx1) é uma selenoenzima com função antioxidante, atuando no processo de detoxificação do peróxido de hidrogênio. A exposição ao chumbo induz o estresse oxidativo, podendo inibir a atividade da GPx1 (NCB1, 2016; DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015; SILVA, 2008).

Na pesquisa em que foram avaliados 278 trabalhadores de fábricas de bateria expostos ocupacionalmente ao chumbo, não foi encontrada associação entre a presença do polimorfismo rs180068 e a atividade de GPx. Entretanto, foi observada associação significativa positiva entre o genótipo ALAD 1-1 do polimorfismo rs1800435 e a atividade da ALAD. Da mesma forma, foi constatada correlação negativa para os níveis de chumbo no sangue com atividade da ALAD e da GPx (MARTINS JUNIOR, 2014).

Na avaliação de 257 destes trabalhadores, observou-se que a presença do polimorfismo rs180068 não influenciou na regulação das atividades da GPx1 e nos níveis de chumbo no sangue. Já o polimorfismo rs1800435 influenciou no controle de atividades da ALAD. Embora o polimorfismo do gene da ALAD não tenha influenciado os níveis de chumbo no sangue, as concentrações sanguíneas deste metal foram capazes de influenciar a atividade da ALAD, mas não da GPx (DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015).

Tabela 6 - Frequência genotípica do polimorfismo rs1800435 da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALAD), em população adulta exposta ocupacionalmente ao chumbo, de diferentes países

País	Autor/ano	População (n)	ALAD 1-1 CC %	ALAD 1-2 CG %	ALAD 2-2 GG %
Brasil	Martins Junior, 2014	278	87.00	12.00	1.00
Portugal	García-Lestón <i>et al.</i> , 2012	148	96.20	2.30	1.50
China	Wan <i>et al.</i> , 2014	156	93.59	6.41	0.00
	Yan, Wu, Sung, 2012	156	93.59	6.41	0.00
	Zheng <i>et al.</i> , 2011	184	92.93	7.07	0.00
		177	91.70	7.94	0.36
	Chia, S-E, Yap, Chia, K-S, 2004	54	96.40	3.60	0.00
Malásia	Chia, S-E, Yap, Chia, K-S, 2004	30	83.30	16.70	0.00
Índia	Chia, S-E, Yap, Chia, K-S, 2004	23	82.10	14.30	3.60

Tabela 7 - Frequência genotípica do polimorfismo rs1800435 da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALAD), em população adulta não exposta ocupacionalmente ao chumbo, de diferentes países

País	Autor/ano	População (n)	ALAD	ALAD	ALAD
			1-1 CC %	1-2 CG %	2-2 GG %
	Barcelos <i>et al.</i> , 2014	332	95.00	5.00	0.00
Brasil	Montenegro <i>et al.</i> , 2006b	Negros (115)	92.00	0.07	0.00
		Branco (119)	81.00	0.17	1.00
México	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	Indígenas Nahuas (94)	98.91	1.09	0.00
		Indígenas Huicholes (92)	100	0.00	0.00
Áustria	Gundacker <i>et al.</i> , 2009	324	82.6	17.1	0.12
Espanha	Moreira <i>et al.</i> , 2012	68	80.90	19.10	0.00
Portugal	García-Lestón <i>et al.</i> , 2012	107	86.70	13.30	0.00
	Moreira <i>et al.</i> , 2012	295	85.80	14.20	0.00
África do Sul	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	101	100	0.00	0.00
Gana	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	122	100	0.00	0.00
Namíbia	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	196	100	0.00	0.00
China	Zheng <i>et al.</i> , 2011	86	98.84	1.16	0.00
		89	96.63	3.37	0.00
Mongólia	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	222	95.95	4.05	0.00
Nepal	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	Katmandu(178)	92.70	6.74	0.56
		Kotyang (53)	81.13	16.98	1.89
Sri Lanka	Fujihara <i>et al.</i> , 2009	39	72.22	22.22	5.56
Turquia	Süzen, 2001	61	65.6	31.10	3.30

9 METODOLOGIA

9.1 DESENHO DO ESTUDO

O trabalho em questão consistiu em um estudo seccional, correspondendo a um projeto piloto, atendendo ao cumprimento de objetivos específicos associados à exposição a chumbo, definidos no projeto matriz intitulado “Impacto causado por resíduos industriais à saúde da população residente em condomínio habitacional de Volta Redonda, RJ”.

9.2 LOCAL DA PESQUISA

O local do estudo foi Condomínio Volta Grande IV, situado em Volta Grande (-22.483057,-44.073402), Volta Redonda, RJ, em área cadastrada no INEA como contaminada, sob intervenção (figura 6). Volta Redonda está localizada ao sul do Estado do Rio de Janeiro, possui uma área de 182,483 Km²; população de 257.803 habitantes em 2010 e densidade demográfica igual a 1.412,75 habitantes por Km². Volta Grande IV, compreende dois setores, dentro do Bairro Santo Agostinho (figura 7) e uma faixa relativa à rua 100, que não foi incluída no setor 2, no Censo 2010. O setor 1 (330630505000293) está situado no encontro da rua 220 e a 1043, enquanto o setor 2 (330630505000481) está situado no encontro da rua 140 e a 1043 (IBGE,2010). De acordo com o Censo 2010, o setor 1 possui 721 residentes, 241 domicílios particulares e coletivos, razão de sexo de 103,1, com 50,8% de homens e 49,2% de mulheres, representando 0,3 % da população de Volta Redonda. Já o setor 2 apresentava 915 residentes, 297 domicílios particulares e coletivos, razão de sexo de 97,62, com 50,6 % de homens e 49,4% de mulheres, representando 0,4% da população de Volta Redonda.

Diversos empreendimentos se situam nas adjacências do local da pesquisa. Entre os raios de 1 e 3,5 km, se encontram, do mais próximo para o mais distante, fábrica de blocos de cimentos, indústria Harsco Metals e indústria de incoflandres Cinbal. Por outro lado, os aterros industriais Márcia I, Márcia II, Márcia III, Márcia IV, Wandir I e II, CESBRA Química e Votorantim Cimentos estão localizados entre 4 e 5 Km. Nos raios de 6 e 11 Km, podem ser encontradas a Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) e a indústria Cimentos Tupi, respectivamente, enquanto que a Saint Gobain Canalizações está no raio de 14 Km. Todos os empreendimentos citados, exceto a Harsco, Cinbal e a Cesbra, constam no cadastro de áreas contaminadas no INEA (INEA, 2015).

9.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

O n amostral para o projeto matriz é de 326 moradores, considerando erro amostral de 5% e intervalo de confiança de 95%. O projeto piloto foi aplicado em 27 indivíduos.

9.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO

Para este estudo, população maior de 18 anos e residente no Condomínio Volta Grande IV há mais de 6 meses foram utilizados como critérios de inclusão, enquanto que mulheres grávidas e indivíduos que tivessem qualquer patologia genética ou hereditária relacionada aos órgãos-alvo da toxicidade do chumbo foram excluídos.

Foi considerado o período maior que seis meses o tempo mínimo para um indivíduo, uma vez exposto ambientalmente a metais, como o chumbo, possa exibir algum efeito adverso. Mulheres grávidas foram excluídas do estudo devido ao processo de remodelagem óssea que sofrem neste período, associado a alterações hormonais, podendo liberar o chumbo do osso para o sangue, elevando as concentrações sanguíneas do metal.

O projeto matriz apresentava como critério de exclusão mulheres acima de 45 anos, devido ao aumento do processo de reabsorção óssea durante a menopausa, pela queda de estrogênio e a possibilidade de maior mobilização do chumbo da matriz óssea para o sangue. Da mesma forma, era previsto a exclusão da população masculina, com idade superior a 59 anos, que corresponderia ao período de andropausa, em que há maior reabsorção óssea pela queda de testosterona e também de estradiol. Isso resultaria em dados elevados de chumbo em sangue por razões exclusivamente fisiológicas e não relacionadas à exposição ambiental. Todavia, como o número amostral foi reduzido e a maioria da população do estudo foi na faixa de 40 a 50 anos, optou-se por avaliar todos adultos e, no momento da discussão dos resultados, considerar estas questões da inclusão da população nesta faixa de idade.

9.5 COLETA DE DADOS

A coleta de dados sociodemográficos da população, bem como dados ocupacionais, hábitos sociais, histórico médico e familiar, avaliação de fontes de exposição a chumbo foi realizada por meio de um questionário validado, aplicado no dia 26 de junho de 2016, aos 27 moradores, das 19 casas selecionadas para o projeto piloto. Foi acordada com a Secretaria de Saúde Municipal de Volta Redonda (SMS/VR) a aplicação de um questionário clínico, por

médicos da rede municipal de saúde, que seria realizado a partir da convocação dos moradores a Unidade Básica de Saúde local. Porém, poucos moradores compareceram a unidade, não sendo possível efetuar esta análise. Desta forma, as questões médicas dos moradores foram obtidas a partir do relato dos moradores, pelas perguntas do questionário que contemplavam esta avaliação.

Todos os indivíduos concordantes em participar da pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido, atendendo ao disposto na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Foi criado um banco de dados para o lançamento dos resultados, por meio de um arquivo digital, atribuindo um código a cada indivíduo, não permitindo, desta forma, a identificação dos participantes da pesquisa.

9.6 EXPERIMENTAL

9.6.1 Instrumental

A determinação de chumbo em sangue total, plasma e urina foi realizada no espectrômetro de absorção atômica PinAAcle 900Z, com corretor de fundo Zeeman longitudinal, amostrador automático AS900, tubo de grafite pirolítico com “end cap”, lâmpada de catodo oco Lumina (todos Perkin Elmer), fenda espectral de 0,7 nm, comprimento de onda igual a 283,3 nm, e argônio como gás de purga.

Os programas de temperatura utilizados para determinação de chumbo em sangue, plasma e urina estão dispostos nas tabelas 2, 3 e 4, respectivamente.

Tabela 8 - Programa de temperatura para determinação do chumbo em sangue

Etapas de aquecimento	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Hold	Fluxo de gás (L min ⁻¹)
1	110	1	10	250
2	150	20	30	250
3	900	10	20	250
4	1900	0	4	0
5	2450	1	3	250

Tabela 9 - Programa de temperatura para determinação do chumbo em plasma

Etapas de aquecimento	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Hold	Fluxo de gás (L min ⁻¹)
1	100	1	10	250
2	130	25	30	250
3	800	10	20	250
4	1700	0	5	0
5	2450	1	5	250

Tabela 10 - Programa de temperatura para determinação do chumbo em urina

Etapas de aquecimento	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Hold	Fluxo de gás (L min ⁻¹)
1	100	1	20	250
2	130	20	20	250
3	1300	10	10	250
4	1600	0	5	0
5	2450	1	5	250

Para a determinação da atividade da ALAD foi utilizado o espectrofotômetro 1601-A UV- Visível (Shimadzu), em comprimento de onda igual a 555 nm, enquanto que o 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) e centrífuga refrigerada NT 825 (Nova Técnica) foram utilizados para a genotipagem do polimorfismo rs1800435.

9.6.2 Descontaminação do material

Todo o material empregado nas análises de Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD foi descontaminado. Inicialmente, o material foi imerso em solução de Extran 5% (v/v), por um período de 24 horas. Em seguida, esse material foi enxaguado em água corrente abundantemente, e transferido para uma cuba contendo solução de ácido nítrico 10% (v/v). Após 48 horas, o material foi lavado copiosamente com água Milli-Q e levado para secagem em estufa a 40 °C.

9.6.3. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram, pelo menos, de grau analítico (P.A.). As soluções analíticas de chumbo eram preparadas diariamente em ácido nítrico 0,2% (v/v) (Merck) por diluições adequadas da solução estoque de 1000 µg mL⁻¹ de chumbo (Merck).

Na preparação do modificador foi utilizada uma mistura de nitrato de magnésio 10 g L^{-1} e nitrato de paládio 10 g L^{-1} , também Merck, diluída em ácido nítrico 0,2% (v/v), de modo a conter $10 \mu\text{g}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e $15 \mu\text{g}$ de Pd metálico em $10 \mu\text{L}$ de solução dentro do forno.

O sangue total e o plasma foram diluídos em Triton X-100 0,1% (v/v) (Merck), enquanto que ácido nítrico 0,2% (v/v) foi utilizado na diluição da urina.

Para a determinação da atividade da ALAD foram utilizados tampão de fosfato de potássio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6,4 (Merck), ditioneitol (DTT) (Sigma-Aldrich), ALA $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich), ácido tricloroacético (TCA) (Sigma-Aldrich) 60 g L^{-1} e cloreto de mercúrio (HgCl_2) $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich), reagente de Erlich (4 dimetilaminobenzaldeído (DAB) $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck), ácido acético $8,4 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido perclórico 60% (Merck).

Para extração de DNA, foi utilizado o kit Genomic DNA extraction (Real Biotech Corporation). Para a genotipagem do polimorfismo, foram utilizadas as sondas e primers Taqman® SNP Genotyping Assays, código c__11495146_10 (Applied Biosystems) e o mix TaqMan® Genotyping Master Mix, (Applied Biosystems).

9.6.4 Coleta de amostras e armazenamento

A coleta de amostras de sangue e urina dos participantes da pesquisa foi efetuada por membros da SMS/VR, nos dias 02, 09 e 11 de agosto de 2016, nas residências dos próprios moradores. As amostras de sangue foram coletadas em dois tubos heparinizados de 7 mL, próprios para análise de traços, enquanto que amostras de urina foram colhidas em frascos coletores descontaminados.

Como a determinação da atividade da ALAD é uma análise que deve ser realizada em sequência a coleta de sangue, sem armazenamento em freezer ou geladeira, a fim de evitar a perda da estabilidade da enzima, o transporte das amostras de sangue foi realizado de imediato pelos membros da SMS/VR, juntamente com os frascos de urina para o Laboratório de Metais e Efeitos do CESTE, a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Os tubos de sangue e urina foram identificados com o nome dos moradores e endereço das residências. De um dos tubos de sangue, eram retiradas alíquotas de $100 \mu\text{L}$, para a análise imediata da atividade da ALAD, e de $500 \mu\text{L}$, armazenadas a -20°C e posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Pesquisa de Ciências Farmacêuticas, no Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, para análise do polimorfismo rs1800435. A fração

restante desse tubo também era mantida armazenada a -20°C para posterior determinação de chumbo em sangue total. O outro tubo era disposto na bancada por 30 minutos e, em seguida, centrifugado a 1800 rpm, por 10 minutos, retirado o sobrenadante (plasma) e armazenado a -20°C .

9.6.5 Preparação das amostras

9.6.5.1 Determinação da concentração de chumbo

O sangue total foi diluído em Triton X-100 0,1% (v/v), na proporção de 1+9, enquanto que uma diluição de 5 vezes, também em Triton X-100 0,1% (v/v), foi utilizada no plasma. Já a urina foi diluída 1+4 em ácido nítrico 0,2% (v/v).

9.6.5.2 Determinação da atividade do ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD)

O estudo de avaliação da estabilidade da enzima a baixa temperatura, a fim de verificar a viabilidade de armazenamento da amostra em nitrogênio líquido ou, em geladeira, freezer e ultrafreezer, ocorreu nos dias 23 e 29 de junho de 2016. Foi realizada a coleta de 7mL de sangue de voluntário saudável e não exposto ocupacionalmente ao chumbo, sendo transferidos 1mL, em cada eppendorf, que foram armazenados em geladeira (2 a 8°C), freezer (-6 a -10°C) e ultrafreezer (-20°C). O restante do sangue coletado seguiu para a análise imediata da atividade da ALAD.

Para análise da atividade da ALAD foi aplicado o método modificado de Sakai *et al.*, 1980 e de Wigfield & Farant, 1981, empregado no protocolo no CESTE. Para o cálculo da determinação da atividade, foi utilizado o método padronizado europeu.

Todos os reagentes eram preparados no dia anterior às análises e armazenados de acordo com as características de cada substância. Apenas o preparo do reagente de Erlich era realizado no dia da análise, e o restante não utilizado, dispensado, uma vez que o seu armazenamento não era recomendado por todas as metodologias de análise de ALAD. Os tubos de análise foram divididos em três grupos: branco, enzima ativada e enzima inativada.

Aos três tubos, eram adicionados 100 μL de sangue total, 250 μL de TritonX-100 0,1% (v/v) (Merck) e 150 μL de água do tipo 1 Milli-Q (Millipore Corporation), agitados por 60 segundos em vórtex e incubados em gelo por 5 minutos. Nos tubos do branco e enzima inativada, o volume era completado com 500 μL de água de Milli-Q (Millipore Corporation)

enquanto que o DTT era adicionado apenas no tubo da enzima ativada. Em seguida, os tubos passavam por nova agitação no vórtex durante 30 segundos. Na sequência, 500µL do tampão de fosfato, 1000 µL da solução do ácido tricloroacético e cloreto de mercúrio (TCA/HgCl₂), 500µL de ALA eram misturados, agitados por 30 segundos e centrifugados a 3000 rpm, por 5 minutos, sem acréscimo posterior de TCA/HgCl₂ no tubo do branco e com acréscimo aos tubos das enzimas ativada e inativada. Posteriormente, os tubos passavam por agitação no vórtex por 30 segundos e centrifugados a 3000 rpm, por 5 minutos. De cada tubo, uma alíquota de 1000µL do sobrenadante era retirada e acrescentada à 1000µL do reagente de Erlich. Finalmente, essa solução era agitada por 15 segundos, incubada à temperatura ambiente por 45 minutos e levada para leitura.

9.6.5.3 Extração de DNA

Uma alíquota de 200 µL de sangue foi utilizada na extração de DNA, com o auxílio do kit de extração de DNA de coluna, (Real Biotech Corporation). A desnaturação proteica, utilizando a proteinase K, lise dos eritrócitos com a solução RBC Lysis Buffer, lise das demais células sanguíneas com a solução GB buffer, extração do DNA e retenção em coluna com etanol, lavagem com a solução Wash Buffer e eluição, com a solução Evolution Buffer foi a sequência seguida para alcançar a extração do DNA.

9.6.5.4 Genotipagem

Como a coleta de sangue foi realizada com tubos heparinizados, houve necessidade de diluição das amostras, na proporção 2+8, visto que a heparina interfere no sinal da PCR. Para as reações de PCR, utilizou-se um volume final de 20 µL, contendo 10µL do mix TaqMan® Genotyping Master Mix, 0,4 µL da sonda e primers Taqman® SNP Genotyping Assays, 8,6µL de água e 1µL de DNA. Os primers e sondas (VIC/FAM) utilizados são apresentados na Tabela 1.

Para a amplificação do DNA, realizou-se as etapas para PCR em tempo real de desnaturação a 95°C, por 10 minutos; seguida de 40 ciclos a 92°C, por 15 segundos; o anelamento a 60°C, durante 1 minuto; detecção dos alelos, posteriormente a 1 minuto, a 60°C.

Tabela 11 - Primers e sondas utilizados na determinação do polimorfismo SNP rs1800435

Polimorfismo	Primers forward e reverse	Sonda (VIC/FAM)
rs 1800435	5' TGTAACGACGGCCAGT 5' CAGGAAACAGCTATGACC	AGGGCCTCAGCATCTCTCCAGCCG [C/G] TTCACACCATACCTGTGTGGGTGTG

9.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O software livre BioEstat 5.0 foi utilizado no tratamento estatístico dos resultados. Inicialmente, verificou-se a normalidade da distribuição do conjunto de dados das variáveis Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD pelo Teste de Shapiro-Wilk, próprio para n amostral reduzido. Posteriormente, foi aplicada a correlação de Pearson entre as variáveis Pb-S e Pb-P, Pb-S e Pb-U, Pb-S e atividade da ALAD, Pb-P e Pb-U e Pb-P e atividade da ALAD, atividade da ALAD e Pb-U, de modo a verificar a intensidade dessas associações. Aquelas que não seguiam a distribuição normal sofreram transformação logarítmica, para aplicação de teste de correlação paramétrico. Para melhor tratamento de amostras menores, os testes Qui-Quadrado e de aderência G foram aplicados às frequências genóticas observadas e esperadas, referentes ao polimorfismo testado. Por fim, foram aplicadas as Correlações de Pearson nas situações que ambas as variáveis apresentavam distribuição normal, e de Spearman, quando, pelo menos, uma delas não seguia a normalidade, buscando avaliar as associações entre as variáveis idade, fumo, tempo de moradia no Condomínio, tempo de moradia em Volta Redonda, contato com solo e os níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD.

9.8 QUESTÕES ÉTICAS

O trabalho em questão corresponde a um subprojeto do projeto matriz intitulado “IMPACTO CAUSADO POR RESÍDUOS INDUSTRIAIS À SAÚDE DA POPULAÇÃO RESIDENTE EM CONDOMÍNIO HABITACIONAL DE VOLTA REDONDA, RJ”. Ambos os projetos foram aprovados pelo Comitê de Ética da ENSP, pelos pareceres consubstanciados CEP 851.367, em 30/10/2014, e CEP 1.541.790, em 25/04/2016. A presente investigação atendeu às exigências da resolução 466/2012 e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

10 RESULTADOS E DISCUSSÃO

10.1 PERFIL DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

O perfil dos 27 indivíduos avaliados encontra-se descrito na Tabela 1, segundo as variáveis observadas.

A população é composta principalmente por mulheres (59,3%), faixa etária entre 40-50 anos (29,7%), média aritmética de idade de $43,6 \pm 14,5$ anos, estado civil casado (63,0 %), grau de escolaridade ensino médio (55,6%), pertencente à classe E, renda mensal de até 2 salários mínimos (59,3%) e a maior parcela de brancos (88,9%). A faixa entre 31 a 45 anos representou o maior tempo de residência dos moradores em Volta Redonda (37,1%), com média aritmética de $35,2 \pm 15,2$ anos. A maioria dos moradores residia no Condomínio de 16 a 20 anos (51,9 %), com média aritmética de $13,3 \pm 4,2$ anos, assim como na residência atual, esse tempo era de 16 a 20 anos (44,4%), com média aritmética de $12,3 \pm 5,1$ anos. A média do tempo de exposição ocupacional a metais, em atividades atuais foi de $11,8 \pm 6,1$ anos, e em atividades anteriores, de $19,9 \pm 11,5$ anos (Tabelas 12 e 13).

Tabela 12 - Estatística descritiva da população do Condomínio Volta Grande IV

Variáveis	Idade	Tempo de moradia em Volta Redonda	Tempo de moradia no Condomínio Volta Grande IV	Tempo de moradia no endereço atual	Tempo de exposição ocupacional a metais (atividades atuais)	Tempo de exposição ocupacional a metais (atividades anteriores)	Tempo de contato com solo
Média aritmética	43,6 (14,5)	35,2 (15,2)	13,3 (4,2)	12,3 (5,1)	11,8 (6,1)	19,9 (11,5)	7,5 (3,8)
Média geométrica	40,9 (1,5)	31,2 (1,7)	12,4 (1,5)	10,5 (2,0)	10,3 (1,8)	12,2 (4,3)	5,9 (2,5)
Mediana	47,0	39,0	16,0	15,0	13,0	22,0	8,0
Mín – Máx	18-66	6-63	3-18	0,75-18	5-19	0,5-32	1-14
Q1	32,0	22,5	10,0	8,5	6,0	19,0	7,0
Q3	53,0	46,0	16,0	16,0	16,0	28,0	16,0

*Média (desvio padrão); unidade idade e tempo em anos.

Tabela 13 - Dados sociodemográficos da população do Condomínio Volta Grande IV

	n	%
Sexo		
Masculino	11	40,7
Feminino	16	59,3
Etnia		
Negros	3	11,1
Branco	24	88,9
Idade		
18-28	5	18,5
29-39	5	18,5
40-50	8	29,7
51-61	5	18,5
62-72	4	14,8
Estado civil		
Solteiro	5	18,5
Casado	17	63,0
Viúvo	2	7,4
Divorciado	3	11,1
Escolaridade		
Ensino Superior	3	11,1
Ensino médio	15	55,6
Ensino fundamental (1º seguimento)	2	7,4
Ensino fundamental (2º seguimento)	7	25,9
Classe social por faixa de salário-mínimo		
E (até 2 S.M.)	16	59,3
D (de 2 a 4 S.M).	5	18,5
C (de 4 a 10 SM)	6	22,2
Tempo de residência em Volta Redonda		
1 a 15 anos	5	18,5
16 a 30 anos	5	18,5
31 a 45 anos	10	37,1
46 a 60 anos	6	22,2
61 a 75 anos	1	3,7
Tempo de residência no Condomínio		
1 a 5 anos	1	3,7
6 a 10 anos	7	25,9
11 a 15 anos	4	14,8
16 a 20 anos	14	51,9
41 a 45 anos	1	3,7
Tempo de residência no endereço atual		
Anterior a 1 ano	2	7,4
1 a 5 anos	1	3,7
6 a 10 anos	8	29,7
11 a 15 anos	4	14,8
16 a 20 anos	12	44,4

Os dados antropométricos da população coletados foram peso e altura. Assim, o Índice de Massa Corporal (IMC), definido pela Organização Mundial de Saúde, pode ser calculado. Três indivíduos não informaram altura ou peso, não sendo possível efetuar o cálculo do IMC. A maioria da população é pré-obesa (37,1%), com moradores enquadrados no grau de obesidade grau 1 (11,1%) e grau 2 (11,1%). Um indivíduo estava abaixo do peso (3,7%) e somente sete com peso classificado como normal (25,9%) (Tabela 14).

Tabela 14 - Dados antropométricos da população do Condomínio de Volta Grande IV

	n	%
I.M.C (kg/m²)		
< 18,5 (abaixo do peso)	1	3,7
18,5 a 24,9 (peso normal)	7	25,9
25,0 a 29,9 (pré-obeso)	10	37,1
30,0 a 34,9 (Obesidade grau 1)	3	11,1
35,0 a 39,9 (Obesidade grau 2)	3	11,1
Faltou dado peso/altura	3	11,1

Todos moradores faziam uso da água abastecida pelo Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Volta Redonda (SAAEVR). Portanto, não havia o uso de poços artesianos nas residências, segundo os entrevistados. Entretanto, a população teve ou ainda tem algum contato com o solo (63,0%), visando o plantio para consumo próprio e da vizinhança (25,9%) ou ainda realização de obras (22,2%). De acordo com os relatos, laranja, acerola, goiaba, tangerina, pitanga e limão eram as principais frutas cultivadas para consumo próprio e da vizinhança. O maior tempo de exposição ao solo foi principalmente no intervalo de 2 a 8 anos (29,7%). Apenas um morador (3,7%) afirmou criar animais para consumo próprio (Tabela 15).

Na maioria, o piso interno das casas é de piso porcelanato (96,3%). O chão do quintal é revestido com cerâmica (92,6%) e cimento (7,4%). De acordo com os moradores, a quantidade de poeira no condomínio é elevada, sendo necessária uma limpeza diária, o que ocorre na maioria das residências (96,3%).

Tabela 15 - Fontes de exposição ao chumbo para a população do Condomínio Volta Grande IV

	n	%
Abastecimento de água		
SAAEVR	27	100,0
Poço artesiano	0	0,0
Tipo de tubulação da residência		
PVC	27	100,0
Metálica	0	0,0
Contato com solo		
Sim	17	63,0
Não	10	37,0
Finalidade de contato com o solo		
Jardinagem	1	3,7
Plantação para consumo próprio	7	25,9
Plantação para consumo próprio e da vizinhança	3 6	11,1 22,2
Obras	2	7,4
Recreação	2	7,4
Revolvimento do solo	1	3,7
Profissão de atuação no solo	1	3,7
Criação de animais para abate		
Tempo de exposição ao solo		
Até 1 ano	1	3,7
2-8 anos	8	29,7
10-14 anos	3	11,1
Não responderam	4	14,8
Revestimento do chão interno da casa		
Piso porcelanato	26	96,3
Taco	1	3,7
Revestimento do chão do quintal		
Cimento	2	7,4
Cerâmica	25	92,6
Frequência de faxina		
Diariamente	26	96,3
De 15 em 15 dias	1	3,7

Quanto aos hábitos de vida, a maior parte não fumava (96,3%), havendo uma parcela de ex-fumantes (25,9%), e apenas um único fumante no momento (3,7%). A maior frequência de fumo se localizou no intervalo entre 1 e 10 anos (14,8 %), e a quantidade de cigarros, de 1 a 10 por dia (14,8%). Grande parte da população relatou não consumir bebidas alcoólicas (59,3%). Dentre aqueles que afirmaram beber, a frequência de ingestão foi maior no intervalo de 1 a 4 dias (37,1%), quantidade consumida predominante era até 5 litros (18,5%), sendo a cerveja, a bebida de preferência (29,6%). Não foi relatado o consumo de bebidas destiladas.

Quanto às drogas ilícitas, apenas um indivíduo que afirmou ter feito uso de maconha por dois meses, porém o consumo foi interrompido há um ano (3,7%) (Tabela 16). Bebidas destiladas e fermentadas podem apresentar chumbo advindo do processo de fabricação. O chumbo e outros metais podem estar presentes em partes da planta de maconha.

Tabela 16 - Hábitos sociais da população do Condomínio Volta Grande IV.

	n	%
Fumo		
Fumante	1	3,7
Não fumante	26	96,3
Ex- fumante	7	25,9
Frequência de fumo		
1-10 anos	4	14,8
11-20 anos	1	3,7
21-30 anos	1	3,7
31-40 anos	1	3,7
Quantidade de cigarros por dia		
1-10	4	14,8
11-20	1	3,7
31-40	1	3,7
Não responderam	2	7,4
Ingestão de Bebida alcoólica		
Sim	12	44,4
Não	16	59,3
Frequência de bebida		
1- 4 dias	10	37,1
15-15 dias	2	7,4
Quantidade de bebida		
Até 5 L	5	18,5
6 L ou mais	2	7,4
Tipo de bebida alcoólica ingerida		
Somente cerveja	8	29,6
Somente vinho	2	7,4
Cerveja e vinho	1	3,7
Uso de drogas ilícitas		
Sim	1	3,7
Não	26	96,3

Com base nos dados ocupacionais coletados, grande parte da população está empregada (44,4%). A maior parcela dos moradores não apresenta ocupação anterior ligada a metais, porém os que apresentaram (44,4%) possuíam atividades relevantes para a contaminação por chumbo como soldagem de vagões (3,7%), corte de placas de metais (3,7%), encanamento industrial (3,7%), mecânico de vôo (3,7%), mecânico em siderurgia (3,7%), coqueria (3,7%), aciaria em siderurgia /fornagem em indústria de fabricação de

tubulações e prediais (3,7%). O tempo de exposição em ocupação anterior relacionada a metais foi maior no intervalo até 10 anos (14,8%) (Tabela 17).

Quanto à ocupação atual, a maioria não possui atividade no momento relacionada com os metais (74,1%). Entretanto, aqueles que exercem atividades (25,9%) com possível exposição ao chumbo são policial militar (3,7%), serviço de xerox (3,7%), atividades siderúrgicas como operador de máquina (3,7%), produção (3,7%), ponte rolante (3,7%) e cabeleireira (3,7%). Em relação ao policial militar, este afirma efetuar poucos disparos com arma de fogo e não possuir projétil alojado em seu organismo, o que diminui a exposição ao chumbo. A atividade de xerox também se destaca, devido a possibilidade de inalação de pó de tonner, que pode conter chumbo e outros metais. O tempo de exposição em ocupação atual foi maior para o intervalo de 11 a 21 anos (11,1%) (Tabela 17).

Com relação aos ramos das indústrias que haviam trabalhado, a siderurgia foi a principal (29,6%), sendo esta parcela correspondente a ex-funcionários da indústria siderúrgica geradora dos resíduos, aos quais os participantes do estudo estão expostos. Outros ramos da indústria, em que os moradores já exerceram atividades, com possível exposição ao chumbo, foram os de tubulações e prediais (3,7%), de construções e montagens industriais (3,7%). A siderurgia também foi principal ramo de indústria de ocupação atual da população (7,4%), que trabalha na siderúrgica responsável pelo depósito da escória. Entre as ocupações já exercidas anteriormente e não relacionadas a metais, vendedor foi a principal delas (7,4%), enquanto que as atividades do lar (29,7%) foram as principais atividades atuais (Tabela 17).

Tabela 17 - Dados ocupacionais da população do Condomínio Volta Grande IV

	n	%
Situação atual no trabalho		
Empregado	12	44,4
Desempregado	2	7,4
Não trabalha	6	22,2
Pensionista	2	7,4
Aposentada	5	18,5
Ocupação anterior relacionada a metais		
Sim	12	44,4
Não	15	55,6
Ocupações anteriores relacionada a metais		
Soldagem de vagões	1	3,7
Corte de placas de metais	1	3,7
Depósito de peças de siderurgia	1	3,7
Encanamento industrial	1	3,7
Coqueria	1	3,7
Mecânico de vôo	1	3,7
Aciaria e fornagem	1	3,7
Mecânico de siderurgia	1	3,7
Embalador de flandres	1	3,7
Lavanderia de siderurgia	1	3,7
Manicure	1	3,7
Pintura da casa /Lavagem de uniforme de trabalho na residência	1	3,7
Tempo de exposição em ocupação anterior		
Até 10 anos	4	14,8
De 11 a 20 anos	3	11,1
De 21 a 30 anos	3	11,1
De 31 a 40 anos	1	3,7
Não responderam	2	7,4
Outras ocupações anteriores		
Do lar	1	3,7
Doméstica ou diarista	1	3,7
Vendedor	2	7,4
Comércio	1	3,7
Ocupação atual relacionada a metais		
Sim	7	25,9
Não	20	74,1
Ocupações atuais relacionada a metais		
Polícia militar	1	3,7
Conserto de celular	1	3,7
Xerox	1	3,7
Operador de máquinas (siderurgia)	1	3,7
Operador de produção (siderurgia)	1	3,7
Operador de ponte rolante (siderurgia)	1	3,7
Cabeleireira	1	3,7
Tempo de exposição em ocupação atual		
Até 10 anos	2	7,4
De 11 a 20 anos	3	11,1
Não respondeu	1	3,7

	n	%
Ramos das indústrias que já trabalhou		
Siderurgia	8	29,6
Flandres	1	3,7
Tubulação e prediais	1	3,7
Construções e montagens industriais	1	3,7
Medicamentos	1	3,7
Usina Nuclear	1	3,7
Ramos das indústrias que trabalha		
Siderurgia	2	7,4
Não informou o ramo	1	3,7
Outras ocupações atuais		
Do lar	8	29,7
Serviço de Buffet	1	3,7
Vendedor	3	11,1
Auxiliar de Educação	1	3,7
Operadora de caixa em hospital	1	3,7
Doméstica ou diarista	1	3,7
Costureira	1	3,7
Babá	1	3,7
Motorista de van	1	3,7

Em relação aos sintomas e doenças apresentadas pelos moradores, os maiores relatos foram para sinusite (22,2%), mialgia (18,5%), anemia (14,8%), hipotireoidismo (14,8%) e rinite (14,8%). Houve ainda relato de moradores com episódios de abortos espontâneos (7,4%), câncer de pele (3,7%), hepatite B (3,7%), malformação fetal (3,7%), morte neonatal precoce (3,7%), doença mista do tecido conjuntivo (3,7%), geração de filhos com alterações no desenvolvimento - autismo infantil (3,7%), doenças renais (7,4%), doenças cardiovasculares, como arritmia cardíaca (3,7%) e hipertensão arterial; quadros de depressão (3,7%) (Tabela 18).

O uso de medicamentos era realizado por 51,9% dos indivíduos. As medicações utilizadas pela população foram Addera D3 (11,1%) - vitamina D; Levoid (7,4%), Puran T4 (3,7%), Levotiroxina (7,4%), no tratamento do hipotireoidismo; Alopurinol (7,4%), no controle de cálculos renais, redução de formação de uratos e de ácido úrico; Losartana potássica (7,4%), Conversyl Plus (3,7%), Diltiazem (3,7%), no controle da hipertensão arterial; Atenolol (3,7%), no tratamento da arritmia cardíaca; Alenia (7,4%), no controle da asma e doença pulmonar obstrutiva crônica; Reuquinol (3,7%), no tratamento da doença mista do tecido conjuntivo; Amytril (3,7%), Fluoxetina (3,7%), Rivotril (3,7%), no tratamento da depressão; Sinvastatina (3,7%), na redução dos níveis de colesterol; Metformina (3,7%), no controle do diabetes mellitus tipo 2; Ômega 3, suplemento alimentar (7,4%) (Tabela 19).

Houve relato de um morador que fazia uso de dois antiretrovirais, como parte do tratamento da hepatite B, a Lamivudina (3,7%) e o Tenofovir (3,7%), além de fazer uso do diurético Aldactone. Alguns indivíduos (18,5%) não especificaram o tipo de medicamento, apenas a razão do uso, que foi para asma, distúrbios da tireóide, hipertensão arterial, sinusite, exaureca, dor na coluna e controle do diabetes (Tabela 19).

Tabela 18 - Doenças e sintomas relatados pela população do Condomínio Volta Grande IV

	n	%
Aborto espontâneo	2	7,4
Alergia à poeira	1	3,7
Anemia	4	14,8
Ansiedade	1	3,7
Arritmia cardíaca	1	3,7
Artrose da coluna (cervical e lombar)	1	3,7
Asma	1	3,7
Bronquite	2	7,4
Câncer (pele)	1	3,7
Depressão	2	7,4
Doença renal	2	7,4
Diabetes	2	7,4
Diminuição da libido	1	3,7
Distúrbio do sono	2	7,4
Doença mista do tecido conjuntivo	1	3,7
Enxaqueca	2	7,4
Esporão do calcâneo	1	3,7
Geração de filhos com transtornos globais do desenvolvimento		
Autismo infantil	1	3,7
Hemorragia digestiva	1	3,7
Hepatite B	1	3,7
Hipertensão arterial	2	7,4
Hipotireoidismo	4	14,8
Instabilidade emocional	3	11,1
Malformação fetal	1	3,7
Mialgia	5	18,5
Morte neonatal precoce	1	3,7
Pneumonia	3	11,1
Psoríase	1	3,7
Rinite	4	14,8
Síndrome do Túnel do Carpo	1	3,7
Sinusite	6	22,2
Tendinite	1	3,7

Tabela 19. Uso de medicamentos pela população do Condomínio Volta Grande IV

	n	%
Uso de medicamentos		
Sim	14	51,9
Não	13	48,1
Medicamentos		
AdderaD3	3	11,1
Aldactone	1	3,7
Alenia	1	3,7
Aloupurinol	2	7,4
Amytril	1	3,7
Atenolol	1	3,7
Conversyl Plus	1	3,7
Diltiazem	1	3,7
Fluoxetina	1	3,7
Lamivudina	1	3,7
Levoid	2	7,4
Levotiroxina	1	3,7
Losartana potássica	2	7,4
Puran T4	1	3,7
Metformina	1	3,7
Ômega 3	2	7,4
Reuquinol	1	3,7
Rivotril	1	3,7
Sinvastatina	1	3,7
Tenofovir	1	3,7
Não especificaram	5	18,5

10.2 BIOMARCADORES DE CHUMBO

Os resultados dos biomarcadores analisados são apresentados na Tabela 20, enquanto que a estatística descritiva se encontra na Tabela 21.

Tabela 20 - Resultados encontrados para os biomarcadores de chumbo nos indivíduos residentes no Condomínio Volta Grande IV.

Amostr a	Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$)	Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)	Atividade da ALAD (UL^{-1})	Polimorfismo da ALAD	Status da ALAD
VG001	2,95±0,11	2,69±1,29	2,14±0,14	18,9	ALAD 1-1	Inativada
VG002	2,37±0,27	2,23±0,39	≤ 0,65	20,7	ALAD 1-2	Inativada
VG003	1,77±0,04	0,56±0,04	2,01±0,85	22,0	ALAD 1-1	Ativada
VG004	1,03±0,10	2,32±0,51	4,38±0,04	15,1	ALAD 1-1	Inativada
VG005	1,21±0,08	≤1,04	2,35±0,21	19,9	ALAD 1-1	Inativada
VG006	2,52±0,16	≤1,04	3,80±0,29	22,2	ALAD 1-1	Ativada
VG007	1,16±0,24	3,69±0,89	2,23±0,05	10,2	ALAD 1-1	Inativada
VG008	1,83±0,16	3,23±1,02	2,50±0,18	15,5	ALAD 1-2	Inativada
VG009	3,84±0,39	1,51±0,13	≤ 0,65	14,5	ALAD 1-1	Inativada
VG011	1,16±0,07	11,69±0,23	4,14±0,45	36,6	ALAD 1-1	Ativada
VG012	1,96±0,16	1,14±0,13	2,56±0,28	37,1	ALAD 1-1	Ativada
VG013	3,03±0,42	6,47±0,67	11,73±0,61	29,7	ALAD 1-1	Ativada
VG014	4,09±0,08	5,92±0,23	≤ 0,65	39,7	ALAD 1-1	Ativada
VG015	1,35±0,16	8,56±0,23	3,26±0,14	33,3	ALAD 1-1	Ativada
VG016	2,82±0,08	≤1,04	3,16±0,77	15,8	ALAD 1-1	Inativada
VG017	2,20±0,22	≤1,04	20,76±1,08	28,7	ALAD 1-1	Ativada
VG018	2,60±0,24	1,53±	4,36±0,26	29,9	ALAD 1-1	Ativada
VG019	2,30±0,19	≤1,04	11,92±0,38	22,6	ALAD 1-1	Ativada
VG020	2,38±0,09	≤1,04	3,26±0,67	31,3	ALAD 1-1	Ativada
VG021	1,65±0,20	≤1,04	9,44±1,43	24,2	ALAD 1-1	Ativada
VG022	2,49±0,43	≤1,04	3,92±0,11	19,1	ALAD 1-1	Inativada
VG023	2,73±0,16	1,88±1,30	1,58±0,11	28,5	ALAD 1-1	Ativada
VG025	1,46±0,05	1,98±0,20	5,88±0,0007	23,5	ALAD 1-1	Ativada
VG026	1,03±0,05	3,14±1,9	≤ 0,65	20,1	ALAD 1-1	Inativada
VG027	2,06±0,16	2,00±	4,25±	28,7	ALAD 1-1	Ativada
VG028	1,39±0,13	2,51±0,76	2,91±0,37	13,3	ALAD 1-1	Inativada
VG029	2,32±0,16	4,42±0,28	2,45±0,08	39,0	ALAD 1-1	Ativada

Tabela 21 - Estatística descritiva para os biomarcadores de chumbo

Biomarcador	Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$)	Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)	Atividade da ALAD (U L^{-1})
Média aritmética *	2,13 (0,80)	2,80 (2,61)	4,35 (4,41)	24,45 (8,28)
Média geométrica *	1,99 (1,47)	2,06 (2,13)	3,00 (2,41)	23,14 (1,42)
Mediana	2,20	1,98	3,16	22,60
Mín - Máx	1,03 – 4,09	0,56 – 11,69	0,65 – 20,76	10,20 – 39,70
Q1	1,43	1,04	2,18	19,50
Q3	2,56	3,18	4,30	29,80

*Desvio padrão entre parênteses; Q: quartil

10.2.1 Pb-S

Os Centros para Prevenção e Controle de Doenças (CDC) adotavam $\text{Pb-S} \leq 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ como referência para adultos até 2015. A partir dos resultados de estudos que demonstraram a existência de associação entre Pb-S e efeitos renais, cardiovasculares, neurológicos e imunológicos nesse nível, o National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) indicou $5 \mu\text{g dL}^{-1}$ de chumbo em sangue total como nível de referência e um Pb-S elevado foi definido como $\geq 5 \mu\text{g dL}^{-1}$. Além disso, o sangue fetal apresenta cerca de 80% da concentração de chumbo do sangue materno (CDC, 2016; AOEC, 2013).

Logo, devido ao risco de abortos espontâneos, foi recomendado pelo Departamento de Serviços Humanos e de Saúde americano (HHS) que a concentração de chumbo em sangue total fosse mantida abaixo de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$ em mulheres grávidas. O valor de referência para a concentração de chumbo em sangue total para população adulta utilizado neste trabalho será o de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$, o mesmo adotado, a partir de 2015, pelo CDC, pelo Conselho de Epidemiologistas Estaduais e Territoriais Americano (CSTE) e pelo National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Embora o CDC tenha definido um limiar para fins de biomonitoramento pelos países, esse mesmo instituto e a Organização Mundial de Saúde sugerem que não há um nível de exposição seguro ao chumbo. Em 2010, a Alemanha suspendeu o uso de valores de referência de Pb-S para adultos e crianças, compreendendo que a definição de limiares de efeitos (effect threshold) para chumbo é injustificada (BELLO *et al.*, 2016; CDC, 2016; ENKEHBAT *et al.*, 2016; AOEC, 2013; NTP, 2012; WILHELM *et al.*, 2010).

Em 2012, o programa nacional de toxicologia (NTP), do Departamento de Serviços Humanos e de Saúde dos Estados Unidos (HHS), com base em estudos epidemiológicos e experimentais, concluiu que há evidências suficientes de associação dos níveis de $\text{Pb-S} < 5 \mu\text{g dL}^{-1}$ com diminuição da função renal e crescimento fetal, limitada evidência de associação de $\text{Pb-S} < 5 \mu\text{g dL}^{-1}$ com tremores em adultos. O NTP afirmou ainda que há evidências suficientes que $\text{Pb-S} < 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ esteja associado a aumento da pressão e da hipertensão arterial; evidências suficientes de $\text{Pb-S} < 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ com tremores em adultos, limitada evidência entre níveis de Pb-S materno $< 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ e associação com abortos espontâneos ou partos prematuros; limitada evidência de $\text{Pb-S} < 10 \mu\text{g dL}^{-1}$ associado ao aumento da mortalidade cardiovascular, a diminuição da audição, a doenças neurodegenerativas como a

esclerose amiotrófica lateral (ELA), efeitos neurológicos adversos e déficits em função cognitiva em adultos (NTP, 2012).

A concentração de chumbo em sangue total ficou abaixo de $5\mu\text{g dL}^{-1}$ em todas as amostras avaliadas neste estudo (Tabela 19). Entre todas as participantes, onze estavam em idade fértil (10-49 anos), com Pb-S variando de 1,03 a $2,82\mu\text{g dL}^{-1}$. Dessas, sete apresentaram inibição da atividade da ALAD, uma possuía histórico de aborto espontâneo, outra possuía filho com autismo e três relataram estar com anemia. Doze indivíduos que apresentaram atividades relacionadas a metais, possuíam média de Pb-S de $2,63 \pm 0,75\mu\text{g dL}^{-1}$. O maior Pb-S ($4,09\mu\text{g dL}^{-1}$) observado nos 27 moradores avaliados foi referente ao trabalhador com 32 anos de exposição ocupacional.

Uma pesquisa nacional sobre saúde e nutrição realizada nos Estados Unidos (NHANES 2008-2010) avaliou 10.537 indivíduos e encontrou média geométrica para Pb-S igual a $1,2\mu\text{g dL}^{-1}$. Neste estudo da população do Condomínio de Volta Grande IV, a média geométrica encontrada foi de $1,99 \pm 1,47\mu\text{g dL}^{-1}$, superior a do NHANES (CDC, 2016).

Em comparação a outros estudos da literatura, referentes à exposição ambiental ao chumbo, a média geométrica de Pb-S na população do Condomínio Volta Grande IV foi semelhante à obtida em pesquisa realizada no sul do Brasil, com 959 adultos, de idade maior ou igual a 40 anos, selecionados aleatoriamente, em uma área com 10 indústrias relacionadas ao chumbo, cuja média geométrica foi de $1,97\mu\text{g dL}^{-1}$ (ALMEIDA LOPES *et al.*, 2015).

Já em relação ao estudo realizado em 2002, para avaliar os níveis de chumbo em população exposta à refinaria de chumbo no Alto do Vale da Ribeira, foi observado que a média aritmética de Pb-S da população do Condomínio de Volta Grande IV foi mais próxima a média aritmética de $2,80\mu\text{g dL}^{-1}$, apresentada pelos 101 moradores que habitavam mais distantes da refinaria daquela localidade (distância maior que 1000 m), com mínimo e máximo de 1,80 e $2,20\mu\text{g dL}^{-1}$; diferindo da média de Pb-S dos 209 adultos avaliados, moradores mais próximos da refinaria, que foi de $8,80\mu\text{g dL}^{-1}$, com mínimo e máximo de 1,80 e $48,70\mu\text{g dL}^{-1}$, ou dos controles, que apresentaram média de $1,80\mu\text{g dL}^{-1}$, mínimo e máximo de 1,80 e $6,90\mu\text{g dL}^{-1}$ (PAOLIELLO & CAPITANI, 2007).

Quanto ao estudo realizado com 395 indivíduos pertencentes a comunidades da Amazônia, às margens do rio Tapajós, expostas ao chumbo e mercúrio, foi observada média aritmética de Pb-S de $11\mu\text{g dL}^{-1}$, muito superior ao encontrado na população do Condomínio de Volta Grande IV (BARCELOS *et al.*, 2015). Em outro estudo que avaliou 448 pessoas

residentes em 12 vilas, às margens do rio Tapajós, Pará, Brasil, expostas ambientalmente ao chumbo, foi observado uma média aritmética de Pb-S de $13,1 \mu\text{g dL}^{-1}$ e mediana de 11,2, com mínimo de 0,59 e máximo de $48,3 \mu\text{g dL}^{-1}$, valores superiores aos obtidos na população do Condomínio de Volta Grande IV (BARBOSA *et al.*, 2009).

Um estudo avaliando indivíduos adultos sem exposição ocupacional, saudáveis, maiores que 20 anos, a fim de determinar um valor de referência para chumbo em sangue na população de São Paulo, definiu que este limiar foi de $33 \mu\text{g L}^{-1}$, correspondente a média aritmética, e $19,1 \mu\text{g L}^{-1}$, correspondente a média geométrica. A média aritmética foi superior a obtida na população do Condomínio de Volta Grande IV, enquanto a média geométrica foi próxima (KIRA *et al.*, 2015). Em outro estudo que buscou determinar valor de referência para chumbo em sangue na população de Londrina, Brasil, este foi definido como $5,5 \mu\text{g dL}^{-1}$, referente à média geométrica, que foi superior a apresentada pela população do Condomínio de Volta Grande IV (PAOLIELLO *et al.*, 2001).

Em estudo realizado em 2002 com 55 mulheres grávidas de Santo Amaro, foi observado uma média aritmética de Pb-S de $5,21 \pm 3,77 \mu\text{g dL}^{-1}$, mediana de 4,70, mínimo e máximo de 0,00 a $24,2 \mu\text{g dL}^{-1}$. Destas 55, em 13 grávidas que residiam próximo a COBRAC (distância < 1650 m), a média de Pb-S foi de $9,12 \pm 5,12 \mu\text{g dL}^{-1}$; em 33 grávidas que residiam a uma distância média da COBRAC (de 1650 a 3299 m), a média de Pb-S foi de $4,79 \pm 1,60 \mu\text{g dL}^{-1}$; em 9 grávidas que residiam distantes da COBRAC (distância de 3300 a 5000 m), a média de Pb-S foi de $1,1 \pm 1,33 \mu\text{g dL}^{-1}$ (PAOLIELLO & CAPITANI, 2007; ZENTNER & RONDÓ, 2004).

Já as médias de níveis de Pb-S no cordão umbilical foi de $3,88 \pm 5,58 \mu\text{g dL}^{-1}$, mediana de $3,40 \mu\text{g dL}^{-1}$ e mínimo-máximo de 0,00- $17,00 \mu\text{g dL}^{-1}$, indicando que o Pb-S materno apresentando níveis de chumbo em sangue maiores do que $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ e menores do que $10 \mu\text{g dL}^{-1}$, podem contribuir para concentrações no cordão umbilical dos bebês superior a $2 \mu\text{g dL}^{-1}$, acima da referência proposta pelo CDC para crianças, considerando que não há nível seguro de chumbo para exposição infantil ou de adultos (PAOLIELLO & CAPITANI, 2007; ZENTNER & RONDÓ, 2004). Embora as mulheres grávidas tenham sido excluídas desse estudo, é importante ressaltar que de 11 mulheres com idade fértil, 3 apresentaram concentrações de chumbo maiores que $2 \mu\text{g dL}^{-1}$ ($2,06 \pm 0,16$; $2,82 \pm 0,08$; $2,30 \pm 0,19 \mu\text{g dL}^{-1}$) e no caso de engravidarem, podem expor o feto ao nível de chumbo maior que o preconizado pela CDC.

No estudo realizado com 100 adultos na comunidade da cidade de Adudu, que habitam na região satélite de Abuni, Nigéria, exposta a uma mina de chumbo-zinco, sendo 56 km² da cidade de Adudu coberta por chumbo, em uma área total de 100 km², observou-se que a média aritmética de níveis de chumbo no sangue dos residentes no conjunto de 9 pontos de minas avaliados, foi de 3,1 µg dL⁻¹ e a mediana de 2,8 µg dL⁻¹, com mínimo e máximo de 0,6-14,8 µg dL⁻¹, estando 14% das amostras acima do limiar de 5 µg dL⁻¹, recomendado pelo CDC. Houve associação significativa entre Pb-S e níveis de chumbo na água, que foram de 17,6 µg L⁻¹, variando de 0,90 a 120 µg L⁻¹ (BELLO *et al.*, 2016).

A média aritmética de Pb-S da população do condomínio de Volta Grande foi mais baixa que a média aritmética dos 9 pontos, mas se aproximou dos 29 indivíduos avaliados, moradores na área de mina de Ubangari, com média aritmética de 2,9 µg dL⁻¹ e mediana 6, com mínimo de 0,6 e máximo de 6,2 µg dL⁻¹; e também com dois indivíduos residentes na área de mina de Bokolo, média aritmética de 2 µg dL⁻¹ e mediana de 2 (BELLO *et al.*, 2016).

Em um estudo na Índia, foram avaliados 250 indivíduos, com idade de 20 a 70 anos, que residiam em área rural e urbana, com objetivo de avaliar exposição ambiental, crônica, ao chumbo. No grupo de homens avaliados, 217 indivíduos, a média aritmética de Pb-S foi de 15,55 ± 11,88 µg dL⁻¹. Já no grupo das mulheres, no total de 33, a média aritmética de Pb-S foi de 11,56 ± 10,86 µg dL⁻¹. Ao estratificar os indivíduos pesquisados em residentes no meio urbano ou rural, a média aritmética de Pb-S para os moradores de área urbana foi 23,23 ± 9,80 µg dL⁻¹, e os moradores do meio rural, apresentaram média aritmética de Pb-S de 8,93 ± 7,18 µg dL⁻¹. A população do Condomínio de Volta Grande IV apresentou valores bem inferiores à população indiana também com exposição crônica ambiental (JANGID *et al.*, 2012).

Em estudo realizado com mulheres de 40 a 50 anos, na Mongólia, expostas nas suas residências a materiais particulados (PM_{2,5}), foi obtida uma média geométrica de Pb-S de 3,1 µg dL⁻¹ e média geométrica integrada gravimétrica de concentração de PM_{2,5} de 5,8 µg m⁻³ para apartamentos e de 127,8 µg m⁻³ para casas. As três mulheres que exibiram maiores concentrações de chumbo sangue total de 6,1; 6,3; 5,8 µg dL⁻¹, residiam em moradias com 42,43 e 57 µg m⁻³ de PM_{2,5}. A média geométrica dos níveis de Pb-S de mulheres da população de Volta Grande IV, de 40 a 50 anos, foi de 1,91 ± 1,49 µg dL⁻¹, abaixo da verificada nas mulheres da Mongólia (ENKEHBAT *et al.*, 2016).

A média aritmética de Pb-S da população do Condomínio de Volta Grande IV está de acordo com a média de 2,10 µg dL⁻¹ obtida entre os controles por uma pesquisa realizada na

China com 290 trabalhadores expostos ao chumbo e 91 trabalhadores não expostos (grupo controle) (TIAN *et al.*, 2013).

Cabe ressaltar que a exposição no Condomínio Volta Grande IV consiste em uma exposição crônica, com 51,9% da população com 16 a 20 anos de moradia no condomínio. O Pb-S é um biomarcador próprio para exposição recente, sendo os níveis de chumbo em osso o que melhor avaliaria a exposição passada, porém inviável na aplicação desse estudo, devido ao alto custo das análises. É importante considerar ainda que a meia vida de chumbo em sangue é de aproximadamente 30 dias. Constatou-se a partir dos estudos avaliados que a população do Condomínio de Volta Grande IV apresenta médias de níveis de chumbo em sangue próximos ou até abaixo aos valores encontrados na literatura, obtidos em condições semelhantes de exposição ambiental, estando apenas com níveis mais elevados em relação à média geométrica de Pb-S obtida no NHANES de 2007-2010.

Esse maior valor pode ser explicado pela diferença de tamanho amostral entre o estudo de NHANES em relação ao do Condomínio de Volta Grande IV. Conforme observado na literatura, os grupos avaliados com frequência nos biomonitoramentos realizados em áreas expostas ambientalmente ao chumbo, como em Santo Amaro, são mulheres grávidas e crianças, já que o chumbo pode afetar o neurodesenvolvimento infantil em concentrações de $2 \mu\text{g dL}^{-1}$. Para esse estudo com a população do Condomínio Volta Grande IV, as amostras avaliadas encontravam-se abaixo de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$, porém em relação a mulheres com idade fértil, três apresentaram concentrações acima de $2 \mu\text{g dL}^{-1}$, devendo ser acompanhadas quanto as variações destas concentrações, em caso de possível gravidez.

Observa-se ainda que níveis baixos de Pb-S em populações com alta exposição ao chumbo pode ocorrer, conforme visto no estudo que avaliou adultos residindo próximos das minas de chumbo e zinco na Nigéria, estando a população de Volta Grande IV com Pb-S semelhante aos 29 habitantes da área da mina de Ubangari, que apresentaram naquele estudo média aritmética de $2,9 \mu\text{g dL}^{-1}$, mediana de $2,6 \mu\text{g dL}^{-1}$, intervalo experimental $0,6 - 6,2 \mu\text{g dL}^{-1}$, com 5% da população apresentando concentrações de chumbo em sangue total $> 5 \mu\text{g dL}^{-1}$.

10.2.2 Pb-P

Não há definição de valor de referência para níveis de chumbo em plasma pelo CDC ou outras agências reguladoras, sendo escassos os estudos que avaliem este biomarcador para exposição ambiental, em relação ao biomarcador Pb-S. Os dados de média aritmética de chumbo em plasma que vem sendo alcançados por estudos em indivíduos não expostos é $< 1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (BARBOSA *et al.*, 2005).

No estudo realizado na Suécia, que avaliou a cinética do chumbo, de 5 casos de intoxicação, sendo quatro por exposição não ocupacional e 1 por exposição ocupacional, com exposição variando de 1 mês a 12 anos, acompanhados de 21 a 316 meses, foi observado que os efeitos de intoxicação severa ocorriam quando os níveis de Pb-P excediam a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ e os efeitos hematológicos, quando os níveis de Pb-P eram aproximadamente $5 \mu\text{g L}^{-1}$. A meia vida biológica do chumbo em plasma foi 27 dias, variando de 23 a 69 dias. Já a meia vida de chumbo sangue total demonstrou decair muito lentamente, com 77 dias, variando de 58 a 120 dias. A relação entre Pb-S e Pb-P foi linear só em níveis baixos de concentração, e acima de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb-P, o Pb-S se estabilizou. Houve relação retilínea entre Pb-P e Pb-U (RENTSCHLER *et al.*, 2012).

Em comparação a outros estudos da literatura, a média de concentração de chumbo em plasma obtida em 12 indivíduos com idade de 24 a 32 anos, não expostos, residentes em Ribeirão Preto, foi de $0,19 \mu\text{g L}^{-1}$, com mínimo e máximo iguais a $0,019$ e $0,320 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, sendo menor que o nível de detecção desse estudo realizado com a população do condomínio de Volta Grande IV (REZENDE *et al.*, 2010).

No estudo realizado em 2009, com 290 trabalhadores chineses expostos ao chumbo em setor de armazenagem de baterias, com média de idade de 36 anos, e 91 controles formados por trabalhadores de setor de sistemas hidráulicos, sem exposição ao chumbo, com média de idade de 33 anos, foi observado que a média aritmética de Pb-P para o grupo controle foi de $0,11 \mu\text{g L}^{-1}$ (mínimo de $0,35$ e máximo $27 \mu\text{g L}^{-1}$) e para o grupo exposto foi de $4,10 \mu\text{g L}^{-1}$ (mínimo de $0,01$ e máximo de $0,99 \mu\text{g L}^{-1}$). A população do Condomínio de Volta Grande IV apresentou média aritmética de Pb-P superior ao do grupo controle e inferior a do grupo exposto de trabalhadores chineses, estando o valor de mínimo e máximo alcançado nesse estudo incluído no referente ao grupo de trabalhadores expostos chineses (TIAN *et al.*, 2013).

Um estudo na Suécia, com 502 trabalhadores em reciclagem de baterias, média de idade de 42 anos, e 101 indivíduos somente expostos ambientalmente, média de idade de 38 anos, apresentaram média geométrica de chumbo plasmático respectivamente de $0,57 \pm 1,84 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,09 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$. A média geométrica de Pb-P dos moradores do Condomínio de Volta Grande IV foi superior tanto a do grupo exposto, como a do grupo com apenas exposição ambiental (SOMMAR *et al.*, 2014).

No estudo que avaliou 110 trabalhadores expostos (20 trabalhadores ativos de uma fundição de chumbo alemã; 71 ativos e 19 aposentados de uma fundição de chumbo sueca) apresentaram média aritmética de Pb-P de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$, com mínimo e máximo de 0,43 e $37 \mu\text{g L}^{-1}$. Já os 35 trabalhadores não expostos de uma oficina mecânica, que formaram o grupo controle, apresentaram a média aritmética de Pb-P de $0,34 \mu\text{L}^{-1}$, com limite inferior experimental de 0,20 e superior em $0,54 \mu\text{L}^{-1}$. A média aritmética de Pb-P da população do Condomínio de Volta Grande IV está acima das médias apresentadas no grupos exposto e nos controles (BERGDAHL *et al.*, 1997).

Na avaliação de 42 trabalhadores de fábrica de baterias na Suécia, com média de idade de 45 anos, tempo médio de exposição de 12 anos, foi obtida média aritmética para Pb-P igual a $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$, com limite inferior experimental de 0,2 e superior de $13 \mu\text{g L}^{-1}$, menor que aquela encontrada na população de Volta Grande IV (BERGDAHL *et al.*, 1998).

Um estudo realizado na Suécia, com 43 trabalhadores de fundição expostos e 7 não expostos, obteve média aritmética de $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb-P no grupo de referência, com a concentração variando de 0,1 a $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$. Entre os expostos, essa média foi de $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$, e a faixa igual a $0,3-3,6 \mu\text{g L}^{-1}$. Logo, mesmo entre os expostos, esses resultados foram mais baixos do que aqueles encontrados nesta pesquisa (SCHÜTZ *et al.*, 1996).

No estudo realizado no México, com 63 mulheres expostas ambientalmente, com média de idade de 30,6 anos, a média aritmética de Pb-P foi de $0,317 \pm 0,448 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb-S de $9,22 \pm 7,29 \mu\text{g dL}^{-1}$ e % Pb-P/Pb-S de $0,308 \pm 0,107$. Já a mediana foi de $0,188 \pm 0,448 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb-S de $6,90 \pm 7,29 \mu\text{g dL}^{-1}$ e % Pb-P/Pb-S de $0,290 \pm 0,107$, com mediana relativa de Pb-P correspondendo a 0,29 % dos níveis de Pb-S. A média aritmética para Pb-P obtida no estudo no México foi abaixo do limite de detecção alcançado nessa pesquisa com a população do Condomínio Volta Grande IV (SMITH *et al.*, 2002).

A média de Pb-P da população de Volta Grande IV foi acima da encontrada na literatura. Um total de 63,0% da população apresenta idade superior a 40 anos. Em mulheres na menopausa, homens na andropausa ou em doenças como a osteoporose, ocorre maior

remodelagem óssea e liberação do chumbo da matriz do osso para o plasma sanguíneo, havendo uma relação entre níveis de chumbo no osso e níveis de chumbo no plasma. O limite de detecção de $1,04 \mu\text{g L}^{-1}$ desse estudo é superior aos níveis de Pb-P encontrados, no geral, em não expostos, que é menor que $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$.

Em análise individual dos níveis de Pb-P apresentados pelos 27 indivíduos desse estudo, um esteve abaixo de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ ($0,56 \mu\text{g L}^{-1}$), sete estavam abaixo do limite de detecção e quatro se destacaram com níveis bem elevados. Destes quatro, os relatos de sintomas foram rinite, para o indivíduo com $11,69 \mu\text{g L}^{-1}$; anemia, sinusite, depressão, histórico de pneumonia, síndrome do túnel do carpo, artrose cervical e lombar, histerectomia, para o indivíduo com Pb-P de $6,47 \mu\text{g L}^{-1}$; hipertensão arterial e arritmia cardíaca, para o indivíduo com Pb-P de $5,92 \mu\text{g L}^{-1}$; histórico de aborto espontâneo e de gestação com malformação, para o indivíduo com Pb-P de $8,56 \mu\text{g L}^{-1}$.

As médias aritméticas e geométricas de Pb-P dos indivíduos que excederam as médias observadas nas populações em geral demonstram a necessidade de mais avaliação de concentrações de chumbo em plasma naquela região, a fim de avaliar se os resultados elevados alcançados podem ter ocorrido devido exclusivamente ao acaso, em função do n amostral reduzido, ou em razão as limitações do método de análise aplicado.

10.2.3 Pb-U

Em estudo realizado com 130 indivíduos expostos ambientalmente no Rio de Janeiro, foi obtido para Pb-U a média aritmética de $6,00 \pm 4,00 \mu\text{g L}^{-1}$, com mínimo e máximo de 2,0 e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Foi constatado que o Pb-U dos 27 indivíduos avaliados no Condomínio de Volta Grande são semelhantes àqueles encontrados por essa pesquisa do Rio de Janeiro. Embora possa haver exposição ocupacional concomitante para alguns indivíduos no Condomínio de Volta Grande IV, admitiu-se a exposição predominantemente ambiental para todos (MOREIRA & NEVES, 2008).

Um estudo determinou a concentração de chumbo na urina em dois grupos de trabalhadores. O grupo com 83 indivíduos não expostos apresentou média geométrica igual a $0,18 \pm 2,49 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina, enquanto que essa média foi de $0,22 \pm 2,34 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina entre os 427 indivíduos expostos. A média geométrica para Pb-U da população do Condomínio de Volta Grande IV foi superior às médias geométricas de Pb-U de ambos os grupos (SOMMAR *et al.*, 2014).

O grupo controle avaliado no estudo realizado com população chinesa, apresentou média aritmética de Pb-U de $6,8 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina, com o mínimo de 0,7 e máximo de $36 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina. Já o grupo exposto, alcançou média aritmética de Pb-U de $188 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina, com mínimo de 22 e máximo de $590 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina. A média aritmética para Pb-U obtida na população do Condomínio Volta Grande IV foi inferior a obtida pelo grupo controle (TIAN *et al.*, 2013).

Um estudo piloto na Espanha obteve média geométrica de 1,11, para Pb-U, em 165 indivíduos, com idade de 23 a 66 anos, intervalo de confiança de $1,03-1,19 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina, 95%. A média geométrica da população de Volta Grande IV está acima da alcançada no estudo (CASTAÑO *et al.*, 2012).

No NHANES 2007-2012, com total de 4875 participantes, a média geométrica de Pb-U da população adulta foi de $12,3 \pm 0,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e média aritmética foi de $15,8 \pm 1,49 \mu\text{g L}^{-1}$ (<95%), $15,8 \pm 1,67$ (>95%), ambas superiores às encontradas na população do Condomínio de Volta Grande IV (BUSER *et al.*, 2016).

De acordo com o estudo em 126 homens não expostos e 49 mulheres avaliados na China, a média aritmética de Pb-U foi de $6,3 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina e para mulheres de $6,7 \mu\text{g g}^{-1}$ creatinina, ambas superiores a média aritmética total da população do condomínio Volta Grande IV (ZHENG *et al.*, 2011).

10.2.4 Atividade da ALAD

A determinação da atividade da ALAD foi realizada experimentalmente por reativação da enzima por ditioneitol (DTT), seguindo a metodologia modificada proposta por Sakai e colaboradores, Wigfield & Farant (MATTOS, 2001; WIGFIELD & FARANT, 1981; SAKAI *et al.*, 1980). Para o cálculo da atividade da enzima, foi utilizado o preconizado no método padronizado europeu, tanto para enzima inativada, como para a ativada, conforme o estudo de trabalhadores na Índia, realizado com 30 sujeitos expostos ocupacionalmente e 30 controles, que avaliou a atividade da ALAD (DONGRE *et al.*, 2011). Foi utilizado como controle o mesmo do estudo de avaliação de estabilidade de enzima a baixa temperatura, que teve como valor para atividade da ALAD $36,09 \text{ UL}^{-1}$, para enzima inativada, e $44,81 \text{ UL}^{-1}$, para a enzima ativada com ditioneitol.

A adição do DTT retira o agente inibidor da enzima, aumentando assim a sua atividade, simulando a situação que possuiria sem apresentar inibição. Como em estudos *in vitro*, a ativação da ALAD por DTT pode chegar a 150%, utiliza-se o grupo controle que representará a situação de 100% de atividade da enzima, comparado ao obtido na amostra, verificando qual a porcentagem de acréscimo ou decréscimo que a atividade da enzima sofreu pela uma possível ação do chumbo, em comparação a um controle externo. (DONGRE *et al.*, 2011; FERNANDEZ-CUARTERO *et al.*, 1999; DORWARD & YAGMINAS, 1994; SAKAI *et al.*, 1987; GEISSE, BRULLER, DOSS, 1983; SAKAI *et al.*, 1983; SAKAI *et al.*, 1980).

Ao receber seu substrato, o ALA, a enzima forma certa quantidade de produto, o qual é atribuído um valor correspondente a atividade enzimática em 1 micromol de ALA consumido por minuto por litro de eritrócito a 37°C e pH 6,4 (U L^{-1}). Caso a análise seja efetuada em um período inferior a 4 horas após a coleta de sangue, a quantidade de porfobilinogênio produzida é a mais próxima do verdadeiro estado da enzima naquele momento (BERLIN & SCHALLER, 1974). Porém, como a ALAD é muito instável, pequenas mudanças do ambiente podem resultar em perda de estabilidade e o uso de ditioneitol é utilizado para comparação de como representaria o estado ativado (DONGRE *et al.*, 2011; FERNANDEZ-CUARTERO *et al.*, 1999; DORWARD & YAGMINAS, 1994; SAKAI *et al.*, 1987; GEISSE, BRULLER, DOSS, 1983; SAKAI *et al.*, 1983; SAKAI *et al.*, 1980).

Indivíduos saudáveis, sem exposição ocupacional ao chumbo, de acordo com os estudos encontrados na literatura, apresentavam valores de referência acima de 20 UL^{-1} (MEZZARROBA *et al.*, 2000). Este presente estudo adotou valores a partir de 21 U L^{-1} como

estado de não inibição da ALAD. Para os cálculos efetuados com a enzima ativada, foram considerados inibição os resultados que apresentaram decréscimo da atividade a enzima inativada em relação ao controle superior a 40%, conforme as tabelas 23 e 23.

Em comparação a outros estudos da literatura, amostras de sangue foram coletadas de 56 homens e 57 mulheres saudáveis, residentes em Alfenas, Minas Gerais, para o estabelecimento de valores de referência para a atividade da ALAD. A média aritmética obtida para a atividade da ALAD foi de $54,5 \pm 9,8 \text{ U L}^{-1}$, enquanto que a faixa de referência estabelecida variou de 34,9-74,1 UL^{-1} (DE SIQUEIRA *et al.*, 2003). A média alcançada em Volta Grande IV foi levemente menor do que a metade desse valor.

Uma pesquisa realizada em Londrina, Paraná, avaliou a atividade da ALAD em uma amostra populacional urbana constituída por 52 mulheres e 37 homens, encontrando média aritmética igual a $40,68 \pm 9,7 \text{ UL}^{-1}$ (MEZZARROBA *et al.*, 2000). Esse resultado é muito superior aquele encontrado na população de Volta Grande. Em Salvador, Bahia, 200 homens sadios foram avaliados para estabelecer valores normais para atividade da ALAD nesta população. A média aritmética da atividade enzimática foi de $34,5 \pm 14,5$, mais elevada do que a encontrada pelo presente estudo (SOUSA *et al.*, 1987).

Determinações de chumbo e atividade da ALAD no sangue foram realizadas em três grupos populacionais da Grande São Paulo. O grupo A, era residente em Embu-Guaçu, com poucas fontes de exposição ao chumbo. Por outro lado, o grupo B era composto por moradores de São Paulo, expostos a diferentes fontes de chumbo. Já o grupo C era formado por pessoas que residiam de 100 a 500 m de uma indústria recuperadora de metais provenientes de sucata. Os valores médios encontrados para ALAD foram $47,1 \pm 9,8$; $38,4 \pm 7,1$ e $30,5 \pm 12,1 \text{ UL}^{-1}$, nos grupos A, B e C, respectivamente, todos maiores do que a média da atividade da enzima nos sujeitos do estudo (FERNÍCOLA *et al.*, 1981).

No estudo realizado com 250 indivíduos da população indiana, com exposição ambiental, crônica, ao chumbo, a média aritmética apresentada de atividade de ALAD nos 217 homens avaliados foi de $37,71 \pm 16,31 \text{ UL}^{-1}$ (média aritmética de Pb-S de $15,55 \pm 11,88 \mu\text{g dL}^{-1}$); nas 33 mulheres foi de $39,05 \pm 16,67 \text{ UL}^{-1}$ (média aritmética de Pb-S de $11,56 \pm 10,86 \mu\text{g dL}^{-1}$); nos 141 residentes do meio rural foi de $40,53 \pm 15,10 \text{ UL}^{-1}$ (média aritmética de Pb-S de $8,93 \pm 7,18 \mu\text{g dL}^{-1}$); e nos 109 residentes de área urbana, foi de $34,47 \pm 17,28 \text{ UL}^{-1}$ (média aritmética de Pb-S de $23,23 \pm 9,80 \mu\text{g dL}^{-1}$) (JANGID *et al.*, 2012).

As médias aritméticas da atividade da ALAD dos grupos avaliados na Índia foram superiores a da população de Volta Grande IV. Porém, observa-se que a população indiana

tem níveis de chumbo em sangue bem mais elevados que a população do Condomínio Volta Grande IV, sem apresentar nenhuma inibição da ALAD, enquanto dos 27 indivíduos avaliados neste presente estudo, 11 apresentaram inibição da ALAD. Esses resultados sugerem que há outros fatores a serem considerados na relação exposição do chumbo e efeitos apresentados, não somente relacionados à concentração do metal. A suscetibilidade genética associada a fatores ambientais, bem como alterações epigenéticas, por exemplo, podem influenciar nesta relação, não havendo níveis seguros de exposição a chumbo.

No estudo realizado com trabalhadores coreanos, de indústria de fundição, de estabilizante de plástico e de fabricação de radiadores, sendo distribuídos em grupos de alta exposição ao chumbo (21 indivíduos), moderada (20 indivíduos) e leve (34 indivíduos), foi observado que para o grupo de exposição alta (Pb-S de $74,6 \pm 7,8 \mu\text{g dL}^{-1}$), a média aritmética de atividade da ALAD foi de $4,2 \pm 1,9 \text{ UL}^{-1}$. Para o grupo com exposição moderada (Pb-S de $46,5 \pm 5,9 \mu\text{g dL}^{-1}$), a média aritmética de atividade da ALAD foi de $9,9 \pm 2,5 \text{ UL}^{-1}$; e para o grupo de exposição leve (Pb-S de $24,3 \pm 2,7 \mu\text{g dL}^{-1}$), a média aritmética de atividade da ALAD foi $23,3 \pm 1,3 \text{ UL}^{-1}$. Já o grupo controle (64 indivíduos), apresentou Pb-S de $22,9 \pm 5,9 \mu\text{g dL}^{-1}$ e média aritmética de atividade da ALAD de $25,00 \pm 1,3 \text{ UL}^{-1}$. A média aritmética de atividade da ALAD obtida na população de Volta Grande IV foi semelhante à obtida no grupo de exposição leve e no controle daquele estudo com trabalhadores coreanos (JUNG *et al.*, 1998).

Os resultados do estudo para avaliação de estabilidade da enzima a baixa temperatura encontram-se na tabela 22. Para determinação da atividade da ALAD neste estudo, foi utilizado o método modificado de Sakai e colaboradores, Wigfield & Farant e o método padronizado europeu (MATTOS, 2001; WIGFIELD & FARANT, 1981; BERLIN & SCHALLER, 1974). Ambos os métodos demonstraram perda de estabilidade da enzima, que passou a exibir um status inativado, em discordância com o real status da atividade, que foi obtido da amostra de sangue que teve a análise imediata após a coleta. Diante dos resultados, concluiu-se que o armazenamento de amostras em nitrogênio líquido, levaria a uma perda ainda maior da estabilidade. O armazenamento a baixas temperaturas não demonstrou ser favorável, sendo o mais indicado a avaliação da atividade da enzima com sangue fresco, com intervalo não superior a 4 horas entre coleta e análise.

Tabela 22 - Resultados do estudo de estabilidade da enzima ALAD a baixas temperaturas

Variáveis	Coleta e análise imediata	Geladeira	Freezer	Ultrafreezer
Média da absorvância inativada	0,5670±0,038 nm	0,1450±0,010 nm	0,2817±0,011 nm	0,2192±0,019 nm
Média da absorvância ativada	0,6887±0,016 nm	0,5467±0,042 nm	0,4827±0,005 nm	0,4339±0,034 nm
Atividade da enzima Método padronizado europeu	36,09 UL ⁻¹	10,39 UL ⁻¹	20,19 UL ⁻¹	15,71 UL ⁻¹
Atividade da enzima Método de Sakai e colaboradores Wigfield & Farant modificado	19,5%	91,5%	52,30%	66,70%
Status da enzima	Ativada	Inativada	Inativada	Inativada

*Média das absorvâncias ± desvio padrão)

Dos 27 sujeitos avaliados, onze apresentaram valores indicativos de inibição da atividade da ALAD (amostras VG001, VG002, VG004, VG005, VG007, VG008, VG009, VG016, VG022, VG026, VG028). O perfil destes 11 indivíduos é mostrado na Tabela 24, de acordo com as variáveis sexo, idade, exposição ocupacional, fumo, ingestão de bebida alcoólica, uso de drogas ilícitas, dados clínicos/genéticos e tempo de moradia no Condomínio, que podem influenciar na atividade da ALAD.

Tabela 23 - Porcentagem de aumento (A) ou diminuição (D) da atividade da enzima ALAD inativada, ativada e status da enzima, comparado ao controle

Amostras	ALAD inativada	ALAD ativada com ditiotreitol (DTT)	Status da enzima
VG001	42,4% (D)	35,4% (A)	Inativada
VG002	42,6% (D)	15,0% (A)	Inativada
VG003	39,0 % (D)	19,0% (A)	Ativada
VG004	58,2% (D)	9,7% (A)	Inativada
VG005	44,7% (D)	10,8%(A)	Inativada
VG006	38,6% (D)	25,2% (A)	Ativada
VG007	71,8% (D)	8,7 % (D)	Inativada
VG008	56,9% (D)	6,0% (A)	Inativada
VG009	59,9%(D)	14,9% (D)	Inativada
VG011	1,5% (A)	13,1% (A)	Ativada
VG012	2,8% (A)	84,4% (A)	Ativada
VG013	17,8% (D)	50,2% (A)	Ativada
VG014	9,9% (A)	90,6% (A)	Ativada
VG015	7,9% (D)	50,3% (A)	Ativada
VG016	56,2% (D)	11,5% (A)	Inativada
VG017	20,4% (D)	47,3% (A)	Ativada
VG018	17,2% (D)	29,7% (A)	Ativada
VG019	37,3% (D)	28,1% (A)	Ativada
VG020	7,4% (D)	57,1% (A)	Ativada
VG021	33,0% (D)	50,7% (A)	Ativada
VG022	47,1% (D)	4,0%(A)	Inativada
VG023	21,0% (D)	85,8% (A)	Ativada
VG025	34,8% (D)	13,4% (A)	Ativada
VG026	44,4% (D)	173,6% (A)	Inibição
VG027	20,5%(D)	17,5% (A)	Ativada
VG028	63,1% (D)	43,5% (A)	Inativada
VG029	7,9% (A)	96,4% (A)	Ativada

Tabela 24 - Perfil dos indivíduos com inibição da atividade da ALAD

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG001	M	66 anos	Anterior: Mecânico de vôo da Aeronáutica Atual: Aposentado	Ex- fumante	16 anos	Sim	Não	Diabetes Hipotireoidismo Obesidade grau II	Pb-S 2,95±0,11 µg dL ⁻¹ Pb-P 2,69±1,29 µg L ⁻¹ Pb-U 2,14±0,14 µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 18,9 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	16 anos
VG002	F	54 anos	Anterior: Reciclagem PET Atual: do lar	Ex- Fumante	3 anos	Sim	Não	Depressão Sinusite Enxaqueca Histórico de Pneumonia (1987)	Pb-S 2,37±0,27 µg dL ⁻¹ Pb-P 2,23±0,39 µg L ⁻¹ Pb-U ≤0,65 µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 20,7 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-2	6 anos

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG004	F	47 anos	Anterior e atual: do lar	Não	Não	Não	Não	Aborto Espontâneo Pré-obesidade	Pb-S 1,03±0,10µg dL ⁻¹ Pb-P 2,32±0,51 µgL ⁻¹ Pb-U 4,38±0,04µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 15,1 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	16 anos
VG005	F	18 anos	Anterior: não Atual: Serviço de buffet	Não	Não	Não	Sim Maconha	Anemia Peso normal	Pb-S 1,21±0,08µg dL ⁻¹ Pb-P ≤ 1,04µgL ⁻¹ Pb-U 2,35±0,21 µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 19,9 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	15 anos

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG007	F	19 anos	Anterior: Não Atual: Auxiliar de Educação	Não	Não	Não	Não	Anemia Sem informação de peso	Pb-S 1,16±0,24µg dL ⁻¹ Pb-P 3,69±0,89 µgL ⁻¹ Pb-U 2,23±0,05µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 10,2 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	16 anos
VG008	F	45 anos	Anterior: Não Atual: Operador de caixa no hospital	Ex-Fumante	10 anos	Não	Não	Asma Bronquite Hipertensão arterial Doença renal Obesidade grau II	Pb-S 1,83±0,16µg dL ¹ Pb-P 3,23±1,02 µgL ⁻¹ Pb-U 2,35±0,21 µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 19,9 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-2	16 anos

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG009	M	48 anos	Anterior: Forneiro em indústria de canos e prediais/ Aciaria em siderurgia Atual: Operador de ponte rolante	Não	Não	Não	Não	Hipotireoidismo Obesidade grau II Doença renal	Pb-S 3,84±0,39µg dL ⁻¹ Pb-P 1,51±0,13 µgL ⁻¹ Pb-U ≤0,655µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 15,5 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	16 anos
VG016	F	44 anos	Anterior: Não Atual: Xerox/ escritório	Sim	Sem informação	Sim	Não	Anemia Dores musculares Instabilidade emocional Sem informação de peso corporal	Pb-S 2,82±0,08µg dL ⁻¹ Pb-P ≤ 1,04 µgL ⁻¹ Pb-U 3,16±0,77 µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 15,8 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	17 anos e 6 meses

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG022	M	41 anos	Policia militar	Não	Não	Sim	Não	Hipotireoidismo Instabilidade emocional Distúrbio do sono Peso normal	Pb-S 2,49±0,43µg dL ⁻¹ Pb-P ≤ 1,04 µgL ⁻¹ Pb-U 3,92±0,11µ g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 19,1UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	14 anos
VG026	F	31 anos	Anterior: Vendedora Atual: Do lar	Não	Não	Não	Não	Possui filho com Autismo Sinusite Rinite Psoríase Tendinite	Pb-S 1,03±0,05µg dL ⁻¹ Pb-P 3,14±1,90 µgL ⁻¹ Pb-U ≤ 0,65µg g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 20,1 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	16 anos

Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Fumo	Tempo de fumo	Bebida	Drogas ilícitas	Dados clínicos	Biomarcadores	Tempo de moradia no condomínio
VG028	F	39 anos	Anterior: Não Atual: Cabeleireira	Não	Não	Sim	Não	Diabetes Hipotireoidismo	Pb-S 1,39±0,13µg dL ⁻¹ Pb-P 2,51±0,76 µgL ⁻¹ Pb-U 2,91±0,97µ g ⁻¹ creatinina Atividade ALAD 13,3 UL ⁻¹ Polimorfismo rs1800435 ALAD 1-1	8 anos

Conforme apresentado na tabela 24, o indivíduo referente à amostra VG001, sexo masculino, 66 anos, apresenta diabetes, obesidade grau 2, hipotireoidismo. Os valores de Pb-S e Pb-U estão abaixo dos observados na literatura. No entanto, Pb-P está elevado em comparação a outros estudos. A exposição ao chumbo pode influenciar na atividade da tireoide e também contribuir para o ganho de peso corporal. A obesidade interfere na cinética do chumbo no organismo e diabéticos possuem alterações no funcionamento da ALAD, em geral, a inibição da atividade enzimática (FERNANDEZ-CUARTERO *et al.*, 1999). Pacientes com hipotireoidismo podem apresentar atividade da ALAD mais elevada (SOUZA *et al.*, 2007). Desta forma, a inibição enzimática pode estar relacionada exclusivamente a estas condições médicas, ou ainda ter relação com outros fatores, como a ocupação, fumo, ingestão de bebida alcoólica, tempo de exposição ambiental no condomínio ao chumbo.

O indivíduo exerceu por 19 anos a função de mecânico de vôo, o que consiste em exposição ao chumbo tetraetila pela gasolina de aviação e chumbo inorgânico em emissões de particulados da aeronave, ou presente em aditivos de extrema pressão em lubrificantes, que apresentam chumbo em sua composição (PARK, GU, LEE *et al.*, 2013; BUONANNO *et al.*, 2012; ZIMOZINSKI, 2010). Além disso, o indivíduo foi fumante por 16 anos e faz a ingestão de bebida alcoólica, afirmando beber de 1 a 4 dias, cerveja e vinho, em quantidade considerável. O fumo e o álcool interferem na atividade da ALAD (GARCIA-LÉSTON *et al.*, 2011; LOPEZ *et al.*, 2002; SIEG *et al.*, 1991; FLEGAR-MESTRIC, TADEJ, SUBIC-ALBERT *et al.*, 1987). Bebidas alcoólicas podem conter chumbo advindo de contaminação no processo de fabricação e, no caso do vinho, dependendo do tipo de recipiente que é armazenado, o chumbo do vasilhame pode ser transferido a bebida (MONTEIRO *et al.*, 2015; GUERREIRO *et al.*, 2014; CAPITANI *et al.*, 2009; LOPEZ *et al.*, 2002). O indivíduo possui 16 anos de moradia no condomínio, o que aumenta a exposição ambiental ao chumbo pelo solo, água e ar.

O indivíduo referente à amostra VG002, do sexo feminino, 54 anos, é ex-fumante, após fumar por 3 anos, faz ingestão de vinho, tem obesidade grau 1, além de possuir genótipo ALAD 1-2. Portadores do alelo 2 podem apresentar concentração de chumbo em sangue mais elevada, portanto, maior quantidade deste metal estaria ligada aos eritrócitos e, conseqüentemente, à ALAD (FUJIHARA *et al.*, 2009). O tempo de moradia no condomínio foi de 6 anos, tempo relevante para exposição ambiental ao chumbo e apresentação de efeitos.

Para o indivíduo referente à amostra VG004, sexo feminino, 47 anos, pré-obeso, não foi encontrado nenhum fator de risco que contribua para a inibição da ALAD, a não ser o

tempo de moradia no condomínio de 16 anos e a possível exposição ambiental ao chumbo neste período. Houve relato de episódio de aborto espontâneo pela moradora, um dos possíveis efeitos tóxicos do chumbo no sistema reprodutor (RAHMAN, KUMARATHASAN, GOMES, 2016; HERTZ-PICCIOTTO, 2000; BORJA-ABURTO *et al.*, 1999).

Para o indivíduo referente à amostra VG005, sexo feminino, 18 anos, peso normal, os fatores de risco para a inibição de ALAD foram o consumo de maconha e o tempo de residência no condomínio de 15 anos. O dado clínico relatado foi anemia, que representa já um possível efeito relacionado ao chumbo no sistema hematopoiético.

O indivíduo referente à amostra VG007, sexo feminino, 19 anos, não apresenta nenhum fator de risco que possa estar relacionado à inibição da ALAD, exceto o tempo de residência de 16 anos no condomínio, apresentando anemia como um dos possíveis efeitos tóxicos do chumbo no sistema hematopoiético (RONDÓ *et al.*, 2011; MINOZZO *et al.*, 2009; SOUZA & TAVARES, 2009). Não foram informados os dados de altura e peso pelo morador, não sendo possível classificar o peso corporal de acordo com o IMC.

O indivíduo VG008 é do sexo feminino, 45 anos e apresenta obesidade grau 2. Os possíveis fatores de risco associados à inibição da ALAD são ser ex-fumante há dez anos, exibir o alelo 2 polimórfico e o tempo de condomínio de 16 anos. Dentre os clínicos, apresentou hipertensão arterial, obesidade, doença renal que pode estar relacionada com efeito do chumbo sobre o sistema cardiovascular, endócrino, renal, respectivamente (GAMBELUNGHE *et al.*, 2016; POREBA *et al.*, 2011; DOROSZKO, 2008).

Para o indivíduo referente à amostra VG009, sexo masculino, 48 anos, que possui obesidade grau 2, os fatores de risco para inibição da ALAD são as atividades anteriores de forneiro de indústria de fabricação de tubulações/ predial (17 anos) e aciaria (9 anos), atividade atual de operador de ponte rolante, tempo de residência no condomínio de 16 anos. Apresenta doença renal, um dos possíveis efeitos do chumbo sobre sistema renal e hipotireoidismo, um dos possíveis efeitos do chumbo sobre a atividade da tireoide.

O indivíduo VG016 apresentou como fatores de risco para inibição da atividade da ALAD a ocupação em serviço de xerox, devido a possível inalação de pó de tonner, contendo metais, ser ex-fumante, fazer ingestão de bebida alcoólica, tempo de moradia de 17 anos e 6 meses. Como dado clínico relevante, apresenta anemia como um dos possíveis efeitos do chumbo no sistema hematopoiético. Não foi possível a classificação do morador em relação ao IMC, por não ter sido informados altura e peso.

Para o indivíduo VG022, sexo masculino, 41 anos, peso normal, os fatores de risco para inibição da atividade da ALAD foram a ocupação de policial militar, a ingestão de bebidas alcoólicas, hipotireoidismo, tempo de residência no condomínio de 14 anos.

O indivíduo VG026, sexo feminino, 31 anos, pré-obesa, não apresentou nenhum fator de risco para inibição da atividade da ALAD, exceto o tempo de residência do condomínio de 16 anos. Em relação aos dados clínicos, possuía filho com autismo infantil- transtorno global de desenvolvimento, que pode ocorrer à descendência de mulheres com exposição ao chumbo durante a gravidez e no período da amamentação (DICKERSON *et al.*, 2016; MOSTAFA *et al.*, 2016). Apresenta ainda psoríase, sinusite, rinite, tendinite. O chumbo favorece o desenvolvimento de doenças auto-imunes, como também de respostas alérgicas que podem estar associadas à sinusite e rinite (HSIAO *et al.*, 2011; MISHRA, 2009). A psoríase, doença autoimune, pode ocorrer em situações de exposição crônica a metais. Estudos demonstraram associação significativa entre psoríase e alterações nos níveis séricos de zinco, níquel, cobre, sódio, potássio, magnésio, selênio (SHEIKH *et al.*, 2016; BASAVARAJ *et al.*, 2009; SMITH *et al.*, 1994; HINKS, YOUNG, CLAYTON, 1987). Em estudo realizado com crianças, sendo 66 casos e 22 controles na China, os níveis de chumbo do organismo apresentou correlação positiva com o grau de severidade de eczema (HON *et al.*, 2011). Os níveis corporais de mercúrio foi associado à dermatite atópica em estudo realizado na Alemanha, com escolares, sendo 164 casos e 213 controles (WEIDINGER *et al.*, 2004). Mais estudos são necessários para avaliação da relação do chumbo com a psoríase. Como o indivíduo VG026 relatou sintoma de psoríase, seria necessário a avaliação dermatológica para o diagnóstico diferencial de dermatites e eczemas, bem como também a avaliação de níveis corpóreos de outros metais, como níquel, cobre e mercúrio.

O indivíduo VG028, sexo feminino, 39 anos, pré-obesa, apresentou como fatores de risco para inibição da ALAD, a ocupação, o hipotireoidismo, diabetes, a ingestão de bebida alcoólica e tempo de residência no condomínio de 8 anos.

10.2.5 Frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo SNP rs1800435

A maioria dos sujeitos do estudo (92,59%) apresentou genótipo ALAD 1-1 para o polimorfismo rs1800435 da ALAD, enquanto que apenas dois participantes eram portadores do alelo polimórfico 2 (ALAD 1-2). De acordo com a literatura, a maior suscetibilidade aos efeitos do chumbo sobre o sistema nervoso acomete pessoas com genótipo ALAD 1-1 (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015).

Concentrações mais elevadas de chumbo plasmático são, em geral, encontradas nos portadores de alelo 2, que tendem apresentar efeitos renais mais severos e menor tendência a desenvolver efeitos neurotóxicos, quando comparados aos portadores do alelo 1. Desta forma, o alelo 2 poderia ter um efeito, induzido pelo chumbo, protetivo em relação à neurotoxicidade, porém negativo quanto à nefrotoxicidade (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015).

Ainda existem muitas controvérsias quanto ao papel desempenhado pelo polimorfismo na suscetibilidade aos efeitos do chumbo. Os achados de algumas pesquisas mostraram que não existe nenhum efeito do polimorfismo da ALAD sobre as concentrações de chumbo no sangue (MONTENEGRO *et al.*, 2006a, 2006b; HU *et al.*, 2001; SCHWARTZ *et al.*, 1995; SMITH *et al.*, 1995). Todavia, outros estudos apontaram para uma maior suscetibilidade à toxicidade do chumbo nos portadores do alelo, devido aos níveis de chumbo no sangue serem mais elevados do que naqueles com alelo 1 (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015; PEREZ-BRAVO *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2001; WETMUR *et al.*, 1991).

O indivíduo VG008 desse estudo, portador do alelo 2, exibiu efeito nefrotóxico (cálculos renais), em conformidade aos dados encontrados na literatura que relacionam o alelo polimórfico 2 com efeitos renais, em geral, de maior severidade (KAYAALTI *et al.*, 2015; SZYMANSKA-CHABOWSKA *et al.*, 2015; TASMIN *et al.*, 2015). A hipertensão arterial e doenças respiratórias (asma e bronquite) foram também relatadas pelo indivíduo. Em relação à hipertensão arterial, no estudo realizado na Coreia com 795 trabalhadores expostos a chumbo e 135 controles, foi observado que o genótipo da ALAD não apresentou associação com a pressão arterial e também não modificou as associações entre níveis de chumbo e a pressão arterial. Por outro lado, o polimorfismo do receptor VDR esteve associado à pressão

arterial e ao risco de desenvolver hipertensão arterial (POREBA *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2001).

A influência do polimorfismo da ALAD G177C sobre o Pb-P e a razão entre Pb-P/Pb-S foi avaliada em uma população exposta ambientalmente ao chumbo, composta por 142 voluntários da cidade de Bauru, SP. A concentração de chumbo plasmático e a razão Pb-P/Pb-S foram significativamente mais elevadas nos indivíduos de genótipo ALAD 1-2 e ALAD 2-2. Os autores sugeriram que essa elevação pudesse ter origem na maior mobilização de chumbo do osso apresentada pelos portadores do ALAD-2, uma vez que Pb-P e a razão Pb-P/Pb-S têm se mostrado dependentes da liberação de chumbo do osso que, conseqüentemente, aumenta Pb-P assim como a razão entre o chumbo no plasma e sangue nos indivíduos do grupo genótipo ALAD 1-2 / 2-2 (MONTENEGRO *et al.*, 2006a, 2006b).

As médias aritméticas de Pb-S , Pb-P e Pb-U , atividade da ALAD, % Pb-P/Pb-S para os portadores dos genótipos ALAD 1-1 e ALAD 1-2 , estão dispostos na tabela 25. Observa-se que as médias aritméticas de Pb-S e Pb-P foram próximas, sendo um pouco menor nos indivíduos com genótipo ALAD 1-2. Já as médias aritméticas de Pb-U e atividade da ALAD foram menores para os indivíduos ALAD 1-2. Em relação a médias geométricas de Pb-S e Pb-P, os indivíduos ALAD 1-2 exibiram valores maiores, e quanto aos níveis de Pb-U e atividade da ALAD, apresentaram valores menores, em relação aos indivíduos com genótipo ALAD 1-1.

A razão % Pb-P/ Pb-S para o alelo ALAD 1-1 foi de 16,8 % e para ALAD 1-2 de 13,5%, ambas elevadas. Não foi observada diferença significativa entre os genótipos da ALAD e os níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U, atividade da ALAD, % Pb-P/ Pb-S, na aplicação do teste t- student ($p=0,47$; 0,48; 0,18; 0,13; 0,42, respectivamente), nos 27 indivíduos do Condomínio Volta Grande IV (Tabela 25).

Tabela 25 - Médias aritméticas e geométricas dos níveis de Pb-S, Pb-P, Pb-U, % Pb-P/Pb-S nos indivíduos com genótipo ALAD 1-1 e ALAD 1-2

	ALAD 1-1 n=25	ALAD 1-2 n=2	p valor unilateral t- student p<0,05
Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$)	2,14 (0,83) 1,98 (1,49)	2,10 (0,38) 2,08 (1,20)	0,47
Pb-P ($\mu\text{g dL}^{-1}$)	2,81 (2,71) 2,02 (2,18)	2,73 (0,70) 2,60 (1,29)	0,48
Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)	4,57 (4,51) 3,21 (2,36)	1,57(1,30) 1,27 (2,54)	0,18
Atividade da ALAD	24,95 (8,37) 23,52 (1,43)	18,10 (3,67) 17,91 (1,22)	0,13
%Pb-P/Pb-S	16,82(22,01) 10,20 (2,55)	13,53 (5,82) 12,88 (1,56)	0,42

Média aritmética (desvio padrão)

Média geométrica (desvio padrão geométrico)

As frequências genóticas e alélicas para o polimorfismo rs1800435 nos indivíduos estudados são apresentadas na tabela 26.

Tabela 26 - Frequências genóticas e alélicas para o polimorfismo rs1800435

Frequência genotípica			Frequência alélica	
Genótipo			Alelo	
n observado (%)			n (%)	
ALAD 1-1	ALAD 1-2	ALAD 2-2	Alelo 1	Alelo 2
25 (92,59)	2 (7,40)	0 (0,00)	Selvagem	polimórfico
			25 (0,9630)	2 (0,0370)

A distribuição das variantes genéticas do polimorfismo da ALAD foi examinada em brasileiros brancos e negros autorreferidos, residentes em Bauru, SP. Um total de 234 sujeitos foi selecionado aleatoriamente, sendo 115 negros e 119 brancos. Entre os negros, 106 indivíduos apresentaram genótipo 1-1 (92%), 9 apresentaram o genótipo 1-2 (7%) e nenhum apresentou genótipo 2-2. Para os 119 brancos, o genótipo 1-1 foi encontrado em 97 (81%), o genótipo 1-2 em 21 (17%) e o genótipo 2-2 em apenas 1 (1%). O alelo 2 bem como os

genótipos de variante heterozigoto (ALAD 1-2) ou homozigoto (ALAD 2-2) para este polimorfismo foram mais raros na população negra (MONTENEGRO *et al.*, 2006b). No caso dos residentes de Volta Grande IV, os indivíduos referentes às amostras VG002 e VG008 apresentaram os genótipos (ALAD 1-2), sendo um branco e outro pardo.

No estudo realizado com população da Amazônia exposta a chumbo e mercúrio, foi observado que, entre as 332 pessoas avaliadas, 314 (95 %) apresentavam genótipo ALAD 1-1, 18, o genótipo ALAD 1-2 (5 %) e nenhum indivíduo apresentou o genótipo ALAD 2-2. Estas frequências estão próximas às obtidas neste presente estudo (BARCELOS *et al.*, 2015).

Em comparação aos estudos de outros países, conforme tabela 6, as frequências genotípicas para ALAD obtidas na população do Condomínio de Volta Grande IV foi semelhante à encontrada na população exposta ocupacionalmente da China, em 156 indivíduos avaliados em 2014, em 156 em 2012 e em 184 em 2011 (WAN *et al.*, 2014; YAN, WU, SUNG, 2012; ZHENG *et al.*, 2011).

Quanto aos estudos realizados com população sem exposição ocupacional, conforme tabela 7, as frequências genotípicas para o genótipo ALAD 1-1 foram menores que a apresentadas na avaliação de 94 indígenas Nahuas do México (98,91%); 92 indígenas huicholes (100%); 101 indivíduos da África do Sul (100%) ; 122 de Gana (100%), 196 da Namíbia (100%); 86 (98,94%) e 89 (96,63%) chineses; 222 da Mongólia (95,95%), 172 Katmandu do Nepal (92,70%), porém foi maior que a observada em 324 indivíduos avaliados na Áustria (82,6%); 68 da Espanha (80,90%); 107 (86,70%) e 295 (85,80%) em Portugal; 53 Katyang do Nepal (81,13%); 39 do Sri Lanka (72,22%) e 61 da Turquia (65,6%). Em relação à frequência do genótipo ALAD 1-2, a observada na população do Condomínio Volta Grande IV foi menor que os 324 avaliados na Áustria (17,1%); 68 espanhóis (19,10%); 107 (13,30%) e 295 (14,20%) em Portugal; 53 Katyang do Nepal (16,98%); 39 do Sri Lanka (22,22%) e 61 da Turquia (31,10%); porém maior que a observada em 86 (1,16%) e 89 (3,37%) chineses; 22 indivíduos da Mongólia (4,05%); 178 Katmandu do Nepal (6,74%).

Quanto a não ocorrência do genótipo ALAD 2-2, foi semelhante aos estudos acima citados dos indígenas do México, da Espanha, de Portugal, África do Sul ; e se diferenciando do estudo da Áustria, em que a ocorrência de genótipo ALAD 2-2 foi de 0,12%; de Katmandu e Katyang do Nepal, com ocorrência de 0,56% e 1,89%; Sri Lanka , com 5,56%; Turquia , com 3,30% (GARCÍA-LESTÓN *et al.*, 2012; MOREIRA *et al.*, 2012; ZHENG *et al.*, 2011; FUJIHARA *et al.*, 2009; GUNDAKER *et al.*, 2009).

10.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

10.3.1 Teste de Normalidade

A fim de verificar se as amostras apresentavam distribuição normal, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk, indicado para o caso de n ser maior do que 2 e menor do que 51, para K amostras. Foram testadas as seguintes hipóteses, para $\alpha = 0.05$:

H0: A variável avaliada apresenta distribuição normal

H1: A variável avaliada não apresenta distribuição normal

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 15. O resultado foi significativo para os conjuntos de dados de Pb-P e de Pb-U ($p < 0,05$). Assim, a hipótese H0 foi rejeitada. Logo, as variáveis Pb-P e Pb-U não apresentaram distribuição normal. Por outro lado, os valores de Pb-S e atividade da ALAD se distribuíram dentro da normalidade.

Tabela 27 - Teste de Shapiro-Wilk para as amostras de dados de Pb-S, Pb-P, Pb-U e atividade da ALAD

Amostra	Pb-S $\mu\text{g dL}^{-1}$	Pb-P $\mu\text{g L}^{-1}$	Pb-U $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina	Atividade da ALAD UL^{-1}
Média	2,13	2,80	4,35	24,52
Desvio Padrão	0,80	2,61	4,41	8,24
W	0,94	0,73	0,70	0,96
p	0,22	0,008	0,007	0,40

*W = Teste de Shapiro-Wilk, p = p valor

Foi realizada a transformação logarítmica da amostra de Pb-P, com a finalidade de transformá-la em distribuição normal e utilizar estatística paramétrica para todos os dados. Aplicou-se novamente o teste de Shapiro, após a transformação logarítmica, verificando a normalidade (Tabela 28). Os resultados não foram significativos ($p > 0.05$), logo aceita-se H0. Assim, as amostras de dados de Pb-P e Pb-U tornaram-se distribuições normais, sendo possível a aplicação do teste paramétrico de Correlação de Pearson para todas variáveis que foram avaliadas.

Tabela 28 - Teste de Shapiro-Wilk, após a transformação logarítmica das amostras de dados de Pb-P e Pb-U

Amostra	Pb-P	Pb-U
Média	0,3156	0,4776
Desvio Padrão	0,3285	0,3829
W	0,9331	0,9362
p	0,0922	0,1164

*W = Teste de Shapiro-Wilk, p = p valor

10.3.2 Correlação de Pearson

A correlação de Pearson foi utilizada para testar o grau de associação entre as variáveis ($\alpha = 0,05$). Dois pressupostos foram avaliados. A primeira hipótese, H0, significava a ausência de associação entre as variáveis ($r = 0$). Caso houvesse correlação entre as variáveis, r seria diferente de 0 e a segunda hipótese, H1, seria verdadeira. Os resultados dessas correlações são encontrados na Tabela 29. Este teste foi aplicado nos seguintes conjuntos de dados:

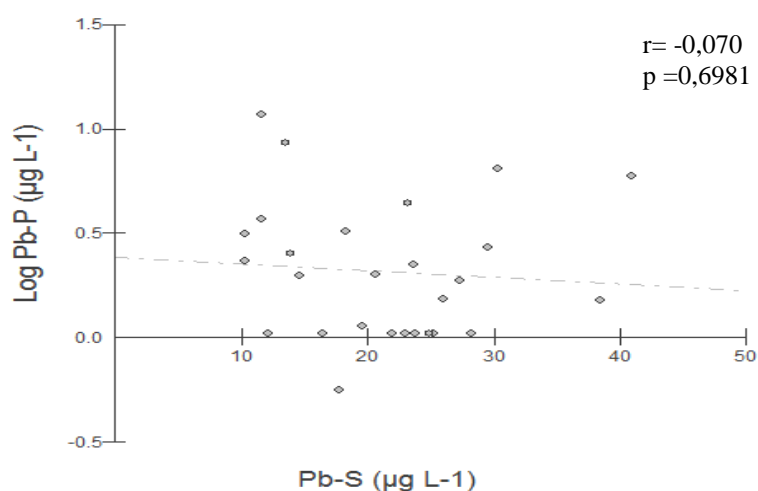
- Pb-S e Pb-P;
- Pb-S e Pb-U;
- Pb-S e atividade da ALAD;
- Pb-P e Pb-U;
- Atividade da ALAD e Pb-P
- Atividade da ALAD e Pb-U;

Tabela 29 - Correlação de Pearson entre os diferentes biomarcadores ($\alpha = 0,05$).

Variáveis	r	p
Pb-S x Log Pb-P	-0,07	0,6981
Pb-S x Log Pb-U	-0,2178	0,2751
Pb-S x Atividade ALAD	0,2144	0,2829
Log Pb-P x Log Pb-U	-0,1684	0,4010
Atividade ALAD x Log Pb-P	0,3067	0,1196
Atividade ALAD e Log Pb-U	0,1137	0,5724

Os dados de chumbo plasmático já haviam sido convertidos para função log, a fim de torná-la uma distribuição normal. O resultado da correlação de Pearson entre “Pb-S” e “Log de Pb-P” mostrou $r \neq 0$, indicando que a hipótese H1 foi aceita e a H0, rejeitada. No entanto, o p valor foi maior que 0,05. Assim, apesar da fraca correlação negativa entre Pb-S e Pb-P, não houve significância estatística entre essas variáveis (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Correlação entre Pb-S ($\mu\text{g L}^{-1}$) e log Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$)



Em comparação a outros estudos, não foi observado ocorrência de correlação negativa entre as variáveis Pb-S e Pb-P avaliadas em populações.

Em estudo com trabalhadores alemães de fábrica de fundição de chumbo, nos 29 indivíduos avaliados que estavam na ativa, foi observado uma correlação positiva significativa entre níveis de Pb-S e Pb-P ($r_s = 0,74$, $p < 0,001$). Para os 10 aposentados da fábrica avaliados, também foi observada uma correlação positiva significativa entre Pb-S e Pb-P ($r_s = 0,90$, $p < 0,001$) (SCHÜTZ *et al.*, 2004).

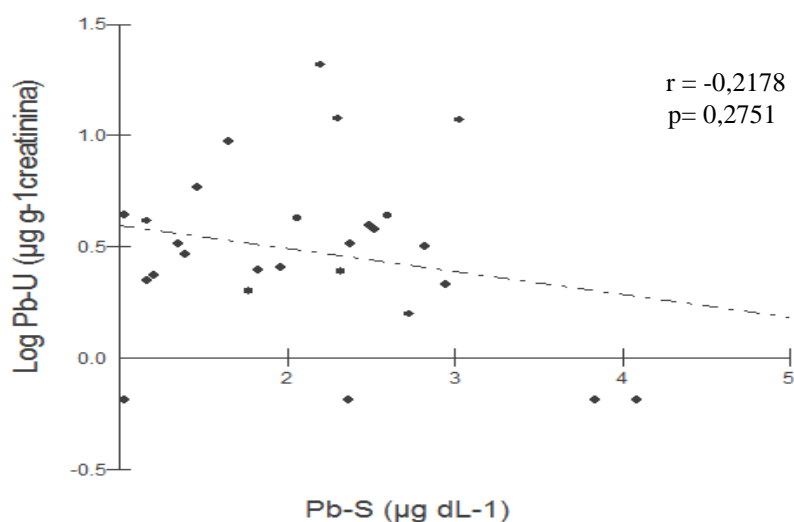
No estudo com 145 trabalhadores, sendo 110 expostos ocupacionalmente ao chumbo, as variáveis Pb-S e Pb-P apresentaram correlação positiva significativa ($r = 0,97$), sendo obtida a relação de $\log \text{Pb-P} = 0,00225 \cdot \text{Pb-S} - 0,58$ (BERGDAHL *et al.*, 1997). Estudo realizado com 290 trabalhadores expostos e 91 não expostos na China, houve correlação positiva significativa entre Pb-S e Pb-P ($r_s = 0,83$, $p < 0,01$) (TIAN *et al.*, 2013). Na avaliação de 43 homens de uma fábrica de fundição e 7 controles, foi observada correlação positiva significativa ($r = 0,90$ e $p < 0,001$). A associação entre as variáveis Pb-S e Pb-P não foi linear,

ocorrendo diminuição da proporção Pb-S/Pb-P, conforme aumento de Pb-P (SCHÜTZ *et al.*, 1996).

No estudo com trabalhadores chineses expostos (290) e não expostos (91), foi observada uma correlação positiva entre Pb-P e Pb-S ($r = 0,83$; $p < 0,01$) (TIAN *et al.*, 2013)

A distribuição de Pb-U não foi normal, sendo realizada a transformação logarítmica. A correlação de Pearson entre “Pb-S” e Log de “Pb-U” encontrou “r” diferente de zero, sendo aceita a H1 e rejeitada H0. O p valor foi maior que 0,05. Desta forma, houve correlação negativa, porém não significativa entre as variáveis “chumbo em sangue total” e “chumbo urinário” (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Correlação entre Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$) e log Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)



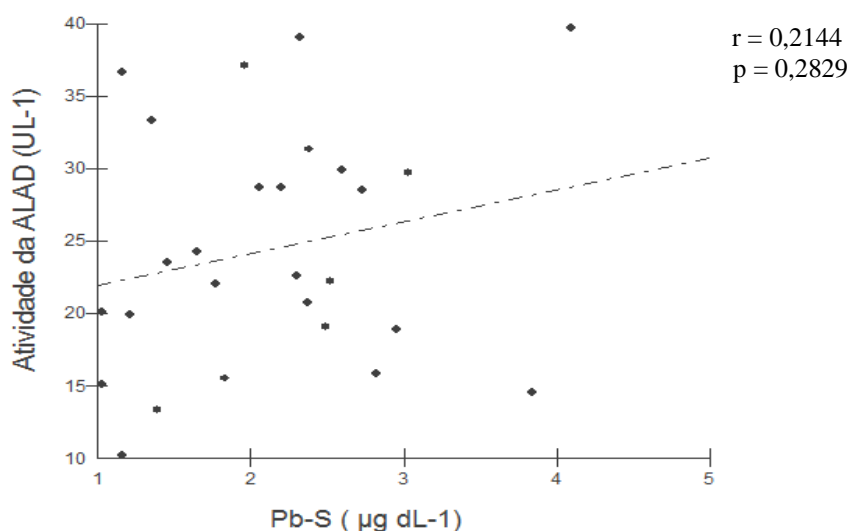
No estudo realizado no Rio de Janeiro com 95 trabalhadores expostos ocupacionalmente ao chumbo, 130 adultos e 22 crianças com exposição ambiental, foi obtida uma correlação total significativa positiva entre Pb-S e Pb-U ($r = 0,771$; $p = 0,000$). Para o grupo dos adultos com exposição elevada (61 indivíduos) e moderada (34 indivíduos), a correlação foi significativa positiva ($r = 0,482$; $p = 0,004$; $r = 0,526$; $p = 0,000$, respectivamente). Os adultos expostos ambientalmente (130 indivíduos), a correlação entre Pb-S e Pb-U foi positiva e significativa ($r = 0,322$; $p = 0,000$). Já no grupo de crianças expostas ambientalmente (22 indivíduos), a correlação entre Pb-S e Pb-U foi negativa não significativa ($r = -0,356$; $p = 0,104$), como a encontrada na população do Condomínio Volta Grande IV (MOREIRA & NEVES, 2008).

Em estudo realizado com 145 trabalhadores, sendo 110 expostos ao chumbo na Suécia, a correlação entre Pb-S e Pb-U obtida foi positiva e significativa ($r = 0,78$; $p < 0,001$), diferente do obtido na população do Condomínio de Volta Grande IV (BERGDAHL *et al.*, 1997). No estudo com 39 trabalhadores, nos 29 que estavam na ativa foi observada correlação positiva e significativa ($r = 0,78$; $p = 0,008$, entre Pb-S e Pb-U, também diferente do encontrado na população de Volta Grande IV (SCHÜTZ *et al.*, 2004).

No estudo realizado na China com 290 trabalhadores expostos ao chumbo e 91 trabalhadores não expostos, foi encontrado uma correlação positiva e significativa entre Pb-S e Pb-U ($r = 0,75$; $p < 0,01$) (TIAN *et al.*, 2013).

O resultado do teste entre “Pb-S” e “atividade da ALAD” também mostrou que H1 era verdadeira, com $r \neq 0$, sendo rejeitada H0. Como o p valor foi maior que 0,05, houve correlação positiva, mas não significativa entre a variável “chumbo em sangue total e a atividade da ALAD” (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Correlação entre log Pb-S ($\mu\text{g dL}^{-1}$) e atividade da ALAD (U L^{-1})



No geral, com base na literatura a atividade da ALAD apresentou correlação negativa com níveis de Pb-S entre 5 a $90 \mu\text{g dL}^{-1}$. A correlação positiva obtida foi um resultado atípico, já que o esperado seria a associação quanto maior a concentração de chumbo em sangue total, menor a atividade da ALAD (CAMPAGNA *et al.*, 1999; ATSDR, 2007). Porém, este resultado pode ser explicado pelos baixos níveis de chumbo em sangue em uma amostra de tamanho reduzido e pela interferência de outros fatores na atividade da ALAD, como hipotireoidismo, que pode levar ao aumento da atividade da ALAD de forma independente da concentração de chumbo sanguíneo. Outra condição que interfere na ALAD é a diabetes, que

pode em pacientes descompensados afetar a atividade da ALAD para uma inibição, assim como o consumo de álcool ou o fumo (SOUZA, 2004; CAMPAGNA *et al.*, 1999; FERNANDEZ-CUARTERO *et al.*, 1998; SIEG *et al.*, 1991). Nos 11 indivíduos em que foi detectada a inibição da atividade da ALAD, quatro possuíam hipotireoidismo, dois possuíam diabetes e hipotireoidismo e dois alelos polimórficos. Todos estes fatores podem atuar como interferentes, representando variáveis de confundimento na associação de Pb-S e atividade da ALAD.

No estudo realizado no Brasil com 257 trabalhadores de fábrica de bateria foi observado correlação negativa significativa entre Pb-S e atividade da ALAD ($r_s = -0,20$; $p < 0,010$) (DA CUNHA MARTINS *et al.*, 2015).

Em estudo realizado em Portugal com 70 trabalhadores expostos ao chumbo e 38 controles foi observada correlação negativa significativa entre Pb-S e atividade da ALAD ($r = -0,588$; $p < 0,01$), diferente do encontrado na população de Volta Grande IV (GARCÍA-LESTON *et al.*, 2011).

No estudo com 191 trabalhadores expostos ao chumbo e 26 não expostos, no Japão, foi observada uma correlação negativa significativa entre Pb-S e log ALAD ($r = -0,908$; $p < 0,01$ e equação de regressão $y = -0,00125 \text{ Pb-S} + 1,826$. Na população do Condomínio de Volta Grande IV, a equação que indicaria como a atividade da ALAD varia em função de Pb-S é $y = 1,6253 + 0,0209 \text{ Pb-S}$ (SAKAI & MORITA, 1996).

No estudo realizado na Argentina com voluntários, que faziam consumo de bebida alcoólica há pelo menos um ano antes do início da pesquisa, foi observado correlação negativa significativa entre Pb-S e Log da atividade da ALAD ($r = -0,35$; $p < 0,01$), no grupo de 55 bebedores de vinho, com ingestão de 2 a 2,5 litros diariamente de vinho tinto, com média aritmética de Pb-S de $195 \pm 82 \mu\text{g L}^{-1}$, atividade da ALAD de $26,9 \pm 11,4 \text{ UL}^{-1}$ e amostras de vinho avaliadas no estudo com média de $89,2 \pm 12,1 \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (LOPEZ *et al.*, 2002).

No grupo dos bebedores de whisky, vodka, conhaque ou grappa, com ingestão de 0,5 a 0,75 litros diariamente, com média de Pb-S de $159 \pm 69 \mu\text{g L}^{-1}$, atividade da ALAD de $28,3 \pm 11,3 \text{ UL}^{-1}$, foi observado correlação negativa significativa entre Pb-S e Log da atividade da ALAD ($r = -0,25$, $p < 0,01$). As amostras das bebidas avaliadas apresentaram média de níveis de chumbo de $12,8 \pm 21,9 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo uma com $52 \mu\text{g L}^{-1}$ e quatro não detectáveis, sendo considerado de $3 \mu\text{g L}^{-1}$. Para o grupo de não consumidores de bebidas alcoólicas ou de consumidores ocasionais de vinho (ingesta inferior a 10 vezes por mês e quantidade menor

que 150 mL para cada vez, nos últimos 5 anos), com Pb-S de $72 \pm 43 \mu\text{g L}^{-1}$, atividade da ALAD de $48,3 \pm 13,5$, foi observada correlação negativa significativa entre níveis de Pb-S e atividade da ALAD ($r = -0,39$; $p < 0,01$) (LOPEZ *et al.*, 2002). As correlações negativas e significativas alcançadas, principalmente no grupo de não ingestão ou eventual consumo de vinho, estão em desacordo ao observado na população do Condomínio Volta Grande IV.

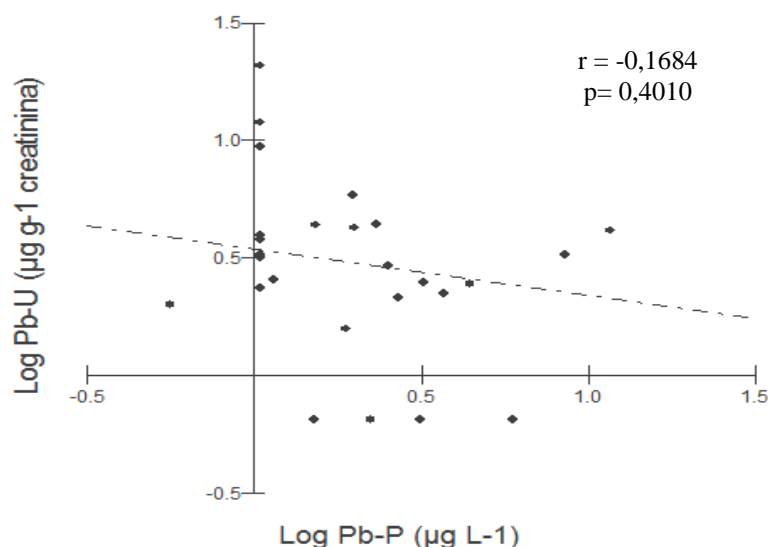
No estudo realizado na França com 233 mães, foi observado correlação negativa não significativa entre Pb-S materno e atividade da ALAD materna não ajustada ($r_s = -0,10$; $p = 0,11$). Após o ajuste da atividade da ALAD materna para idade, ingestão de café, chá, fumo do tabaco e consumo de álcool, a correlação continuou negativa e não significativa ($r = -0,06$; $p = 0,35$). No segundo grupo de avaliação, composto por 234 mães e seus respectivos filhos, a correlação entre o Pb-S materno e a atividade da ALAD do cordão umbilical não ajustada foi negativa e não significativa ($r = -0,10$; $p = 0,11$) e a correlação entre Pb-S materno e atividade da ALAD do cordão umbilical ajustada para as variáveis maternas de idade, ingestão de café, chá, fumo do tabaco e consumo de álcool, foi negativa, mais fraca e não significativa ($r = -0,07$; $p = 0,31$) (CAMPAGNA *et al.*, 1999).

Já a correlação entre os níveis de chumbo em sangue no cordão umbilical (Pb-SC) e atividade de ALAD materna não ajustada, em 236 mães avaliadas e seus respectivos bebês foi negativa e significativa ($r = -0,20$; $p = 0,001$). Entre Pb-SC e a atividade da ALAD materna ajustada, a correlação foi negativa e não significativa ($r = -0,16$; $p = 0,01$). A correlação entre Pb-SC e atividade da ALAD não ajustada do cordão umbilical em 237 bebês avaliados foi negativa, não significativa ($r = -0,09$; $p = 0,16$); e entre Pb-SC e atividade da ALAD ajustada, a correlação foi negativa e não significativa ($r = 0,08$; $p = 0,23$). Todos os resultados encontrados diferem do obtido na população de Volta Grande IV (CAMPAGNA *et al.*, 1999).

No estudo com 110 sujeitos expostos ocupacionalmente ao chumbo na Nigéria, foi avaliado a reversão da inibição da ALAD por vitamina C, sendo observado antes da administração da vitamina uma correlação negativa significativa entre chumbo em sangue e atividade da ALAD ($r = -0,631$; $p = 3,0 \times 10^{-12}$) e uma equação de regressão das variáveis de $y = -0,68443x + 53,88$. Depois da administração da vitamina D, a correlação entre Pb-S e atividade da ALAD se manteve negativa e significativa ($r = -0,586$, $p = 3,0 \times 10^{-9}$) e a equação de regressão de $y = -1,3434x + 67,13$. Esses achados também diferem do observado na população do Condomínio Volta Grande IV, que apresentaria a equação $y = 1,6253 + 0,0209 \text{ Pb-S}$ indicando como a atividade da ALAD poderia variar em função de Pb-S (ADEMUYIWA *et al.*, 2005).

O resultado do teste da correlação de Pearson entre “Pb-P” e “Pb-U” foi $r \neq 0$ e $p > 0,05$. Logo, a H1 foi aceita e rejeitada H0. Da mesma forma, houve correlação negativa, porém não significativa, entre a variável “Pb-P” e “Pb-U”.

Gráfico 4 - Correlação entre log Pb-P ($\mu\text{g L}^{-1}$) e log Pb-U ($\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina)



No estudo com 39 trabalhadores alemães da fábrica de fundição de chumbo, foi observado nos 29 trabalhadores da ativa uma correlação positiva e significativa entre Pb-P e Pb-U ($r = 0,41$; $p = 0,028$). Para os 10 trabalhadores aposentados, esta correlação também foi positiva e significativa ($r = 0,85$; $p = 0,002$) (SCHUTZ *et al.*, 2004). Esse resultado difere do observado na população do Condomínio Volta Grande IV, em que a relação entre Pb-P e Pb-U foi negativa e não significativa.

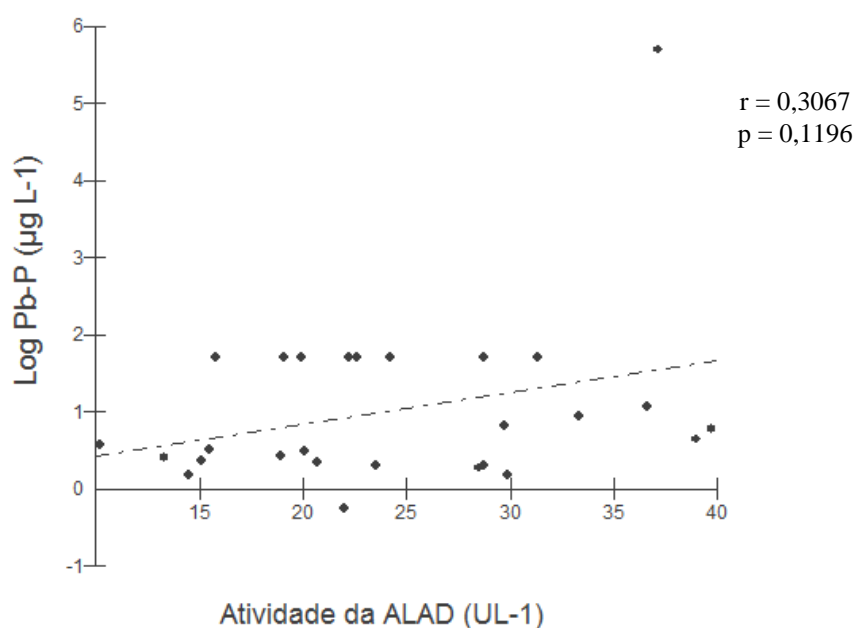
Em estudo que avaliou trabalhadores, alemães e suecos, com exposição a chumbo, sendo 98 ativos e 25 aposentados, foi observada uma correlação positiva e significativa entre Pb-P e Pb-U ajustado para densidade ($r = 0,78$), quando removido o ponto mais elevado de PbU, de $176 \mu\text{g L}^{-1}$ (BERGDAHL *et al.*, 1997). A correlação obtida na população do Condomínio de Volta Grande IV foi discordante dessa pesquisa.

No estudo com 48 indivíduos recicladores de bateria e 20 controles expostos ambientalmente, apresentaram equação da reta de regressão linear entre Pb-P e Pb-U ajustado para creatinina de $y = 1,16 + 0,03 x$, e para trabalhadores expostos, foi $y = 6,36 + 23,51x$ (SOMMAR *et al.*, 2014). Ambas as equações divergiram da obtida para a população do Condomínio Volta Grande IV, indicando a relação entre as variáveis Pb-P e Pb-U, que foi de $y = 0,3846 - 0,1445 x$.

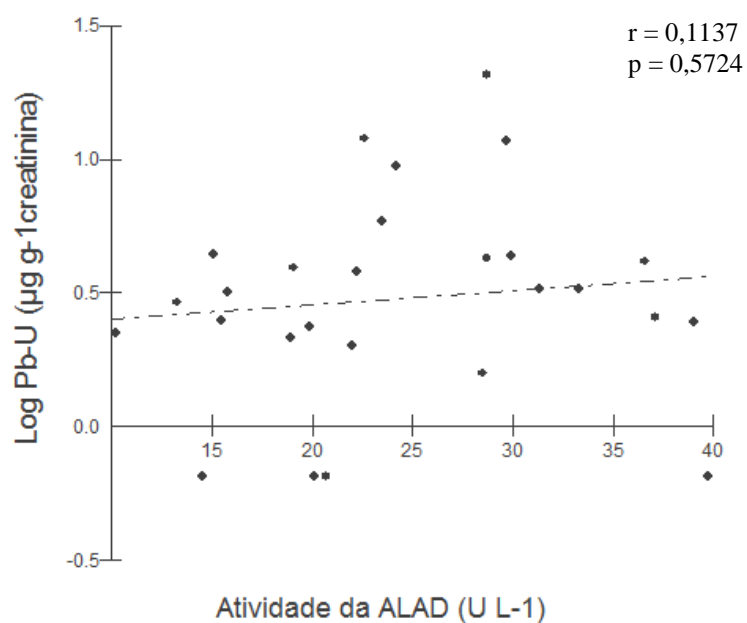
No estudo realizado na China com 290 trabalhadores expostos ao chumbo e 91 trabalhadores não expostos, foi obtida uma correlação positiva significativa entre Pb-P e Pb-U ($r = 0,69$, $p < 0,01$) (TIAN *et al.*, 2013). O resultado deste estudo diverge do observado na população de Volta Grande IV.

Para a correlação de atividade da ALAD e Pb-P, os valores de Pb-P foram transformados para função logarítmica. Os resultados da correlação de Pearson entre atividade da ALAD e “LogPb-P” também rejeitaram a hipótese H_0 e mostraram p valor maior do que 0,05. Assim, houve correlação positiva, porém não significativa. Não foram encontrados na literatura valores de referência para comparação da relação atividade da ALAD e chumbo em plasma.

Gráfico 5 - Correlação entre atividade da ALAD (UL^{-1}) e log de Pb-P ($\mu g L^{-1}$)



Também na correlação atividade da ALAD e “Pb-U”, os dados de Pb-U foram transformados para função logarítmica. O resultado do teste entre “atividade da ALAD” e “Log Pb-U” também rejeitou H_0 e o p valor foi maior que 0,05. Desta forma, houve correlação positiva, sem significância estatística.

Gráfico 6 - Correlação entre atividade da ALAD ($U L^{-1}$) e log Pb-U ($\mu g g^{-1}$ creatinina)

No estudo realizado com 75 trabalhadores coreanos expostos ao chumbo, foi observado correlação positiva significativa entre Pb-U (não ajustado para creatinina) e atividade da ALAD ($r = 0,2050$; $p < 0,05$). Embora na população do Condomínio de Volta Grande IV a correlação obtida não tenha sido significativa, foi positiva e o coeficiente de correlação foi próximo ao estudo com trabalhadores coreanos (JUNG *et al.*, 1998).

10.3.3. Teste do Qui Quadrado

Dado que a população de moradores do Condomínio de Volta Grande, composta por 27 indivíduos, forma um tamanho amostral muito pequeno para aplicação da fórmula convencional do Qui-quadrado de Pearson, optou-se por testar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). A aplicação do teste de EHW serve para identificar erros de genotipagem. O teste de EHW parte do pressuposto que a amostra estudada representa um modelo idealizado, teórico de população, que tem como características o tamanho muito grande, cruzamentos ao acaso, sem atuação de forças evolutivas como seleção natural, mutação, migração, deriva gênica, sendo mantidas as frequências alélicas e genotípicas ao longo das gerações.

Com o Qui quadrado, as hipóteses ($\alpha=0,01$) testadas foram valores observados estariam de acordo com o teoricamente esperado, em EHW (H0), e valores observados não estariam de acordo com o teoricamente esperado, em não EHW (H1).

Tabela 30 - Teste do Qui-Quadrado com correção para pequeno tamanho amostral

Genótipos SNP rs1800435	Número Observado	Número esperado
ALAD 1-1 CC (Homozigoto selvagem)	25	25,0370
ALAD 1-2 CG (Heterozigoto)	2	1,9259
ALAD 2-2 GG (Homozigoto variante)	0	0,0370
p valor		0,84

Como o p valor (Tabela 17) foi maior do que 0,01, não houve significância estatística, sendo rejeitada H1 e aceita a H0. Logo, o resultado sugere que a amostra estudada está em EHW.

Com aplicação do Qui Quadrado, foi constatada a presença de números esperados menores do que 5, de modo que o acaso pode ter apresentado um efeito sobre amostra. Sendo assim, o tratamento das amostras foi submetido ao teste G. Não foi aplicado o teste exato de Fisher por se tratar de uma amostra.

10.3.4 Teste G

Da mesma forma, aqui também foram testadas as seguintes hipóteses ($\alpha=0,01$) em que os valores observados estariam de acordo com o teoricamente esperado, H0 (em EHW). Similarmente, H1 seriam valores observados que não estariam de acordo com o teoricamente esperado (em não EHW).

O teste G ajustado de Willians foi de 0,0067 e p valor de 0,99, maior que 0,01. Desta forma foi rejeitada H1 e aceita a H0. Os valores observados estão de acordo com o teoricamente esperado, sugerindo que a população está em EHW. isto é, a princípio não ocorreu erros de genotipagem, que os cruzamentos nesta população ocorrem ao acaso, sem a ação expressiva de forças evolutivas (seleção natural, mutação, migração, deriva gênica), com as frequências genótípicas e alélicas sendo mantidas ao longo das gerações. Na ocorrência, por exemplo, de seleção natural, que é a reprodução (sobrevivência ou mortalidade) diferencial dos indivíduos, haveria alterações na frequência de determinados alelos, que poderiam aumentar ou diminuir com a sucessão das gerações (HOSKING *et al.*, 2004).

10.3.5 Teste de Correlação entre as diferentes variáveis

As associações entre os biomarcadores Pb-S, Pb-P, Pb-U, atividade da ALAD e as variáveis idade, tempo de fumo, tempo de moradia no Condomínio Volta Grande IV, tempo de moradia em Volta Redonda e contato com solo foram testadas. Os resultados encontrados são apresentados na Tabela 31.

Tabela 31 - Correlação entre os biomarcadores e as diferentes variáveis.

BIOMARCADORES	Pb-S	Pb-P	Pb-U	Atividade ALAD
Idade	0,5384 (0,0037)	0,0351 (0,8617)	0,0351 (0,8619)	0,1118 (0,5788)
Tempo Fumo	0,1345 (0,7737)	-0,6545 (0,1106)	0,4505 (0,3104)	-0,2651 (0,5655)
Tempo moradia no Condomínio Volta Grande IV	0,0850 (0,6732)	0,1635 (0,4252)	-0,0852 (0,5266)	-0,1274 (0,5266)
Tempo moradia em Volta Redonda	0,2594 (0,1913)	-0,0108 (0,9572)	0,2428 (0,2223)	0,1622 (0,4187)
Contato solo	0,0739 (0,7142)	0,0948 (0,6382)	0,0049 (0,9805)	0,1822 (0,3620)

(p valor)=0,05

As hipóteses ($\alpha=0,01$) testadas foram H_0 , para o caso de não haver associação entre os biomarcadores e as variáveis avaliadas ($r = 0$), e H_1 , quando havia essa associação ($r \neq 0$).

A correlação de Pearson foi aplicada para “Pb-S” e “idade”, uma vez que ambas as variáveis seguiam a distribuição normal. Como $r \neq 0$, foi aceita H_1 e rejeitada H_0 . Uma correlação positiva moderada e significativa foi encontrada entre idade e níveis de Pb-S (Tabela 31).

Como os valores de Pb-P não apresentavam uma distribuição normal, foi necessário utilizar a correlação de Spearman. Ao verificar a associação entre os níveis de Pb-P e a idade, encontrou-se uma correlação positiva desprezível e sem significância estatística (Tabela 32).

A associação entre “Pb-U” e “idade” também foi testada com o auxílio da correlação de Spearman, visto que ambas não seguiam a distribuição normal. Houve uma correlação positiva desprezível, porém não significativa entre essas variáveis (Tabela 32).

Como as variáveis “atividade da ALAD” e “idade” seguiam uma distribuição normal, a associação pode ser testada por meio da correlação de Pearson. O resultado foi também uma correlação positiva desprezível e não significativa (Tabela 32).

A correlação de Pearson foi utilizada para testar as variáveis “Pb-S”, “atividade da ALAD” e “tempo de fumo”, que seguiam uma distribuição normal. Para as demais, “Pb-P” e “Pb-U”, a correlação utilizada foi a de Spearman. Todas as correlações achadas entre os biomarcadores avaliados e o tempo de fumo variaram de desprezíveis a moderadas, porém sem significância estatística (Tabela 32).

A associação entre “Pb-S”, “Pb-P”, “Pb-U”, atividade da ALAD e “tempo de moradia no Condomínio” foi verificada por meio da correlação de Spearman, visto que “tempo de moradia no Condomínio” não apresentou distribuição normal. As correlações desprezíveis e não significativas entre os biomarcadores avaliados e o tempo de moradia podem ser vistas na tabela 32.

A associação entre os biomarcadores e o tempo de moradia em Volta Redonda foi avaliada. Correlação de Pearson foi utilizada para testar a associação de “Pb-S” e “atividade da ALAD” com “tempo de moradia em Volta Redonda”, por seguirem todas uma distribuição normal. Por outro lado, a correlação de Spearman foi utilizada para as variáveis “Pb-P” e “Pb-U”. Foram encontradas correlações desprezíveis e sem significância estatística, de acordo com a tabela 32.

A associação entre os biomarcadores e o contato com o solo também foi verificada. Como a variável “contato com solo” era categórica, foi transformada em numérica e por não

seguir uma distribuição normal, a correlação de Spearman foi utilizada para testar as associações. Todas as associações encontradas entre os biomarcadores e contato com solo foram desprezíveis e não significativas (Tabela 32).

Em comparação a literatura, no estudo realizado na Nigéria, com residentes próximos à mina de chumbo e zinco na comunidade de Adudu, houve uma correlação positiva significativa entre níveis altos de Pb-S e o grupo com faixa de 31-50 anos (n=79, média aritmética de Pb-S de $3,3 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de $0,7-14,8 \mu\text{g dL}^{-1}$), em comparação aos grupos com idade de 18-30 anos (n=9, média aritmética de Pb-S de $2,6 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de $0,9-5,1 \mu\text{g dL}^{-1}$) e > 50 anos (n=12, média aritmética de Pb-S de $2,3 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de $0,6-5,4 \mu\text{g dL}^{-1}$) (BELLO *et al.*, 2016).

Por outro lado, nas crianças avaliadas naquele estudo, os níveis mais altos de Pb-S foram correlacionados significativamente com crianças com menor faixa etária de 0 a 3 anos (n=6, média aritmética de Pb-S de $1,8 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de $1,2-2,7 \mu\text{g dL}^{-1}$), em comparação ao grupo com faixa de idade >2-4 anos (n=15, média aritmética de Pb-S $3,3 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de não detectável- $9,6 \mu\text{g dL}^{-1}$) e ao grupo >4-7 anos (n=14, média aritmética de Pb-S $0,97 \mu\text{g dL}^{-1}$; intervalo experimental de não detectável a $2,9 \mu\text{g dL}^{-1}$), sendo observado correlação negativa significativa entre Pb-S e idade em crianças (BELLO *et al.*, 2016).

No estudo de biomonitoramento realizado com população portuguesa, com 70 trabalhadores expostos e 38 controles, foi observado correlação positiva significativa, entre idade e tempo de exposição ao chumbo com os níveis de Pb-S, e correlação negativa, entre tempo de exposição e atividade da ALAD. Nesse mesmo biomonitoramento, os fumantes e expostos ocupacionalmente ao chumbo apresentaram, significativamente, níveis de Pb-S mais elevado (média aritmética de $37,78 \pm 14,44 \mu\text{g dL}^{-1}$) e atividade da ALAD mais baixa (média aritmética de $37,20 \pm 21,77 \text{UL}^{-1}$), em relação aos fumantes do grupo controle (média aritmética de Pb-S de $5,71 \pm 1,95 \mu\text{gdL}^{-1}$ e da atividade de ALAD de $95,04 \pm 7,76 \text{UL}^{-1}$). Os não fumantes expostos ao chumbo ocupacionalmente apresentaram, significativamente, Pb-S maior (média aritmética $31,22 \pm 2,14 \mu\text{g dL}^{-1}$) e atividade da ALAD mais baixa (média aritmética de $40,91 \pm 4,49 \text{UL}^{-1}$) que os não fumantes do grupo controle (média aritmética de Pb-S de $3,57 \pm 0,43 \mu\text{g dL}^{-1}$ e da atividade da ALAD de $90,29 \pm 5,45 \text{UL}^{-1}$) (GARCÍA-LESTÓN *et al.*, 2011).

10.4 Considerações finais

Os níveis de Pb-S obtido nos 27 indivíduos avaliados na população de Volta Grande IV foi abaixo do limiar de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$, definido pelo CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) para a população adulta. Embora o CDC tenha recomendado esta concentração como um valor de referência para chumbo sangue total em adultos, este mesmo órgão e a Organização Mundial de Saúde afirma não existir um nível seguro de exposição ao chumbo.

Na amostra estudada, 11 mulheres encontravam-se em idade fértil, com Pb-S variando entre $1,03$ a $2,82 \mu\text{g dL}^{-1}$ e sete já apresentando inibição da ALAD, com histórico de aborto espontâneo, filho com autismo e anemia. Em três destas, as concentrações de chumbo em sangue total foi superior a $2 \mu\text{g dL}^{-1}$, definido pelo CDC como limiar de Pb-S em mulheres grávidas. Desta forma, recomendam-se esclarecimentos por meio dos serviços de saúde local as mulheres em idade fértil, de que estas, assim como as grávidas, compõem um grupo de vulnerabilidade a exposição ao chumbo, devendo ser acompanhadas, caso engravidem ou manifestem o desejo de engravidar, devendo manter os níveis de Pb-S abaixo ou igual a $2 \mu\text{g dL}^{-1}$.

No grupo de trabalhadores com atividades ligadas a metais, doze indivíduos possuíam os maiores níveis de Pb-S da amostra. A média de tempo de exposição ocupacional anterior e atual a metais para a população estudada foi considerada relevante, sendo de $11,8 \pm 6,1$ anos e $19,9 \pm 11,5$ anos, respectivamente. O chumbo, que foi acumulado principalmente nos ossos durante o período de exposição ocupacional, é liberado com os processos fisiológicos de remodelagem óssea ou em quadros patológicos. Sendo assim, considera-se a existência de exposição endógena ao chumbo para este grupo de trabalhadores, além da exposição ambiental que pode ocorrer no Condomínio Volta Grande IV.

Foi observado em comparação a outros estudos da literatura que as médias de Pb-S na população estudada esteve abaixo das concentrações de 6 estudos e apresentou proximidade com 4 outros. O Pb-S constitui um biomarcador para avaliação de exposição recente, dado a meia vida de aproximadamente 30 dias do chumbo em sangue, sendo os níveis de chumbo em osso o mais indicado para avaliação da exposição crônica, como a que ocorre para os indivíduos de Volta Grande avaliados, já que 51,9% da população reside no Condomínio de 16 a 20 anos, com média aritmética de tempo de moradia de $13,3 \pm 4,2$ anos.

Com base na literatura revisada, foi observado que, diferente de exposições ocupacionais, em qua a maioria dos trabalhadores da ativa, dado a frequência e quantidade de

chumbo a que são expostos, no geral, possuem Pb-S elevados, refletindo a exposição recente e nem sempre a dose acumulativa no organismo, para exposição ambiental nem sempre isso ocorre. É possível a existência de níveis baixos, de Pb-S, mesmo a população estando expostas a áreas de alto grau de contaminação pelo chumbo, conforme visto no estudo realizado na Nigéria, em que as médias de Pb-S da população de Volta Grande foi semelhante aos 29 habitantes da área de Ubangari, sendo um local com diversas minas de chumbo e zinco nos arredores de comunidades locais, situado em cidade que 56 Km² de um total de 100 km² é coberta por chumbo.

Em relação ao chumbo plasmático, não há valor de referência definido por agências reguladoras e de acordo com a literatura, estes níveis, no geral, tem demonstrado ser menor que 1,0 µg L⁻¹. As médias de Pb-P obtidas foram elevadas, em comparação aos estudos encontrados na literatura, com apenas um indivíduo com concentração abaixo de 1 µg L⁻¹, sete abaixo do limite de detecção, que foi de 1,04 µg L⁻¹ e 4 com níveis bem elevados, de 11,69 µg L⁻¹, apresentando como sintoma apenas rinite; de 6,47 µg L⁻¹, com anemia, sinusite, depressão, histórico de pneumonia, síndrome do túnel do carpo, artrose cervical e lombar e histerectomia; de 5,92 µg L⁻¹, com hipertensão arterial e arritmia cardíaca; 8,56 µg L⁻¹, com histórico de aborto espontâneo e gestação com malformação.

Na população avaliada, 63,0% possuía idade acima de 40 anos, podendo o Pb-P se apresentar mais elevado em mulheres em menopausa e homens em andropausa, já que pela maior remodelagem óssea ocorrida nesta fase, há maior liberação de chumbo da matriz óssea para o plasma. Os resultados elevados para este biomarcador podem também estar associados ao acaso, reunindo em uma mesma amostra de tamanho reduzido, pessoas com os pontos extremos de níveis de concentração.

Quanto ao Pb-U, as médias apresentadas na população estudada estiveram abaixo de 4 estudos da literatura e acima de apenas dois. Essa diferença pode ter ocorrido em função do tamanho amostral deste estudo, em comparação aos da literatura. Quatro indivíduos (VG017, 19, 13, 21) apresentaram concentrações de chumbo em urina mais elevadas e discordantes do restante da população estudada, de 20,76 ± 1,08; 11,92 ± 0,38; 11,73 ± 0,61; 9,44 ± 1,43 µg g⁻¹ creatinina, respectivamente. Apresentavam perfil comum de serem donas de casa, possuírem contato com o solo local, tempo de moradia do condomínio relevante 7, 14, 18, 16 anos, residências vizinhas nos blocos 180 e 220. O indivíduo VG017 apresentava obesidade grau I, hipotireoidismo, alergia à poeira, histórico de câncer de pele e um episódio de morte neonatal precoce. Fazia uso dos medicamentos Amytril, Puran T4 e de suplemento ômega 3. Já

VG019, exibia instabilidade emocional e dores musculares, além do hábito de beber. O VG013 tinha o hábito de beber, pré-obesidade, realizava lavagem de roupa do cônjuge (trabalhador de siderurgia) em casa, tinha como hobby a pintura de paredes e portões. Em relação a doenças relevantes, tinha anemia, depressão, artrose da coluna cervical e lombar, síndrome do túnel do carpo, sinusite, histórico de pneumonia; e de cirurgia, a histerectomia, além de possuir elevado chumbo em plasma. Para o VG021, destacou-se a obesidade grau 1, o hábito de beber e uso de medicamento Losartana potássica, no controle da hipertensão arterial.

No estudo da estabilidade da enzima, foi observado que o armazenamento de amostras a baixas temperaturas não foi considerado o ideal, pois a atividade da enzima passou a apresentar status inativado ao ser armazenado em geladeira, freezer e ultrafreezer, em discordância do status ativado, que foi determinado para atividade da enzima na amostra coletada e imediatamente analisada. Desta forma, as amostras para determinação da atividade da ALAD devem ser analisadas com sangue fresco, não podendo o intervalo entre coleta e amostra ser superior a 4 horas, devido à perda de estabilidade da enzima.

Em relação à atividade da ALAD, foi observado inibição em 11 indivíduos, que sugerem relação com a exposição a chumbo a princípio. A inibição da ALAD pode ocorrer em níveis de Pb-S $< 10 \mu\text{g dL}^{-1}$, e, o limiar de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$, baseado na literatura, demonstrou ser o menor nível de chumbo em sangue, sem efeito clínico detectável, a partir do qual é observado redução da atividade da ALAD significativa, aumentos de níveis de ALA plasmático e em sangue total. Quando as concentrações de chumbo atingem $15 \mu\text{g dL}^{-1}$, a atividade da ALAD já apresenta redução em 50% da sua atividade. A atividade da ALAD apresenta correlação negativa com níveis de Pb-S na faixa de 5 a $95 \mu\text{g dL}^{-1}$, de acordo com o demonstrado em estudos. Em contrapartida, a literatura reporta que para inibição de 50% da atividade da enzima, a concentração de apenas 1pM de chumbo livre no plasma seria o suficiente. Foi verificado em estudo experimental que abaixo de 3,2 a $4,8 \mu\text{g dL}^{-1}$, a atividade da ALAD pode ficar insensível ou até mesmo ser ativada pelo chumbo; e acima, pode ser inibida. Apesar dos níveis de Pb-S se mostraram muito baixos para a exibição de um efeito clínico detectável na população estuda, a média de Pb-P foi elevada em relação à literatura.

As características dos indivíduos sugerem compatibilidade com um estado de inibição da enzima, podendo ocorrer uma interação do chumbo com condições médicas, hábitos, presença de alelo polimórfico e fatores desconhecidos. Hipotireoidismo, diabetes, o consumo de bebidas alcoólicas, o fumo do tabaco e uso de drogas ilícitas podem alterar a atividade da

enzima. Deve ser considerado que dois destes 11 indivíduos com inibição possuíam alelo polimórfico, sendo encontrado menor atividade da ALAD em portadores do alelo 2. Além disso, alguns apresentaram exposição ocupacional concomitante, que poderia interferir na atividade da ALAD.

Foi identificada ainda uma mulher em idade fértil, com inibição da ALAD, que possui filho com autismo e relata ter psoríase. Além do chumbo, a exposição a outros metais como cobre, níquel, zinco e mercúrio podem também estar associados à ocorrência de autismo, psoríase, eczemas, dermatites, sendo recomendável a avaliação destes metais na população de estudo e a avaliação médica para o diagnóstico diferencial de doenças de pele, já que alguns metais estão mais associados a manifestações de eczemas, que outros, sendo necessária a verificação de elementos ou substâncias que podem se relacionar a este quadro clínico, atuando como variáveis confundidoras na análise de exposição e efeito a chumbo nesta população. Deve ser considerada ainda a possibilidade de sinergismo do chumbo com outros metais no desencadeamento de efeitos adversos, que em estudos em animais revelam poder inibir a ALAD, embora não apresentem dados comprovados na literatura de realizarem inibição da ALAD humana, necessitando maiores estudos que avaliem efeito combinado do chumbo a outros elementos e possíveis efeitos a saúde humana.

É recomendável a inclusão de crianças em estudos posteriores, como a que apresenta autismo, e, também, de mulheres em idade fértil e grávidas, semelhante às pesquisas realizadas em outras áreas contaminadas por chumbo no Brasil, como em Santo Amaro e Alto do Vale da Ribeira, avaliando não apenas os biomarcadores, mas também verificando as alterações de desenvolvimento e de deficit cognitivo aos infantes que podem ocorrer naquela localidade. O NTP definiu que há provas suficientes de evidência de associação de Pb-S $< 5\mu\text{g dL}^{-1}$ com efeitos neurológicos adversos e deficit na função cognitiva na criança.

Quanto às correlações entre os biomarcadores, nenhuma foi significativa e exibiram comportamento diferenciado dos achados da literatura. Esse comportamento pode ser explicado pelo número amostral reduzido, que acaba por definir relações não lineares entre as variáveis avaliadas em concentrações muito baixa de chumbo nas matrizes do estudo. A relação positiva encontrada entre chumbo em sangue total e a atividade da ALAD pode estar relacionada a possíveis variáveis de confundimento na relação, como a presença de indivíduos com hipotireoidismo, que pode elevar a atividade da ALAD ou ainda ao fato da correlação negativa entre estas variáveis serem mais expressivas a partir de Pb-S de $5\mu\text{g dL}^{-1}$, como encontrado na literatura.

Em relação à correlação dos biomarcadores com idade, tempo de fumo, tempo de moradia em Volta Redonda, tempo de moradia no condomínio e contato com solo, apenas idade e Pb-S apresentaram correlação positiva.

É importante ressaltar que na relação exposição a chumbo e surgimento de efeitos, deve ser considerado um conjunto de fatores que são a quantidade de fração de chumbo biodisponível (Pb-P); a frequência e quantidade de exposição; a via de entrada; a suscetibilidade genética, dada pela existência de polimorfismos e fatores epigenéticos; o sinergismo com estados fisiológicos, doenças, outros metais, substâncias e compostos; a capacidade do metal em mimetizar e deslocar o cálcio em diferentes sítios; além da excitotoxicidade, genotoxicidade, neurotoxicidade que o metal pode promover, associados a fatores ambientais.

Portanto, o que define a exibição ou severidade de um efeito ocasionado pelo chumbo não é apenas a quantidade de concentração do metal em sangue total, e sim, a interação complexa de todos estes fatores, não havendo, portanto, um nível seguro de exposição ao chumbo, apenas propostas de limiares pelos órgãos de saúde, para determinação do ponto de início de intervenção de ações em saúde nas populações afetadas.

11 CONCLUSÃO

Após a avaliação dos resultados obtidos, concluiu-se que os moradores do Condomínio Volta Grande IV deste estudo piloto apresentaram biomarcadores com perfil sugestivo de exposição ambiental ao chumbo. Para a parcela de trabalhadores com atividades anteriores ou atuais ligadas a metais, que exibiram níveis mais expressivos de chumbo corporal dentre os indivíduos avaliados, a exposição endógena resultante da exposição ocupacional pode ocorrer concomitante à ambiental, contribuindo para elevação de Pb-P. Em geral, os níveis de Pb-S encontrados estavam abaixo da referência do CDC, $5 \mu\text{g dL}^{-1}$. Entretanto, foi observado que mulheres em idade fértil apresentaram Pb-S superior a $2 \mu\text{g dL}^{-1}$, valor limite recomendado por esse órgão no caso de possível gravidez. Foram constatados ainda níveis de chumbo plasmático mais elevados do que aqueles encontrados na literatura para exposição ambiental, e, até mesmo, ocupacional em alguns casos. Da mesma forma, ainda que os níveis de Pb-U na totalidade correspondessem aos valores observados na literatura, foram constatados níveis elevados de excreção urinária de chumbo em alguns indivíduos. A inibição da atividade da ALAD, constatada em uma parte dos moradores, pode representar a existência de possíveis efeitos precoces do chumbo sobre o sistema hematopoiético, uma vez que essa inibição pode estar relacionada à exposição ao chumbo e/ou a condições médicas. Foi detectada a presença de alelo polimórfico entre os moradores, que apresentaram inibição da ALAD, assim como a ocorrência de efeito renal mais severo em um indivíduo, efeito esperado naqueles com genótipo ALAD 1-2. A falta de resultados significativos na correlação entre os biomarcadores e as variáveis pode estar relacionada ao tamanho reduzido da amostra avaliada. No entanto, não há nível seguro de exposição ao chumbo. A definição de valores limites para biomarcadores de chumbo é controversa, sendo criticada por alguns autores. Mostra-se necessário o biomonitoramento da população, a fim de avaliar as variabilidades na carga corpórea para chumbo, agravamento de condições já existentes ou surgimento de outros efeitos adversos. Recomenda-se a inclusão de crianças, mulheres em idade fértil e grávidas nos estudos futuros.

REFERÊNCIAS

ADEMUYIWA, O. *et al.* Reversal of aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) inhibition and reduction of erythrocyte protoporphyrin levels by Vitamin C in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, n. 3, p. 404-411, nov. 2005.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. ATSDR. Toxicological Profile for Lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia, 2007. 582p.

ALATISE, O. I.; SCHRAUZER, G. N. Lead Exposure: A Contributing Cause of the Current Breast Cancer Epidemic in Nigerian Women. **Biological Trace Element Research**, v. 136, n. 2, p. 127-139, ago. 2010.

ALMEIDA LOPES, A. C. B. *et al.* Effects of low-level lead exposure on blood pressure in a population-based study in Southern Brazil. **Toxicology Letters**, XIV International Congress of Toxicology. v. 259, Supplement, p. S8, 10 out. 2016.

ALVES *et al.* Exposição ocupacional a substâncias porfirinogênicas e o padrão de excreção das porfirinas urinárias. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v.2, n.2, p.133-139, abr-jun, 2004.

AMORIM, LCA. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, vol. 6, supl. 1, p. 1-13, 2003.

ARNOLD, J.; MORGAN, B. Management of Lead Encephalopathy with DMSA. After Exposure to Lead-Contaminated Moonshine. **Journal of Medical Toxicology**, v. 11, n. 4, p. 464-467, 6 ago. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS-ABNT. **NBR 10004. Resíduos sólidos-Classificação**. Rio de Janeiro: ABNT, 2004,71 p.

ASSOCIATION FOR OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL CLINICS. AOEC. Medical Management Guidelines for Lead-Exposed Adults Revised. CSTE Medical Management Guidelines Added, 2013.

AZNAR, *et al.* Condição bucal de trabalhadores de fábricas de baterias e uso de serviços odontológicos Oral health status of battery factories workers and use of dental services. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 14, n. 2, p. 127-133, 2016.

BARANOWSKA-BOSIACKA, I. *et al.* Effects of perinatal exposure to lead (Pb) on purine receptor expression in the brain and gliosis in rats tolerant to morphine analgesia. **Toxicology**, v. 339, p. 19-33, 2 jan. 2016.

BARBOSA, F. *et al.* Elevated blood lead levels in a riverside population in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 109, n. 5, p. 594-599, jul. 2009.

BARBOSA, F. *et al.* A Critical Review of Biomarkers Used for Monitoring Human Exposure to Lead: Advantages, Limitations, and Future Needs. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1669–1674, dez. 2005.

BARCELOS, G. R. M. *et al.* Effects of genetic polymorphisms on antioxidant status and concentrations of the metals in the blood of riverside Amazonian communities co-exposed to Hg and Pb. **Environmental Research**, v. 138, p. 224–232, abr. 2015.

BARDAG-GORCE, F.; FRENCH, S. W. Delta-aminolevulinic dehydratase is a proteasome interacting protein. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 91, n. 2, p. 485–489, out. 2011.

BARUPALA, D. P. *et al.* Synthesis, delivery and regulation of eukaryotic heme and Fe–S cluster cofactors. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 592, p. 60–75, 15 fev. 2016.

BASAVARAJ, K. H. *et al.* Study on the levels of trace elements in mild and severe psoriasis. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 405, n. 1–2, p. 66–70, jul. 2009.

BECERRA, L. *et al.* Co-existence of peripheral neuropathy secondary to lead poisoning and chronic polymyositis: Case report. **Revista Colombiana de Reumatología (English Edition)**, p. 213–217, 2016.

BELLINGER, D. C. Very low lead exposures and children's neurodevelopment. **Current Opinion in Pediatrics**, v. 20, n. 2, p. 172–177, abr. 2008.

BELLO, O. *et al.* Lead concentration in the blood of the general population living near a lead–zinc mine site, Nigeria: Exposure pathways. **Science of The Total Environment**, v. 542, Part A, p. 908–914, 15 jan. 2016.

BERGDAHL, I. A. *et al.* Plasma and blood lead in humans: capacity-limited binding to delta-aminolevulinic acid dehydratase and other lead-binding components. **Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 247–253, dez. 1998.

BERGDAHL, I. A. *et al.* Lead concentrations in human plasma, urine and whole blood. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, v. 23, n. 5, p. 359–363, out. 1997.

BERLIN, A.; SCHALLER, K. H. European standardized method for the determination of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. **Zeitschrift Fur Klinische Chemie Und Klinische Biochemie**, v. 12, n. 8, p. 389–390, ago. 1974.

BILIŃSKA, M. *et al.* Distribution of conduction velocity in the ulnar nerve among lead exposed workers. **Medycyna Pracy**, v. 56, n. 2, p. 139–146, 2005.

BORJA-ABURTO, V. H. *et al.* Blood lead levels measured prospectively and risk of spontaneous abortion. **American Journal of Epidemiology**, v. 150, n. 6, p. 590–597, 15 set. 1999.

BOUCHER, O. *et al.* Prenatal methylmercury, postnatal lead exposure, and evidence of attention deficit/hyperactivity disorder among Inuit children in Arctic Québec. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 10, p. 1456–1461, out. 2012.

BOUKERMA, Z.; BEHLOULI, A.-L.; DJABI, F. Effect of inorganic lead on thyroid function of exposed workers. **Italian Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, v. 5, n. 3&4, 2014.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Plano Nacional de Resíduos Sólidos. Versão. Brasília: 2012. 103 p.

_____. Ministério Público Federal. Procuradoria da República no Município de Volta Redonda. Ação Civil Pública Volta Grande IV. Rio de Janeiro: 2012, 80 p.

_____. Lei 12305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, altera a Lei 9605, de 12 de fevereiro de 1998, e dá outras providências. *Diário Oficial [da república federativa do Brasil]*, Poder Executivo. Brasília, DF, Seção 1, p.2., 2010.

BRAUN, J. M. *et al.* Exposures to environmental toxicants and attention deficit hyperactivity disorder in U.S. children. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 12, p. 1904–1909, dez. 2006.

BRENDA. Enzyme Database.E.C.4.2.1.24. Porphobilinogen Synthase. 2016.

BUONANNO, G. *et al.* Occupational exposure to airborne particles and other pollutants in an aviation base. **Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 170, p. 78–87, nov. 2012.

BUSER, M. C. *et al.* Urinary and blood cadmium and lead and kidney function: NHANES 2007–2012. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. 2016.

CAMPAGNA, D. *et al.* Environmental lead exposure and activity of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in maternal and cord blood. **Toxicology**, v. 134, n. 2–3, p. 143–152, 15 jun. 1999.

CAPITANI, E. M.; PAOLIELLO, M. M. B.; ALMEIDA, G. R. C. Fontes de exposição humana ao chumbo no Brasil. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 42, n. 3, p. 311–318, 30 set. 2009.

CARRANZA *et al.* **Carranza Periodontia Clínica**, 11ª edição. São Paulo: Elsevier, 2012.

CASARETT, Louis J.; DOULL, John; KLAASSEN, Curtis D. Casarret and Doull's toxicology: the basic science of poisons. 8th ed. United States, New York: McGraw Hill Education, 2013.

CASTAÑO, A. *et al.* Mercury, lead and cadmium levels in the urine of 170 Spanish adults: A pilot human biomonitoring study. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, Special Issue: Berlin International Conference on Human Biomonitoring. v. 215, n. 2, p. 191–195, fev. 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. CDC. Adult Blood Lead Epidemiology & Surveillance (ABLES). 2015.

Disponível em: < <https://www.cdc.gov/niosh/topics/ables/description.html> > Acesso em agosto de 2016.

CHIA, S-E.; YAP, E.; CHIA, K-S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and susceptibility of workers exposed to inorganic lead and its effects on neurobehavioral functions. **Neurotoxicology**, v. 25, n. 6, p. 1041–1047, dez. 2004.

CHO, S.-C. *et al.* Effect of environmental exposure to lead and tobacco smoke on inattentive and hyperactive symptoms and neurocognitive performance in children. **Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines**, v. 51, n. 9, p. 1050–1057, set. 2010.

CIESIELSKI *et al.* 2012. Cadmium Exposure and Neurodevelopmental Outcomes in U.S. Children. **Environmental Health Perspectives**, v.120, n.5, p.758-63, jan. 2012.

COVELLO, V.T.; MERKHOFFER, M.W. **Risk Assessment Methods - Approaches for Assessing Health and Environmental Risks**. New York: Plenum Publishing Corporation, 1993.

DA CUNHA MARTINS, A. *et al.* Effects of Lead Exposure and Genetic Polymorphisms on ALAD and GPx Activities in Brazilian Battery Workers. **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A**, v. 78, n. 16, p. 1073–1081, 2015.

DAL MOLIN, Fernanda; PAOLIELLO, Monica Maria Bastos; DE CAPITANI, Eduardo Mello. A zincoprotoporfirina como indicador biológico na exposição ao chumbo: uma revisão. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.19, n.2, p. 71-80, 2006.

DE SOUZA GUERRA, C. *et al.* Lead concentrations in whole blood, serum, saliva and house dust in samples collected at two time points (12 months apart) in Santo Amaro, BA, Brazil. **Environmental Research**, v. 142, p. 337–344, out. 2015.

DE SIQUEIRA, M. E. P. B. *et al.* Delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in the general population of southern Minas Gerais, Brazil. **Industrial Health**, v. 41, n. 1, p. 19–23, jan. 2003.

DICKERSON, A. S. *et al.* Autism spectrum disorder prevalence and associations with air concentrations of lead, mercury, and arsenic. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 7, p. 407, 1 jul. 2016.

DONGRE, N. N. *et al.* Biochemical Effects of Lead Exposure on Systolic & Diastolic Blood Pressure, Heme Biosynthesis and Hematological Parameters in Automobile Workers of North Karnataka (India). **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 400–406, out. 2011.

DOROSZKO, A. *et al.* Risk of cardiovascular diseases in lead-exposed workers of crystal glassworks. Part II. Lead impact on the cardiovascular system based on ultrasound assessment of carotid arteries, electrocardiograms and ankle-brachial index. **Medycyna Pracy**, v. 59, n. 5, p. 355–363, 2008.

DORWARD, A.; YAGMINAS, A. P. Activity of erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydratase in the female cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): kinetic analysis in control and lead-exposed animals. **Comparative Biochemistry and Physiology. Biochemistry and Molecular Biology**, v. 108, n. 2, p. 241–252, jun. 1994.

DO NASCIMENTO, S. N. *et al.* Cognitive deficits and ALA-D-inhibition in children exposed to multiple metals. **Environmental Research**, v. 136, p. 387–395, jan. 2015.

EDWARDS, M. Fetal Death and Reduced Birth Rates Associated with Exposure to Lead-Contaminated Drinking Water. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 1, p. 739–746, 7 jan. 2014.

ENKHBAT, U. *et al.* Exposure to PM_{2.5} and Blood Lead Level in Two Populations in Ulaanbaatar, Mongolia. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 2, fev. 2016.

EVANS, M. *et al.* Occupational Lead Exposure and Severe CKD: A Population-Based Case-Control and Prospective Observational Cohort Study in Sweden. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 55, n. 3, p. 497–506, mar. 2010.

FANG, F. *et al.* Association between blood lead and the risk of amyotrophic lateral sclerosis. **American Journal of Epidemiology**, v. 171, n. 10, p. 1126–1133, 15 maio 2010.

FENG, C. *et al.* The effect of lead exposure on expression of SIRT1 in the rat hippocampus. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 44, p. 84–92, jun. 2016.

FERNÁNDEZ- CUARTERO, B. *et al.* Delta aminolevulinatase (ALA-D) activity in human and experimental diabetes mellitus. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 31, n. 3–4, p. 479–488, abr. 1999.

FERNÍCOLA, N. A. G. DE; AZEVEDO, F. A. DE. Níveis de chumbo e atividade da desidratase do ácido delta-aminolevulinico (delta-ALAD) no sangue da população da Grande São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 15, n. 3, p. 272–282, 1 jun. 1981.

FLEGAR-MESTRIĆ, Z.; TADEJ, D.; SUBIĆ-ALBERT, N. Validity of 5-aminolevulinatase dehydratase activity (5-ALAD) for the discrimination of alcoholics and nonalcoholics with chronic liver disease. **Clinical Biochemistry**, v. 20, n. 2, p. 81–84, abr. 1987.

FLORA, G.; GUPTA, D.; TIWARI, A. Toxicity of lead: A review with recent updates. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 5, n. 2, p. 47–58, jun. 2012.

FREITAS, C. M. DE. Avaliação de riscos como ferramenta para a vigilância ambiental em Saúde. **Informe Epidemiológico do Sus**, v. 11, n. 4, p. 227–239, dez. 2002.

FROEHLICH, T. E. *et al.* Association of tobacco and lead exposures with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Pediatrics**, v. 124, n. 6, p. e1054-1063, dez. 2009.

FUJIHARA, J. *et al.* Ethnic variation in genotype frequencies of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD). **Toxicology Letters**, v. 191, n. 2–3, p. 236–239, 15 dez. 2009.

GAMBELUNGHE, A. *et al.* Low-level exposure to lead, blood pressure, and hypertension in a population-based cohort. **Environmental Research**, v. 149, p. 157–163, ago. 2016.

GARCÍA-LESTÓN, J. *et al.* Biomonitoring of a population of Portuguese workers exposed to lead. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 721, n. 1, p. 81–88, 18 mar. 2011.

GEISSE, S.; BRÜLLER, H. J.; DOSS, M. Porphobilinogen synthase (delta-aminolevulinic acid dehydratase) activity in human erythrocytes: reactivation by zinc and dithiothreitol depending on influence of storage. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 239–245, 15 dez. 1983.

GEORGESCU *et al.* Heavy Metals Acting as Endocrine Disrupters. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*.v.44.n.2, p.89-93, 2011.

GERLACH, R. F.; GONÇALVES, S. C. D.; GUERRA, C. S. Biomarcadores de exposição a chumbo. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 42, n. 3, p. 301–310, 30 set. 2009.

GILLIS, B. S.; ARBIEVA, Z.; GAVIN, I. M. Analysis of lead toxicity in human cells. **BMC Genomics**, v. 13, p. 344, 2012.

GRANDJEAN, Phillipe. Biomarcadores. In: *Enciclopedia de Salud Y Seguridad en EL Trabajo*. OIT. 2012.

GRANICK, S. *et al.* Assays for Porphyrins, δ -Aminolevulinic-Acid Dehydratase, and Porphyrinogen Synthetase in Microliter Samples of Whole Blood: Applications to Metabolic Defects Involving the Heme Pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, n. 9, p. 2381–2385, set. 1972.

GUERREIRO, M. A. A. **Avaliação quantitativa de metais contaminantes em diferentes tipos de cerveja comercializada em Portugal**. 2014. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Controle de Qualidade e Toxicologia dos Alimentos)- Faculdade de Ciências-Universidade de Lisboa, 2014.

GUNDAKER, C.; GENCIK, M.; HENGSTSCHLÄGER, M. The relevance of the individual genetic background for the toxicokinetics of two significant neurodevelopmental toxicants: mercury and lead. **Mutation Research**, v. 705, n. 2, p. 130–140, out. 2010.

GUNDAKER, C. *et al.* Genetic background of lead and mercury metabolism in a group of medical students in Austria. **Environmental Research**, v. 109, n. 6, p. 786–796, ago. 2009.

GONICK, H. C. Lead-Binding Proteins: A Review, **Journal of Toxicology**, v. 2011, artigo ID 686050, 10 p., 2011.

GOUVEIA, N. Resíduos sólidos urbanos: impactos socioambientais e perspectiva de manejo sustentável com inclusão social. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1503–1510, jun. 2012.

GWINI, S. *et al.* Cancer Incidence, Mortality, and Blood Lead Levels Among Workers Exposed to Inorganic Lead. **Annals of Epidemiology**, v. 22, n. 4, p. 270–276, abr. 2012.

HA, M. *et al.* Low blood levels of lead and mercury and symptoms of attention deficit hyperactivity in children: a report of the children's health and environment research (CHEER). **Neurotoxicology**, v. 30, n. 1, p. 31–36, jan. 2009.

HARA, A. *et al.* Incidence of nephrolithiasis in relation to environmental exposure to lead and cadmium in a population study. **Environmental Research**, v. 145, p. 1–8, fev. 2016.

HERTZ-PICCIOTTO, I. The evidence that lead increases the risk for spontaneous abortion. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 38, n. 3, p. 300–309, set. 2000.

HINKS, L. J.; YOUNG, S.; CLAYTON, B. Trace element status in eczema and psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 12, n. 2, p. 93–97, mar. 1987.

HON, K.-L. E. *et al.* Serum levels of heavy metals in childhood eczema and skin diseases: friends or foes. **Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, n. 5, p. 831–836, ago. 2010.

HOSKING, L. *et al.* Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. **European journal of human genetics: EJHG**, v. 12, n. 5, p. 395–399, maio 2004.

HOSNI, *et al.* Semen quality and reproductive endocrinal function related to blood lead levels in infertile painters. **Andrologia**, v. 45, n. 2, p. 120–127, 2013.

HSIAO, C.-L.; WU, K.-H.; WAN, K.-S. Effects of environmental lead exposure on T-helper cell-specific cytokines in children. **Journal of Immunotoxicology**, v. 8, n. 4, p. 284–287, dez. 2011.

HU, H. *et al.* The delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and bone and blood lead levels in community-exposed men: the Normative Aging Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 8, p. 827–832, ago. 2001.

HU, Q. *et al.* Low-level lead exposure attenuates the expression of three major isoforms of neural cell adhesion molecule. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 2, p. 255–260, mar. 2011.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC. List of Classification. Volumes 1-118. IARC, 2017.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER . IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human Inorganic and Organic Lead Compounds. Lyon, France ,v. 87: IARC, 2006.

INSTITUTO AÇO BRASIL. RELATÓRIO DE SUSTENTABILIDADE. IAB. 2014. Brasil: 2014, 49 p.

INSTITUTO AÇO BRASIL. RELATÓRIO DE SUSTENTABILIDADE. IAB. Instituto Aço Brasil. Relatório de Sustentabilidade 2007. Brasil: 2007, 66 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. IBGE Cidades. Volta Redonda. Brasil, 2010.

_____. Pesquisa de Informações Básicas Municipais. Perfil dos Municípios Brasileiros 2013. Tabela 67. Brasil: 2013.

INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. IUBMB. Enzyme Nomenclature. E.C.4.2.1.24. Porphobilinogen Synthase. 2016.

INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. INEA. Cadastro de áreas contaminadas e reabilitadas do Estado do Rio de Janeiro. 3ª edição. 2015.

JAFFE, E. K. The Remarkable Character of Porphobilinogen Synthase. **Accounts of Chemical Research**, v. 49, n. 11, p. 2509–2517, 15 nov. 2016.

JANGID, A. P. *et al.* Impact of Chronic Lead Exposure on Selected Biological Markers. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 1, p. 83–89, jan. 2012.

JIAN 'AN, Liu *et al.* Lead exposure at each stage of pregnancy and neurobehavioral development of neonates. **Neurotoxicology**, v. 44, p. 1–7, set. 2014.

JUNG *et al.* Renal Dysfunction Indicators in Lead Exposed Worker. **Journal Occupational Health**. v.40. p.103-109.1998.

KAYAALTI, Z. *et al.* Association between delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and placental lead levels. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 41, p. 147–151, jan. 2016.

KASPERCZYK, S. *et al.* Effect of N-acetylcysteine administration on the expression and activities of antioxidant enzymes and the malondialdehyde level in the blood of lead-exposed workers. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 638–647, mar. 2014.

KASPERCZYK, A. *et al.* The Effect of Occupational Lead Exposure on Blood Levels of Zinc, Iron, Copper, Selenium and Related Proteins. **Biological Trace Element Research**, v. 150, n. 1-3, p. 49–55, dez. 2012.

KIM, K.-N.; KWON, H.-J.; HONG, Y.-C. Low-level lead exposure and autistic behaviors in school-age children. **Neurotoxicology**, v. 53, p. 193–200, mar. 2016.

KIM, N. H. *et al.* Environmental Heavy Metal Exposure and Chronic Kidney Disease in the General Population. **Journal of Korean Medical Science**, v. 30, n. 3, p. 272–277, mar. 2015.

KIM, S. *et al.* Lead, mercury, and cadmium exposure and attention deficit hyperactivity disorder in children. **Environmental Research**, v. 126, p. 105–110, out. 2013.

KIM, Y. *et al.* Association between blood lead levels (<5 µg/dL) and inattention-hyperactivity and neurocognitive profiles in school-aged Korean children. **The Science of the Total Environment**, v. 408, n. 23, p. 5737–5743, 1 nov. 2010.

KIRA, C. S. *et al.* Associated factors for higher lead and cadmium blood levels, and reference values derived from general population of São Paulo, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 543, n. Pt A, p. 628–635, 1 fev. 2016.

KREUSH, Marcio Alexandre. Avaliação com proposta de melhoria do processo industrial de reciclagem do chumbo e indicação de aplicabilidade para a escória gerada. 115p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

KRIEG JR., E. F. *et al.* Lead and cognitive function in ALAD genotypes in the third National Health and Nutrition Examination Survey. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 31, n. 6, p. 364–371, nov. 2009.

KUMAWAT, K. L. *et al.* Acute exposure to lead acetate activates microglia and induces subsequent bystander neuronal death via caspase-3 activation. **Neurotoxicology**, v. 41, p. 143–153, mar. 2014.

LAMADRID-FIGUEROA, H. *et al.* Association between the plasma/whole blood lead ratio and history of spontaneous abortion: a nested cross-sectional study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 7, p. 22, 2007.

LEE, B. K. *et al.* Associations of blood pressure and hypertension with lead dose measures and polymorphisms in the vitamin D receptor and delta-aminolevulinic acid dehydratase genes. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 4, p. 383–389, abr. 2001.

LI, C.-J. *et al.* Biomonitoring of blood heavy metals and reproductive hormone level related to low semen quality. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 815–822, 30 dez. 2015.

LIU, Z. *et al.* Maternal lead exposure and risk of congenital heart defects occurrence in offspring. **Reproductive Toxicology**, v. 51, p. 1–6, jan. 2015.

LIU, J. 'AN *et al.* Lead exposure at each stage of pregnancy and neurobehavioral development of neonates. **Neurotoxicology**, v. 44, p. 1–7, set. 2014.

LOPEZ, C. M. *et al.* Alteration of biochemical parameters related with exposure to lead in heavy alcohol drinkers. **Pharmacological Research**, v. 45, n. 1, p. 47–50, jan. 2002.

LUO, W. *et al.* Effects of chronic lead exposure on functions of nervous system in Chinese children and developmental rats. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 4, p. 862–871, ago. 2012.

MANSOURI, M. T.; CAULI, O. Motor alterations induced by chronic lead exposure. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, n. 3, p. 307–313, maio 2009.

MARTINI, Frederich; TIMMONS, Michael J; TALLITCH, Robert A. *Anatomia Humana*. 6 ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2009.

MARTINS, E. *et al.* Prenatal lead exposure and relationship with maternal exposure determinants in a public maternity hospital of La Plata, Argentina. **The Science of the Total Environment**, v. 473-474, p. 43–47, 1 mar. 2014.

MARTINS JUNIOR, A.C. **Avaliação dos polimorfismos do Ácido Delta-aminolevulínico desidratase (ALAD) e Glutathiona peroxidase (GPx) sobre estresse oxidativo em trabalhadores ocupacionalmente expostos ao chumbo**. 2014.61 p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

MATOVIC, V. *et al.* Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 78, p. 130–140, abr. 2015.

MATTOS, R.C.O.C. **Estratégias para a avaliação da exposição ao chumbo: Estudos comparativos dos indicadores biológicos e efeitos relacionados**. 2001. 141 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular)- Instituto Oswaldo Cruz –Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.

MEZZARROBA, L. *et al.* Atividade da ácido delta-aminolevulínico-desidratase na população urbana do município de Londrina, Paraná. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 20, n. 2, p. 73–79, 15 dez. 2004.

MINOZZO, R. *et al.* Prevalence of anemia in workers with work-related exposure to lead. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 94–97, abr. 2009.

MISHRA, K. P. Lead exposure and its impact on immune system: a review. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, v. 23, n. 6, p. 969–972, set. 2009.

MONTEIRO, T.J. **Trace elements quantification in beers consumed in Portugal: arsenic, lead, cobalt, copper, iron and zinc**. 2015. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente)- Faculdade de Ciências- Universidade de Lisboa. 2015.

MONTENEGRO, M. F. *et al.* A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene modifies plasma/whole blood lead ratio. **Archives of Toxicology**, v. 80, n. 7, p. 394–398, jul. 2006a.

MONTENEGRO, M. F. *et al.* Ethnicity affects the distribution of δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) genetic variants. **Clinica Chimica Acta**, v. 367, n. 1–2, p. 192–195, maio 2006b.

MONTENEGRO, M.F. **Influência do polimorfismo G177C da enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase nos níveis plasmáticos de chumbo de indivíduos expostos ambientalmente**. 2006.77p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências)- Faculdade de medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo.2006c.

MOREIRA, Ana Margarida Oliveira de. **Frequência de polimorfismos genéticos ALAD (MspI) e VDR (BsmI) envolvidos na toxicocinética do Chumbo, numa população portuguesa**. 2010. 111 p. Dissertação (Mestrado em Contaminação e Toxicologia Ambientais)-Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, 2010.

MOREIRA, Fátima Ramos; MOREIRA, Josino Costa. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 9, n. 1, p. 167-181, 2004.

MOREIRA, Fátima Ramos; MOREIRA, Josino Costa. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**, v. 15, n. 2, p. 119-129, 2004.

MOREIRA, Maria de Fátima Ramos; NEVES, Eduardo Borba. Uso do chumbo em urina como indicador de exposição e sua relação com chumbo no sangue. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2151-2159, 2008.

MOREIRA, Fátima Ramos. Avaliação do Impacto à saúde da população residente no Condomínio Habitacional Volta Grande IV, Volta Redonda, RJ, exposta ambientalmente a metais de resíduo industrial. Rio de Janeiro, 2015.

MOREIRA, A. O. *et al.* Genotyping an ALAD polymorphism with real-time PCR in two populations from the Iberian Peninsula. **Biochemical Genetics**, v. 50, n. 7–8, p. 560–564, ago. 2012

MORTON, J. *et al.* Saliva as a matrix for biomonitoring of occupational and environmental exposure to lead. **Biomonitoring**, v. 1, n. 1, 2014.

MOSTAFA, G. A. *et al.* The positive association between elevated blood lead levels and brain-specific autoantibodies in autistic children from low lead-polluted areas. **Metabolic Brain Disease**, v. 31, n. 5, p. 1047–1054, 1 out. 2016.

MOSTAFALOU, S. *et al.* Molecular mechanisms involved in lead induced disruption of hepatic and pancreatic glucose metabolism. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 39, n. 1, p. 16–26, jan. 2015.

MURATA, K. *et al.* Critical dose of lead affecting delta-aminolevulinic acid levels. **Journal of Occupational Health**, v. 45, n. 4, p. 209–214, jul. 2003.

MUSSALI-GALANTE, P. *et al.* **Biomarkers of Exposure for Assessing Environmental Metal Pollution: From Molecules to Ecosystems**, v.29,n.1, p. 117-140, jan.2013.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. Database of single nucleotide polymorphisms (dbSNP). 2016.

NEVILLE *et al.* Patologia: Oral & Maxilofacial. 3ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009,972p.

NICOLESCU, R. *et al.* Environmental exposure to lead, but not other neurotoxic metals, relates to core elements of ADHD in Romanian children: performance and questionnaire data. **Environmental Research**, v. 110, n. 5, p. 476–483, jul. 2010.

NIGG, J. T. *et al.* Confirmation and Extension of Association of Blood Lead with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and ADHD Symptom Domains at Population-Typical Exposure Levels. **Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines**, v. 51, n. 1, p. 58–65, jan. 2010.

NIGG, J. T. *et al.* Low blood lead levels associated with clinically diagnosed attention-deficit/hyperactivity disorder and mediated by weak cognitive control. **Biological Psychiatry**, v. 63, n. 3, p. 325–331, 1 fev. 2008.

NTP. National Toxicology Program. Report on Carcinogens, Thirteenth Edition. Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2014.

NORDBERG, G. F. Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China. **Toxicology Letters**, ISBM-7: Biological Monitoring in a Globalized World. v. 192, n. 1, p. 45–49, 15 jan. 2010.

OGA, Seizi. Fundamentos da Toxicologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

OGATA, M.; TAGUCHI, T. High performance liquid chromatographic procedure for quantitative determination of urinary delta-aminolevulinic acid as indices of lead exposure. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 59, n. 4, p. 385–391, maio 1987.

O' NEIL, J.M. The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., 2006., p. 936 .In TOXNET. 2015.

ONUJI, J. *et al.* DNA damage induced by 5-aminolevulinic acid: a possible association with the development of hepatocellular carcinoma in acute intermittent porphyria patients. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 594–608, jul. 2002.

ORTEGA, F. *et al.* Declining blood lead and zinc protoporphyrin levels in Ecuadorian Andean children. **Clinical Biochemistry**, v. 46, n. 13–14, p. 1233–1238, set. 2013.

PAN, T.-L. *et al.* Skin toxicology of lead species evaluated by their permeability and proteomic profiles: A comparison of organic and inorganic lead. **Toxicology Letters**, v. 197, n. 1, p. 19–28, 1 ago. 2010.

PAOLIELLO, M. M. B.; DE CAPITANI, E. M. Occupational and environmental human lead exposure in Brazil. **Environmental Research**, v. 103, n. 2, p. 288–297, fev. 2007.

PAOLIELLO, Monica M.B.; CHASIN, Alice A.M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Série Cadernos de Referência Ambiental. v.3. Salvador, 2001.

PARK, S. S. *et al.* Epigenetics, obesity and early-life cadmium or lead exposure. **Epigenomics**, v. 9, n. 1, p. 57–75, 2016.

PARK, W.-J.; GU, H.-M.; LEE, S.-H. Blood lead level and types of aviation fuel in aircraft maintenance crew. **Aviation, Space, and Environmental Medicine**, v. 84, n. 10, p. 1087–1091, out. 2013.

PATRICK, L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. **Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic**, v. 11, n. 2, p. 114–127, jun. 2006.

PAWLAS, N. *et al.* Modification by the genes ALAD and VDR of lead-induced cognitive effects in children. **NeuroToxicology**, v. 33, n. 1, p. 37–43, jan. 2012.

PÉREZ-BRAVO, F. *et al.* Association between aminolevulinic acid dehydratase genotypes and blood lead levels in children from a lead-contaminated area in Antofagasta, Chile. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, n. 2, p. 276–280, ago. 2004.

PÉREZ-GÓMEZ, B. *et al.* BIOAMBIENT.ES study protocol: rationale and design of a cross-sectional human biomonitoring survey in Spain. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 20, n. 2, p. 1193–1202, fev. 2013.

PORĘBA, R. *et al.* Environmental and occupational exposure to lead as a potential risk factor for cardiovascular disease. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 31, n. 2, p. 267–277, mar. 2011.

POSSER, Thais. **Ações do chumbo sobre o Sistema Nervoso Central: Aspectos Celulares e Moleculares. Florianópolis.** 2005.99 p. Dissertação (Mestrado em Neurociências)-Centro de Ciências Biológicas-Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2005.

RAHMAN, A.; KUMARATHASAN, P.; GOMES, J. Infant and mother related outcomes from exposure to metals with endocrine disrupting properties during pregnancy. **Science of The Total Environment**, v. 569–570, p. 1022–1031, 1 nov. 2016.

RANA, S. V. S. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals - A review. **Biological Trace Element Research**, v. 160, n. 1, p. 1–14, 2014.

RENTSCHLER, G. *et al.* Long-term lead elimination from plasma and whole blood after poisoning. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 85, n. 3, p. 311–316, abr. 2012.

RESENDE, Rodrigo R; GUATIMOSIM, Silvia; LEITE, Maria de Fátima. Sinalização de Cálcio: Bioquímica e Fisiologia Celulares. São Paulo: SARVIER, 2012.

REZENDE, V. B. *et al.* Should we measure serum or plasma lead concentrations? **Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)**, v. 24, n. 3, p. 147–151, jul. 2010.

RONDÓ, P. H. C. *et al.* Iron deficiency anaemia and blood lead concentrations in Brazilian children. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. 9, p. 525–530, set. 2011.

RUELAS-INZUNZA, J. *et al.* ²¹⁰Po, Cd and Pb distribution and biomagnification in the yellowfin tuna *Thunnus albacares* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* from the Eastern Pacific. **Marine Pollution Bulletin**, v. 87, n. 1–2, p. 98–103, 15 out. 2014.

SAKAI, T. Biomarkers of lead exposure. **Industrial Health**, v. 38, n. 2, p. 127–142, abr. 2000.

SAKAI, T.; MORITA, Y. Delta-Aminolevulinic acid in plasma or whole blood as a sensitive indicator of lead effects, and its relation to the other heme-related parameters. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 68, n. 2, p. 126–132, 1996.

SAKAI, T. *et al.* Mechanisms of ALA-D inhibition by lead and of its restoration by zinc and dithiothreitol. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 40, n. 1, p. 61–66, fev. 1983.

SAKAI, *et al.* Restoration of lead inhibited 5 aminolevulinic dehydratase activity in whole blood by heat, ion zinc and dithiothreitol. **Clinical Chemistry**, v.26, p.625-628, 1980.

SAMBROOK & RUSSELL. Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor: CSHL Press; 2001

SÁNCHEZ-MARTÍN, F. J. *et al.* Sex- and tissue-specific methylome changes in brains of mice perinatally exposed to lead. **Neurotoxicology**, v. 46, p. 92–100, jan. 2015.

SANDERS, T. *et al.* Neurotoxic Effects and Biomarkers of Lead Exposure: A Review. **Reviews on environmental health**, v. 24, n. 1, p. 15–45, 2009.

SANTOS, P. C. J. L. *et al.* Molecular changes associated with hereditary hemochromatosis. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 192–202, 2009.

SCHULTE, P. A.; HAUSER, J. E. The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. **Toxicology Letters**, v. 213, n. 1, p. 91–99, 13 ago. 2012.

SCHÜTZ, A. *et al.* Lead in finger bone, whole blood, plasma and urine in lead-smelter workers: extended exposure range. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 78, n. 1, p. 35–43, fev. 2005.

SCHÜTZ, A. *et al.* Measurement by ICP-MS of lead in plasma and whole blood of lead workers and controls. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 53, n. 11, p. 736–740, nov. 1996.

SCHWARTZ, B. S. *et al.* Associations of delta-aminolevulinic acid dehydratase genotype with plant, exposure duration, and blood lead and zinc protoporphyrin levels in Korean lead workers. **American Journal of Epidemiology**, v. 142, n. 7, p. 738–745, 1 out. 1995.

SEXTON, K. *et al.* Estimating human exposures to environmental pollutants: availability and utility of existing databases. **Archives of Environmental Health**, v. 47, n. 6, p. 398–407, dez. 1992.

SHAH, F. *et al.* Environmental exposure of lead and iron deficit anemia in children age ranged 1–5 years: A cross sectional study. **Science of The Total Environment**, v. 408, n. 22, p. 5325–5330, out. 2010.

SHEIKH, G. *et al.* Comparison of levels of serum copper, zinc, albumin, globulin and alkaline phosphatase in psoriatic patients and controls: A hospital based casecontrol study. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 6, n. 2, p. 81–83, 2015.

SHEN, X. M. *et al.* Delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and blood lead levels in Chinese children. **Environmental Research**, v. 85, n. 3, p. 185–190, mar. 2001.

SHEPHERD, T. J. *et al.* Tracing fetal and childhood exposure to lead using isotope analysis of deciduous teeth. **Environmental Research**, v. 146, p. 145–153, abr. 2016.

SIEG, I. *et al.* Effect of alcohol on delta-aminolevulinic acid dehydratase and porphyrin metabolism in man. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 202, n. 3, p. 211–218, 31 out. 1991.

SILINS, I.; HÖGBERG, J. Combined Toxic Exposures and Human Health: Biomarkers of Exposure and Effect. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 3, p. 629–647, mar. 2011.

SILVA, F. V. DA. **Avaliação da influência do polimorfismo Pro198Leu da Glutathione Peroxidase sobre o estresse oxidativo em população exposta ao chumbo.** 2008.54p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto- Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SIMONS, T. J. The affinity of human erythrocyte porphobilinogen synthase for Zn²⁺ and Pb²⁺. **European Journal of Biochemistry**, v. 234, n. 1, p. 178–183, 15 nov. 1995.

SMITH, D. *et al.* The relationship between lead in plasma and whole blood in women. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 3, p. 263–268, mar. 2002.

SMITH, C. M. *et al.* A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene may modify the pharmacokinetics and toxicity of lead. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. 3, p. 248–253, mar. 1995.

SMITH, S. A.; AAMIR, F.; OTIS, M. P. Elevated serum nickel concentration in psoriasis vulgaris. **International Journal of Dermatology**, v. 33, n. 11, p. 783–785, nov. 1994.

SOMMAR, J. N. *et al.* Investigation of lead concentrations in whole blood, plasma and urine as biomarkers for biological monitoring of lead exposure. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, v. 24, n. 1, p. 51–57, fev. 2014.

SOUSA, F. *et al.* Atividade da desidratase do ácido Û-aminolevulínico (ALA-D) em uma amostra da população de Salvador, Bahia. **Revista brasileira da saúde ocupacional**, p. p.-, 1987.

SOUZA, Ana M; TAVARES, Criatiane F.F. Chumbo e anemia. *Medicina (Ribeirão Preto)*;v.42,n.3,p.337-40. 2009.

SOUZA, J. B. *et al.* Delta-aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) activity in diabetes and hypothyroidism. **Clinical Biochemistry**, v. 40, n. 5–6, p. 321–325, mar. 2007.

SOUZA, J. B. D. **Análise da atividade da enzima delta-aminolevulinato desidratase (d-ALAD) no diabetes mellitus e no hipotireoidismo**. 2004.139 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica)- Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2004.

SRISUMA, S.; LAVONAS, E. J.; WANANUKUL, W. Proximal muscle weakness in severe lead poisoning from retained bullet fragments. **Clinical Toxicology (Philadelphia, Pa.)**, v. 53, n. 6, p. 586–587, jul. 2015.

STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. What are Biomarkers? **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463–466, nov. 2010.

STAFF, J. F. *et al.* Investigation of saliva as an alternative matrix to blood for the biological monitoring of inorganic lead. **Toxicology Letters**, v. 231, n. 2, p. 270–276, 1 dez. 2014.

SÜZEN, H. S.; DUYDU, Y.; AYDIN, A. Molecular Analysis of -Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) Gene Polymorphism in a Turkish Population. **Biochemical Genetics**, v. 42, n. 11/12, p. 461–467, dez. 2004.

SZKUP - JABŁOŃSKA, M. *et al.* Effects of blood lead and cadmium levels on the functioning of children with behaviour disorders in the family environment. **Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM**, v. 19, n. 2, p. 241–246, 2012.

SZYMAŃSKA - CHABOWSKA, A. *et al.* The relationship between selected VDR, HFE and ALAD gene polymorphisms and several basic toxicological parameters among persons occupationally exposed to lead. **Toxicology**, v. 334, p. 12–21, 6 ago. 2015.

TAHA, M. M. *et al.* Association between δ -aminolevulinic acid dehydratase G177C polymorphism and blood lead levels in brain tumor patients. **Molecular and Clinical Oncology**, v. 3, n. 5, p. 995–1000, set. 2015.

TAKSER, L.; MERGLER, D.; LAFOND, J. Very low level environmental exposure to lead and prolactin levels during pregnancy. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 27, n. 3, p. 505–508, jun. 2005.

TAMAYO Y ORTIZ, M. *et al.* Maternal stress modifies the effect of exposure to lead during pregnancy and 24-month old children's neurodevelopment. **Environment International**, v. 98, p. 191–197, jan. 2017.

TANRIKUT, E. *et al.* Role of endometrial concentrations of heavy metals (cadmium, lead, mercury and arsenic) in the aetiology of unexplained infertility. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 179, p. 187–190, ago. 2014.

TASMIN, S. *et al.* Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism in lead exposed Bangladeshi children and its effect on urinary aminolevulinic acid (ALA). **Environmental Research**, v. 136, p. 318–323, jan. 2015.

TIAN, B.-X.; ERDTMAN, E.; ERIKSSON, L. A. Catalytic Mechanism of Porphobilinogen Synthase: The Chemical Step Revisited by QM/MM Calculations. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 40, p. 12105–12112, 11 out. 2012.

TIAN, L. *et al.* Lead concentration in plasma as a biomarker of exposure and risk, and modification of toxicity by δ -aminolevulinic acid dehydratase gene polymorphism. **Toxicology Letters**, v. 221, n. 2, p. 102–109, 14 ago. 2013.

UNITED NATIONS ENVIRONMENTAL PROGRAMME. UNEP. Final review of scientific information on lead. Quenia: UNEP DTIE Chemicals Branch, 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA. Locating and Estimating air emissions from sources of lead and lead compounds. Table 3-3; 3.-4. Uses of Lead alloys; Lead Compounds .Washington DC: USEPA,1998, pp.34-36.

_____. Guidelines for Exposure Assessment. Risk Assessment Forum. Washington DC: USEPA, 1992.

VAN BEMMEL, D. M. *et al.* Blood lead levels, ALAD gene polymorphisms, and mortality. **Epidemiology (Cambridge, Mass.)**, v. 22, n. 2, p. 273–278, mar. 2011.

VERCRUYSSSE, A. **Harzadous Metals in Human Toxicology**. New York: Elsevier,1984

VIGEH, M. *et al.* Blood lead at currently acceptable levels may cause preterm labour. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 68, n. 3, p. 231–234, 3 jan. 2011.

WAN, H. *et al.* Investigation of delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism affecting hematopoietic, hepatic and renal toxicity from lead in Han subjects of southwestern China. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 101, n. 1, p. 59–66, mar. 2014.

WANG, N. *et al.* Blood lead level and its association with body mass index and obesity in China - Results from SPECT-China study. **Scientific Reports**, v. 5, 14 dez. 2015.

WANG, Q. *et al.* δ -Aminolevulinic acid dehydratase activity, urinary δ -aminolevulinic acid concentration and zinc protoporphyrin level among people with low level of lead exposure. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213, n. 1, p. 52–58, jan. 2010.

WARREN, M. J. *et al.* Lead poisoning, haem synthesis and 5-aminolaevulinic acid dehydratase. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 23, n. 6, p. 217–21, 1 jul. 1998.

WEIDINGER, S. *et al.* Body burden of mercury is associated with acute atopic eczema and total IgE in children from southern Germany. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 114, n. 2, p. 457–459, 1 ago. 2004.

WEISSKOPF, M. G. *et al.* Association of cumulative lead exposure with Parkinson's disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 11, p. 1609–1613, nov. 2010.

WELLS, E. M. *et al.* Low-level lead exposure and elevations in blood pressure during pregnancy. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 5, p. 664–669, maio 2011.

WETMUR, J. G. *et al.* Molecular characterization of the human delta-aminolevulinic acid dehydratase 2 (ALAD2) allele: implications for molecular screening of individuals for genetic susceptibility to lead poisoning. **American Journal of Human Genetics**, v. 49, n. 4, p. 757–763, out. 1991.

WILHELM, M. *et al.* Reassessment of critical lead effects by the German Human Biomonitoring Commission results in suspension of the human biomonitoring values (HBM I and HBM II) for lead in blood of children and adults. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213, n. 4, p. 265–269, 2010.

WORLD HEALTH INTERNATIONAL. WHO. Programme on Chemical Safety. International Lead Poisoning Prevention Week 2016. Geneva: WHO, 2016.

_____. Human biomonitoring: Facts and figures. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015.

_____. Preventing Disease Through Healthy Environments. Exposure to lead: A major Public health. Concern. Geneva: WHO, 2010.

_____. Environmental Health Criteria 155. Biomarkers and Risk Assessment Concepts and Principles. International Program on Chemical Safety (ICPS). Geneva: WHO, 1993.

WIGFIELD, D.C, FARANT, J.P. Assay of δ -aminolevulinic acid dehydratase in 10 μ L of blood. **Chemical Chemistry**, v.27, n.1, p-100-103, 1981.

WONG, A. K. O. *et al.* Bone lead (Pb) content at the tibia is associated with thinner distal tibia cortices and lower volumetric bone density in postmenopausal women. **Bone**, v. 79, p. 58–64, out. 2015.

XU, X. *et al.* Decreased blood hepatitis B surface antibody levels linked to e-waste lead exposure in preschool children. **Journal of Hazardous Materials**, v. 298, p. 122–128, 15 nov. 2015.

YANG, Y.; WU, J.; SUN, P. Effects of delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphisms on susceptibility to lead in Han subjects from southwestern China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 7, p. 2326–2338, jul. 2012.

YASSA, H. A. Autism: A form of lead and mercury toxicity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 38, n. 3, p. 1016–1024, nov. 2014.

YOU, Y. *et al.* Increased hippocampal Disrupted-in-Schizophrenia 1 expression in mice exposed prenatally to lead. **Neural Regeneration Research**, v. 7, n. 25, p. 1939–1945, 2012.

YOUSEF, S. *et al.* Attention deficit hyperactivity disorder and environmental toxic metal exposure in the United Arab Emirates. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 57, n. 6, p. 457–460, dez. 2011.

ZHANG, B. *et al.* Prenatal exposure to lead in relation to risk of preterm low birth weight: A matched case-control study in China. **Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 57, p. 190–195, nov. 2015.

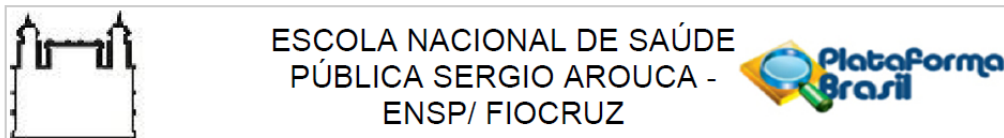
ZHENG, G. *et al.* δ -Aminolevulinic acid dehydratase genotype predicts toxic effects of lead on workers' peripheral nervous system. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 4, p. 374–382, ago. 2011.

ZENTNER, L.E.A *et al.* Lead Contamination and Anthropometry of the Newborn Baby. **Journal of tropical pediatrics**, v. 52, n. 5, p. 369–71, 2006.

ZENTNER, L.E.A.; RONDÓ, P. H. C. Lead contamination among pregnant Brazilian women living near a lead smelter. **International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics**, v. 87, n. 2, p. 147–148, nov. 2004.

ZMOZINSKI, A.V. **Desenvolvimento de método para determinação de cálcio, magnésio e zinco em amostras de óleo lubrificante por espectrometria de absorção atômica com chama.** 2010.75p. Dissertação (Mestrado em Química)- Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010

ANEXO - PARECER CONSUBSTANCIADO (APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA CEP ENSP/FIOCRUZ)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: IMPACTO CAUSADO POR RESÍDUOS INDUSTRIAIS À SAÚDE DA POPULAÇÃO RESIDENTE EM CONDOMÍNIO HABITACIONAL DE VOLTA REDONDA, RJ

Pesquisador: Maria de Fátima Ramos Moreira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 34645014.2.0000.5240

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.541.790

Apresentação do Projeto:

Este parecer refere-se a uma solicitação de emenda com a seguinte justificativa:

"A emenda trata-se do projeto da aluna de mestrado do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente Fabiana de Lima Coutinho, cuja qualificação ocorreu no dia 11/03/2016. A aluna ingressou no mestrado após a submissão do projeto ao CEP. O projeto da aluna é intitulado ANÁLISE DOS BIOMARCADORES PARA CHUMBO EM POPULAÇÃO EXPOSTA A RESÍDUOS INDUSTRIAIS NO CONDOMÍNIO VOLTA GRANDE IV, VOLTA REDONDA, RJ cujo o objetivo geral será analisar os biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade para chumbo em população, residente no Condomínio de Volta Grande IV, município de Volta Redonda, RJ, exposta aos metais provenientes de resíduos perigosos Classe I de atividade siderúrgica. O projeto da aluna faz parte do projeto geral "Impacto causado por resíduos industriais à saúde da população residente em condomínio habitacional de Volta Redonda, RJ." Tanto o projeto geral quanto o projeto da aluna não tiveram início (justificativa em anexo)".

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.041-210
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2598-2863 **Fax:** (21)2598-2863 **E-mail:** cep@ensp.fiocruz.br

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme descrito no parecer consubstanciado de aprovação de número 851.367, emitido em 30/10/2014 pelo CEP/ENSP.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O CEP/ENSP referenda o projeto da aluna como um subprojeto ao projeto em tela, aprovado no parecer consubstanciado de número 851.367, emitido em 30/10/2014 pelo CEP/ENSP.

A aluna consta na equipe de pesquisa do projeto geral.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos inicialmente de apresentação obrigatória foram descritos no parecer consubstanciado de aprovação de número 851.367, emitido em 30/10/2014 pelo CEP/ENSP.

Para a solicitação desta emenda, foram apresentados os seguintes termos:

- Formulário de Encaminhamento de Projeto de Pesquisa da aluna Fabiana de Lima Coutinho, com data de qualificação de 11/03/2016;
- Projeto de qualificação na íntegra da aluna de mestrado Fabiana de Lima Coutinho;
- Termo de Compromisso de subprojeto;
- Formulário de Submissão de Subprojeto ao CEP/ENSP.

Recomendações:

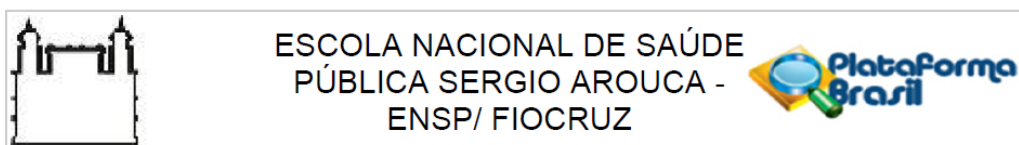
Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora, assim como a aluna, assinaram e inseriram na Plataforma Brasil o termo de compromisso do CEP/ENSP declarando que "o projeto ora notificado utilizará, para seu desenvolvimento, dados já coletados pelo projeto original. Assim, não serão recrutados novos sujeitos e os procedimentos realizados estão entre os previstos no projeto original, para os quais se obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP".

Subprojeto aceito nos termos como apresentado a este CEP, anexado na Plataforma Brasil em

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo	
Bairro: Manguinhos	CEP: 21.041-210
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2598-2863	Fax: (21)2598-2863
	E-mail: cep@ensp.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.541.790

25/04/2016.

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

ATENÇÃO: *** CASO OCORRA ALGUMA ALTERAÇÃO NO FINANCIAMENTO DO PROJETO ORA APRESENTADO (ALTERAÇÃO DE PATROCINADOR, MODIFICAÇÃO NO ORÇAMENTO, COPATROCÍNIO), O PESQUISADOR TEM A RESPONSABILIDADE DE SUBMETER UMA EMENDA AO CEP SOLICITANDO AS ALTERAÇÕES NECESSÁRIAS. A NOVA FOLHA DE ROSTO A SER GERADA DEVERÁ SER ASSINADA NOS CAMPOS PERTINENTES E ENTREGUE A VIA ORIGINAL NO CEP. ATENTAR PARA A NECESSIDADE DE ATUALIZAÇÃO DO CRONOGRAMA DA PESQUISA. ***

* Em atendimento ao subitem II.19 da Resolução CNS nº 466/2012, cabe ao pesquisador responsável pelo presente estudo elaborar e apresentar relatório final "[...] após o encerramento da pesquisa, totalizando seus resultados". O relatório deve ser enviado ao CEP pela Plataforma Brasil em forma de "notificação". O modelo de relatório que deve ser seguido se encontra disponível em www.ensp.fiocruz.br/etica.

* Qualquer necessidade de modificação no curso do projeto deverá ser submetida à apreciação do CEP, como emenda. Deve-se aguardar parecer favorável do CEP antes de efetuar a modificação.

* Justificar fundamentadamente, perante o CEP, caso haja interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Continuação do Parecer: 1.541.790

RIO DE JANEIRO, 12 de Maio de 2016

Assinado por:
Carla Lourenço Tavares de Andrade
(Coordenador)