

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

ELY CAETANO XAVIER JUNIOR

RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA COMO
INDICATIVO DE ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS
EM CRIANÇAS AMBIENTALMENTE EXPOSTAS
AO CHUMBO: INTERAÇÕES ENTRE
INDICADORES BIOLÓGICOS, FATORES
NUTRICIONAIS E PARÂMETROS CLÍNICOS

RIO DE JANEIRO

2007

Fundação Oswaldo Cruz
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio
Programa de Vocação Científica

Ely Caetano Xavier Junior

Razão cálcio/creatinina em urina como indicativo de alterações fisiológicas em crianças ambientalmente expostas ao chumbo: interações entre indicadores biológicos, fatores nutricionais e parâmetros clínicos

Monografia apresentada à Coordenação do Programa de Vocação Científica da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (Fundação Oswaldo Cruz) como requisito para conclusão do Programa de Vocação Científica – Etapa Avançado

Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos, DSc.
Orientadora

Helena Ramirez Domingos Mainenti, MSc.
Márcia Aparecida Ribeiro de Carvalho, MSc.
Co-orientadoras

Rio de Janeiro
Abril/2007

Ficha catalográfica
Biblioteca de Manguinhos – CICT/FIOCRUZ

X3 Xavier Junior, Ely Caetano

Razão cálcio/creatinina em urina como indicativo de alterações fisiológicas em crianças ambientalmente expostas ao chumbo: interações entre indicadores biológicos, fatores nutricionais e parâmetros clínicos / Ely Caetano Xavier Junior. – Rio de Janeiro, 2007.

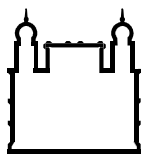
xix, 134 f. : il. ; 30 cm.

Monografia – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Programa de Vocação Científica, 2007.

Bibliografia: f. 93-107

1. Contaminação por chumbo. 2. Exposição ambiental. 3. Crianças - toxicidade. I. Título.

CDD 613.7071



Fundação Oswaldo Cruz
FIOCRUZ

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Paulo Marchiori Buss

Presidente

VICE-PRESIDÊNCIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO

Reinaldo Guimarães

Vice-Presidente

VICE-PRESIDÊNCIA DE ENSINO, INFORMAÇÃO E COMUNICAÇÃO

Maria do Carmo Leal

Vice-Presidente



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SÉRGIO AROUCA
ENSP

ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA

SÉRGIO AROUCA

Antonio Ivo de Carvalho

Diretor

**CENTRO DE ESTUDOS DA SAÚDE DO
TRABALHADOR E ECOLOGIA HUMANA**

Hermano Albuquerque de Castro

Coordenador

LABORATÓRIO DE

TOXICOLOGIA

Ana Cristina Simões Rosa

Chefe



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

ESCOLA POLITÉCNICA DA SAÚDE

JOAQUIM VENÂNCIO

André Malhão

Diretor

**PROGRAMA DE VOCAÇÃO
CIENTÍFICA**

Cristina Araripe Ferreira

Coordenador

PROGRAMA DE VOCAÇÃO CIENTÍFICA –

ETAPA AVANÇADO

Cristiane Nogueira Braga

Coordenador

Fundação Oswaldo Cruz
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio
Programa de Vocação Científica

Esta monografia intitulada

Razão cálcio/creatinina em urina como indicativo de alterações fisiológicas em crianças ambientalmente expostas ao chumbo: interações entre indicadores biológicos, fatores nutricionais e parâmetros clínicos

foi apresentada por

Ely Caetano Xavier Junior

perante a banca examinadora constituída por

Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos, DSc.
Hermano Albuquerque de Castro, DSc.
Cristiane Caldeira da Silva, MSc.

E, tendo o aluno feito a exposição satisfatoriamente e respondido a contento à arguição dos avaliadores, foi aprovada.

Rio de Janeiro, 09 de abril de 2007

Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos, DSc. (Orientadora)
Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz

Hermano Albuquerque de Castro, DSc.
Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz

Cristiane Caldeira da Silva, MSc.
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – Fundação Oswaldo Cruz

*A minha mãe Vera
dedico este trabalho,
por me conceder o amor infinito
que nenhum ato ou palavra
é capaz de definir ou cessar,
por me ensinar a amar a vida
que é a maior fonte de sabedoria,
por me apoiar constantemente
sendo meu porto e meu mar.
Amo você...*

AGRADECIMENTOS

∅ A Deus por me conceder a existência e por me dar condições de concluir este trabalho, na tentativa, ainda que pequena, de contribuir para a humanidade.

∅ A minha mãe Vera (a mulher mais fascinante que conheço) pelo amor constante e incondicional, pela abnegação materna e por compartilhar todos os momentos da minha vida.

∅ A minha avó Neiva (*in memoriam*) pelo carinho, pelo exemplo de força e dedicação e pelos valiosos ensinamentos.

∅ A minha tia Juciara e minha prima Heloisa pelo carinho, incentivo e presença constantes e irrestritos em minha vida.

∅ Ao meu pai Ely que – mesmo distante – é também origem da minha história.

∅ À orientadora Rita Mattos pela confiança ao me conceder esta oportunidade, pelo brilhantismo constante, pelos conhecimentos transmitidos e pelas inúmeras e indescritíveis qualidades, que fazem dela um exemplo pessoal e profissional.

∅ A Maria de Fátima Malizia Alves (Fafá) pela companhia, pela valiosa ajuda, pela inteligência e pelos conselhos sensatos.

∅ Às excepcionalmente inteligentes co-orientadoras Helena e Márcia, pela amizade, pela companhia insubstituível e pelo auxílio ao longo da realização deste trabalho.

∅ Ao Colégio Pedro II, como instituição e como comunidade, pela inestimável base moral e educacional oferecida, especialmente à Unidade Escolar São Cristóvão III, representada por Vera Medalha, que me acolheu gentilmente no Ensino Médio.

∅ À Coordenação do Programa de Vocação Científica/EPJSV, magnificamente representada por Cristina, Cristiane, Telma, Ign s e Giselle, pela iniciativa do Programa e pela oportunidade concedida a mim. Em especial a Cristiane pelo reconhecimento e pela confiança depositada ao longo do Avançado.

∅   Funda o Oswaldo Cruz pela excelência de seus profissionais, por emanar ciência e por ter me recebido como estagiário.

∅ Aos colegas do Setor de Indicadores de Efeito do CESTE/ENSP/FIOCRUZ pela alegria diária: Simone, Isabele, Murata, Leandro, Carlúcio e Mário – que

estão comigo desde o início do PROVOC – Daniele, Íris, Ana Luiza e Gabriela – cuja convivência foi menor, mas não menos importante.

∅ Aos funcionários e colaboradores do Laboratório de Toxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ pelo suporte técnico na realização deste trabalho.

∅ Aos meus amigos pelo companheirismo, pela compreensão e pelos inesquecíveis momentos vividos.

∅ Aos meus tantos mestres – pessoas especiais que me serviram de exemplo, que tive a honra de conhecer e que me ajudaram a construir minha personalidade – e seriam muitos para terem seus nomes aqui escritos.

∅ A todo ser humano, pois é a vida humana que me inspira a seguir adiante, que corre em minhas veias e que me encoraja a lutar diária e incansavelmente por um mundo melhor.

Desconfiai do mais trivial, na aparência singelo. E examinai, sobretudo, o que parece habitual. Suplicamos expressamente: não aceiteis o que é de hábito como coisa natural, pois em tempo de desordem sangrenta, de confusão organizada, de arbitrariedade consciente, de humanidade desumanizada, nada deve parecer natural, nada deve parecer impossível de mudar.

(Bertolt Brecht – Nada é impossível de mudar)

Não é somente o interesse que faz os homens se matarem. É também o dogmatismo. Nada é tão perigoso como a certeza de ter razão. Nada causa tanta destruição como a obsessão por uma verdade considerada como absoluta. Todos os crimes da história foram executados em nome da religião verdadeira, do nacionalismo legítimo, da política idônea, da ideologia justa. Deve ficar claro que nós não explicaremos o universo em todos os seus detalhes por uma única forma ou por uma única teoria. A ciência não conduz a uma explicação completa e definitiva do universo e tampouco a uma verdade absoluta. Ela se contenta com respostas parciais e provisórias.

(François Jacob – O jogo dos possíveis)

Il est vrai que les innovations de la science peuvent servir au meilleur comme au pire, qu'elles sont sources de malheurs comme de bienfaits. Mais ce qui tue et ce qui asservit, ce n'est pas la science. Ce sont l'intérêt et l'idéologie.

(François Jacob – La statue intérieure)

O homem que procura criar uma ordem social melhor tem de lutar contra duas resistências: a da natureza e a de seus semelhantes. Em termos gerais, é a ciência que lida com a resistência da natureza. Nisso, como em quase todas as outras coisas, o caminho para tudo o que é melhor é o caminho para a liberdade.

(Bertrand Russell – Caminhos para a Liberdade)

RESUMO

XAVIER JUNIOR, E.C. *Razão cálcio/creatinina em urina como indicativo de alterações fisiológicas em crianças ambientalmente expostas ao chumbo: interações entre indicadores biológicos, fatores nutricionais e parâmetros clínicos*. Monografia [Programa de Vocação Científica – Etapa Avançado, Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Fundação Oswaldo Cruz]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2007.

A razão cálcio/creatinina em urina (Ca/Cr) é utilizada no diagnóstico de hipercalcúria em crianças. Esta patologia está relacionada ao desenvolvimento de nefrolitíase e osteoporose em idade adulta. A exposição ambiental ao chumbo apresenta efeitos tóxicos na população infantil a concentrações de chumbo em sangue gradativamente menores, tornando-se um problema global de Saúde Pública. O objetivo do estudo foi investigar a interação entre excreção de cálcio urinário e exposição ambiental ao chumbo, determinando relações entre Ca/Cr e outros parâmetros estudados. Foram coletados dados do status sócio-econômico e informações nutricionais. A dose potencial para toxicidade e o fator de risco neurológico foram calculados a partir das concentrações de chumbo nas matrizes ambientais. As análises biológicas incluíram indicadores de exposição ao chumbo, sedimentoscopia de urina e parâmetros de metabolismo ósseo. Um total de 65 crianças com idades entre 0 e 16 anos participaram do estudo. A população estudada é sócio-economicamente desfavorecida e pertence ao grupo de risco nutricional. A análise ambiental de chumbo mostrou que as crianças vivem em área de potencial risco de exposição. Os indicadores biológicos identificaram exposição ao chumbo em metade da população. A média de Ca/Cr encontrada foi $0,12 \pm 0,07$ mg/mg e 12,2% das crianças (n=6) apresentaram hipercalcúria. As proporções de crianças saudáveis e com hipercalcúria foram similares àquelas de estudos anteriores. A Ca/Cr apresentou associação com a presença de cristais de oxalato de cálcio em urina. Foram encontradas correlações positivas significativas ($p < 0,05$) entre Ca/Cr e chumbo em urina (Pb-U) ($r=0,313$), e entre Ca/Cr e ácido delta-aminolevulínico urinário (ALA-U) ($r=0,443$). Os modelos de regressão múltipla mostraram que o ALA-U previu em 19,6% ($p=0,001$) as alterações na Ca/Cr e o Pb-U em 10,8% ($p=0,029$). Os resultados confirmaram a associação entre hipercalcúria e nefrolitíase. A relação entre exposição ao chumbo e aumento da excreção de cálcio foi identificada, evidenciando a validade da Ca/Cr como indicativo de alterações fisiológicas do chumbo, e apontado a necessidade de sua inclusão em programas de Saúde Pública.

PALAVRAS-CHAVE: razão cálcio/creatinina em urina; chumbo; exposição ambiental; toxicidade; crianças

ABSTRACT

Urinary calcium/creatinine ratio (UCa/Cr) is of practical use in diagnosing hypercalciuria in children. This pathology is associated to the development of nephrolithiasis and osteoporosis during adulthood. Environmental lead exposure has toxic effects in infantile population at lower and lower blood lead levels, becoming a global concern of Public Health. The objective of the study was to investigate the interaction between urinary calcium excretion and environmental lead exposure, determining relationships between UCa/Cr and other studied parameters. Socio-economic status data and nutritional information were collected. Potential dose for toxicity and neurological risk factor were estimated, based on lead concentrations in environmental matrix. Biological analyses included biomarkers of lead exposure, urine sediments microscopy and bone metabolism parameters. A total of 65 children between 0 and 16 years of age enrolled the study. Population had a low socio-economic status and was included in nutritional risk group. Environmental lead analyses showed the area children live in is of high potential for lead exposure. Biomarkers pointed to the existence of an environmental lead exposure in half of the studied population. The mean \pm SD UCa/Cr was 0,12 \pm 0,07mg/mg and hypercalciuria was diagnosed in 12,2% (n=6) of children. The proportions of healthy and hypercalciuric children were similar to those of previous studies. An association was identified between UCa/Cr and the presence of calcium oxalate crystals in urine. Positive and significant ($p<0,05$) correlations were found between UCa/Cr and urinary lead (Pb-U) ($r=0,313$) and between UCa/Cr and urinary delta-aminolevulinic acid (ALA-U) ($r=0,443$). Multiple regression models demonstrated that ALA-U could predict 19,6% ($p=0,001$) of the alterations in UCa/Cr and Pb-U could predict 10,8%. Results confirmed the association between hypercalciuria and nephrolithiasis. The relationship between lead exposure and increase in urinary calcium excretion was identified, supporting the validity of UCa/Cr as being suggestive of physiological alterations caused by lead and pointing to the need for including it in Public Health programmes.

KEYWORDS: urinary calcium/creatinine ratio; lead; environmental exposure; toxicity; children

RÉSUMÉ

Le rapport calcium/créatinine urinaire (Ca/Cr) est utile dans le diagnostic de hypercalciurie dans des enfants. Cette pathologie est associée au développement de la lithiase rénale et de l'ostéoporose pendant l'âge adulte. L'exposition environnementale au plomb a des effets toxiques dans des enfants à des niveaux de plus en plus bas de plomb en sang, devenant un problème global de Santé Publique. L'objectif de l'étude était d'enquêter l'interaction de l'excrétion urinaire de calcium et l'exposition environnementale au plomb, déterminant des relations entre la Ca/Cr et des autres paramètres étudiés. Les données au sujet du statut socio-économique et l'information alimentaire ont été rassemblés. La dose potentielle pour toxicité et le facteur de risque neurologique ont été calculés à partir des concentrations de plomb dans les matrices environnementales. Les analyses biologiques ont inclus des indicateurs d'exposition au plomb, la microscopie de sédiments urinaires et des paramètres de métabolisme osseux. Un total de 65 enfants des âges entre 0 et 16 ans se sont inscrits dans l'étude. La population a présenté un statut socio-économique défavorisé et a été incluse dans la catégorie d'alimentation déficiente. Les analyses environnementales de plomb ont montré que les enfants habitent un lieu de potentiel risque de exposition. Les indicateurs biologiques ont offert des évidences d'une exposition au plomb dans la moitié de la population étudiée. Le Ca/Cr moyen était $0,12 \pm 0,07$ mg/mg et l'hypercalciurie a été diagnostiquée dans 12,2% (n=6) d'enfants. Les proportions d'enfants en bonne santé et hypercalciuriques étaient semblables à ces précédemment rapportées. Une association a été identifiée entre Ca/Cr et la présence des cristaux d'oxalate de calcium en urine. Des corrélations positives et significatives ($p < 0,05$) ont été trouvées entre Ca/Cr et plomb urinaire (Pb-U) ($r = 0,313$) et entre Ca/Cr et l'acide delta-aminolevulinique urinaire (ALA-U) ($r = 0,443$). Les modèles de régression multiple ont démontré que l'ALA-U a pu prévoir 19,6% ($p = 0,001$) des changements en UCa/Cr et le Pb-U a pu prévoir 10,8% ($p = 0,029$). Les résultats ont confirmé l'association entre le hypercalciurie et la lithiase rénale. Le rapport entre l'exposition au plomb et l'augmentation de l'excrétion urinaire de calcium a été identifié, en soutenant la validité de la Ca/Cr comme indication des altérations physiologiques causées par plomb et en montrant le besoin de l'inclure dans des programmes de Santé Publique.

MOTS-CLEFS: rapport calcium/créatinine urinaire; plomb; exposition environnementale; toxicité; enfants

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – CLASSIFICAÇÃO E INTERDEPENDÊNCIA DAS CAUSAS DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO. OS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO SE DEVEM A UM GRANDE NÚMERO DE CAUSAS DE EXPOSIÇÃO, QUE PODEM SER MAIS DISTANTES OU MAIS PRÓXIMAS DO INDIVÍDUO. AMBAS OS TIPOS DE CAUSAS, DISTAIS E PROXIMAIS, SÃO INTERDEPENDENTES E CONTRIBUEM PARA O APARECIMENTO E A INTENSIFICAÇÃO DA CAUSA FISIOLÓGICA, QUE DÁ MARGEM À OCORRÊNCIA DE EFEITOS TÓXICOS. (ADAPTAÇÃO DE FEWTRELL ET AL., 2004) 4
- FIGURA 2 – MODELO ESQUEMÁTICO INTEGRANDO INFORMAÇÕES DOS MECANISMOS DE EXPOSIÇÃO E DA TOXICOCINÉTICA DO CHUMBO. O PLASMA É CARACTERIZADO COMO O COMPARTIMENTO CENTRAL A PARTIR DO QUAL O CHUMBO É DISTRIBUÍDO PARA OUTROS ÓRGÃOS-ALVO. Nesses órgãos, o metal pode ser excretado, transportado novamente para o plasma ou armazenado. (ADAPTAÇÃO DE ATSDR, 2005)..... 6
- FIGURA 3 – O CHUMBO APRESENTA DIFERENTES MECANISMOS DE AÇÃO TÓXICA NO PROCESSO DE SÍNTESE BIOLÓGICA DO HEME. O METAL É CAPAZ DE INDUZIR INDIRETAMENTE UM AUMENTO NA ENZIMA ALA-S E DE INIBIR A ENZIMA ALA-D, AUMENTANDO A CONCENTRAÇÃO DE ALA. O CHUMBO TAMBÉM INIBE A ENZIMA FERROQUELATASE, LEVANDO À FORMAÇÃO DA ZINCO PROTOPORFIRINA. A REDUÇÃO DA SÍNTESE DO HEME LEVA A UMA SÉRIE DE EFEITOS TÓXICOS ATRIBUÍVEIS À EXPOSIÇÃO AO CHUMBO. (ADAPTAÇÃO DE EPA, 1989)..... 8
- FIGURA 4 – O PROCESSO DE MONITORIZAÇÃO DE UMA EXPOSIÇÃO A UM AGENTE QUÍMICO COMPREENDE OS ASPECTOS AMBIENTAL E BIOLÓGICO. A UTILIZAÇÃO DO INDICADOR ADEQUADO DEPENDE DO TIPO DE AGENTE TÓXICO E DA SUBSTÂNCIA NA QUAL ELE SERÁ ANALISADO. (ADAPTAÇÃO DE SAKAI, 2000)..... 17
- FIGURA 5 – OS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO SÃO MUITO VARIADOS. AS CONCENTRAÇÕES DE Pb-S TÊM SE MOSTRADO CAPAZES DE CAUSAR DIFERENTES EFEITOS COM DIFERENTES MAGNITUDES. NAS CRIANÇAS, ALGUNS EFEITOS SÃO OBSERVADOS A NÍVEIS MAIS BAIXOS DE CHUMBO DO QUE EM ADULTOS. (ADAPTAÇÃO DE ATSDR, 1999 E ATSDR, 2005)..... 20
- FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS PRINCIPAIS SÍTIOS ANATÔMICOS DO CÁLCIO. O CÁLCIO INGERIDO PASSA PELO INTestino E UMA PARTE É ABSORVIDA PARA O PLASMA, ONDE SE APRESENTA NA FORMA DE ÍON LIVRE, LIGADO A ÂNIONS OU LIGADO A PROTEÍNAS. O FLUXO DE CÁLCIO ENTRE O FLUIDO EXTRACELULAR E OS OSSOS É IDÊNTICO PARA MANTER A HOMEOSTASE. NOS RINS, UMA FRAÇÃO SUBSTANCIAL DO CÁLCIO FILTRADO É REABSORVIDA E O RESTANTE É EXCRETADO NA URINA. 25
- FIGURA 7 – A ABSORÇÃO DE CÁLCIO PELO EPITÉLIO INTESTINAL OCORRE POR VIA PARACELULAR E TRANSCelULAR. O Ca^{2+} ENTRA NO ENTERÓCITO ATRAVÉS DO CANAL EPITELIAL DE CÁLCIO (ECAC), SENDO TRANSPORTADO PELA CALBINDINA D (CABP-D_{9kDa}). A SAÍDA DO Ca^{2+} ATRAVÉS DA MEMBRANA BASOLATERAL OCORRE PELA AÇÃO DAS ENZIMAS DE MEMBRANA Ca^{2+} -ATPASE (PMCA) E Na^{+} - Ca^{2+} -ATPASE (NCX). 29
- FIGURA 8 – NO TÚBULO PROXIMAL, A MAIOR PARTE DO CÁLCIO FILTRADO NOS GLOMÉRULOS É REABSORVIDA POR MECANISMO PARACELULAR PASSIVO, EM PROCESSO ANÁLOGO AO DO SÓDIO. 31
- FIGURA 9 – O RAMO ASCENDENTE ESPESSE É RESPONSÁVEL POR TODA A REABSORÇÃO DE CÁLCIO NA ALÇA DE HENLE. OS MECANISMOS PARACELULAR E TRANSCelULAR SÃO VIABILIZADOS PELA DIFERENÇA DE POTENCIAL ELÉTRICO ENTRE O LÚMEN TUBULAR E O CITOPLASMA, CRIADA PELA AÇÃO DE NKCC2, ROMK, Na^{+}/K^{+} -ATPASE E CLC E

REGULADA PELO CASR. A SAÍDA DO CÁLCIO DA CÉLULA PARA O INTERSTÍCIO OCORRE PELA AÇÃO DA PMCA E DA NCX.	32
FIGURA 10 – A REABSORÇÃO DE CÁLCIO NOS TÚBULOS DISTAIS (TCD E TCC) APRESENTA MECANISMO ANÁLOGO AO DA ABSORÇÃO INTESTINAL. O CÁLCIO É ABSORVIDO PELO ECAC E TRANSPORTADO NO INTERIOR DA CÉLULA PRO CABP-D _{28kDA} . A EXTRUSÃO DO Ca ²⁺ É REALIZADA PELA PMCA E PELA NCX.	33
FIGURA 11 – A MANUTENÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO CIRCULANTE ENVOLVE A AÇÃO COORDENADA DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS, DAS QUAIS SE DESTACAM O HORMÔNIO DA PARATIREÓIDE (PTH) A VITAMINA D ATIVA (1,25(OH)2D) E A CALCITONINA. ESSES SÃO OS PRINCIPAIS MECANISMOS QUE REGULAM A CIRCULAÇÃO DE CÁLCIO NO CORPO ATRAVÉS DE AÇÕES ESPECÍFICAS NO INTESTINO, RINS E OSSOS.	38
FIGURA 12 – DISTRIBUIÇÃO E MÉDIAS DOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO PRO GRUPO DE IDADE.	65
FIGURA 13 – LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO E PONTOS DE COLETA DAS AMOSTRAS DE MATRIZES AMBIENTAIS.	68
FIGURA 14 – DISTRIBUIÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS URINÁRIAS NA POPULAÇÃO ESTUDADA.	70
FIGURA 15 – DISTRIBUIÇÃO DAS ALTERAÇÕES URINÁRIAS NOS GRUPOS DE CRIANÇAS COM Ca/Cr INFERIOR E SUPERIOR AO VALOR DE REFERÊNCIA DE 0,21MG/MG.....	71
FIGURA 16 – DINÂMICA DA VARIÁVEL RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA DE ACORDO COM O AUMENTO DA IDADE NA POPULAÇÃO ESTUDADA.	72
FIGURA 17 – CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS Ca/Cr E LOGPb-U.....	73
FIGURA 18 – CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS Ca/Cr E ALA-U.....	74
FIGURA 19 – REGRESSÃO MÚLTIPLA COM Ca/Cr COMO VARIÁVEL DEPENDENTE E ALA-U E Pb-U COMO VARIÁVEIS INDEPENDENTES.....	78
FIGURA 20 – CURVA RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC PARA TESTE DA VARIÁVEL ALA-D% QUANTO AO DIAGNOSTICO DE Pb-S SUPERIOR A 6MG/DL.	79

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS SÓCIO-ECONÔMICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA. ..	60
TABELA 2 - ANÁLISE DESCRITIVA DA INGESTÃO DE NUTRIENTES POR GRUPOS DE IDADE.	61
TABELA 3 - PERCENTUAL DO CONSUMO DE NUTRIENTES ATINGIDO EM RELAÇÃO A RDA.....	62
TABELA 4 - ANÁLISE DESCRITIVA DOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO NA POPULAÇÃO.	63
TABELA 5 – VALORES MÉDIOS DE CHUMBO NAS MATRIZES AMBIENTAIS.	66
TABELA 6 - DOSE POTENCIAL E FATOR DE RISCO NEUROLÓGICO CALCULADO PARA CADA MATRIZ AMBIENTAL.....	67
TABELA 7 – RESULTADOS DO TESTE CHI-QUADRADO E NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA PARA CADA UMA DAS POPULAÇÕES CONSIDERADAS.	76
TABELA 8 – MODELO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA COM Ca/CR COMO VARIÁVEL INDEPENDENTE E ALA COMO VARIÁVEL INDEPENDENTE.....	76
TABELA 9 - MODELO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA COM Ca/CR COMO VARIÁVEL INDEPENDENTE E COM LOGPB-U COMO VARIÁVEL INDEPENDENTE.	77
TABELA 10 - MODELO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA COM Ca/CR COMO VARIÁVEL INDEPENDENTE.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- 1,25-(OH)₂D – 1,25-diidroxicolecalciferol ou calcitriol
- 24hCa-U – Cálcio urinário em amostra de urina de 24 horas
- 25-OHD – 25-hidroxicolecalciferol ou calcidiol
- ACGIH – *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (Conferência Governamental Americana de Higienistas Industriais)
- ACS – Agentes Comunitários de Saúde
- ALA – Ácido delta-aminolevulínico
- ALA-D – Enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase
- ALA-D% – Percentual de recuperação da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase
- ALA-S – Ácido delta-aminolevulínico sintetase
- ALA-U – Ácido delta-aminolevulínico urinário
- ALH – Alça de Henle
- ANOVA – Análise de variância
- ATSDR – *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças)
- Ca/Cr – Razão cálcio/creatinina em amostra única de urina
- Ca²⁺/H⁺-ATPase – Enzima cálcio/hidrogênio adenosina trifosfatase
- Ca²⁺-ATPase – Enzima cálcio adenosina trifosfatase
- CaBP-D – Proteína de ligação ao cálcio dependente de vitamina D
- CaBP-D_{28kDa} – Proteína de ligação ao cálcio dependente de vitamina D com peso molecular de 28 kilodaltons
- CaBP-D_{9kDa} – Proteína de ligação ao cálcio dependente de vitamina D com peso molecular de 9 kilodaltons
- cAMP – Adenosina monofosfato cíclica
- CaSR – Receptor sensível ao cálcio
- CDC – *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro de Controle de Prevenção de Doenças)
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- CESTEH – Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
- CLC – Canal de cloreto
- Cr – Creatinina
- CSEGSF – Centro de Saúde-Escola Germano Sinval Faria
- DCC – Ducto coletor
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
-

DP – Desvio-padrão

DPt – Dose Potencial

DRf – Dose de referência

DTT – Dietiltreitol

EAS – Análise de elementos anormais e sedimentoscopia

ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

EPA – *Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental)

EPSJV – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio

Fe – Ferro

FHH – Hipercalcemia Hipocalciúrica Familiar

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FR_N – Fator de risco neurológico estimado

Hb – Hemoglobina

IARC – *International Agency for Research on Cancer* (Agência Internacional para Pesquisa de Câncer)

IPCS – *International Programme on Chemical Safety* (Programa Internacional de Segurança Química)

MAPK – Proteína quinase ativada por mitogenios

Na⁺/Ca²⁺-ATPase – Enzima sódio/cálcio adenosina trifosfatase

Na⁺/K⁺-ATPase – Enzima sódio/potássio adenosina trifosfatase

NAG – N-acetil-glicosaminidase

NCX – Enzima sódio/cálcio adenosina trifosfatase

NHANESIII – *National Health and Nutrition Examination Survey* (Terceiro Exame Nacional de Saúde e Nutrição)

NKCC2 – Mecanismo de transporte paralelo de sódio, potássio e cloreto

NSHPT – Hiperparatireoidismo Neonatal Severo

OMS – Organização Mundial de Saúde

p – Nível de significância estatística

Pb-S – Chumbo em Sangue

Pb-U – Chumbo em urina

PKC – Proteína quinase C

PMCA – Enzima cálcio adenosina trifosfatase

POP – Procedimento Operacional Padrão

PROVOC – Programa de Vocação Científica

PSF – Programa de Saúde da Família

PTH – Hormônio da paratireóide ou paratormônio

QI – Quociente de inteligência

r – Coeficiente de correlação

r^2 – Coeficiente de determinação

RDA – *Recommended Dietary Allowances* (Recomendação Diária Aceitável)

ROC – *Receiver operator characteristic*

ROMK – Canal de potássio da membrana celular

TCC – Túbulo coletor cortical

TCD – Túbulo contorcido distal

TPX – Túbulo proximal

UV – Ultravioleta

VR – Valor de referência

ZPP – Zincoprotoporfirina

β – Coeficiente angular da reta

χ – Valor da distribuição chi-quadrado

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO.....	1
I.1 – CARACTERIZAÇÃO GERAL DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO	1
I.2 – CARACTERIZAÇÃO TOXICOLÓGICA DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO.....	4
I.2.1 – <i>Toxicocinética</i>	4
I.2.2 – <i>Toxicodinâmica</i>	7
I.3 – ESPECIFICIDADES DAS CRIANÇAS NO CONTEXTO DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO	12
I.4 – DIAGNÓSTICO E MONITORIZAÇÃO BIOLÓGICA DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO	15
I.4.1 – <i>Chumbo em sangue (Pb-S)</i>	17
I.4.2 – <i>Chumbo em urina (Pb-U)</i>	18
I.4.3 – <i>Recuperação da atividade da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase</i> ..	21
I.4.4 – <i>Ácido δ-aminolevulínico urinário (ALA-U)</i>	22
I.4.5 – <i>Zinco protoporfirina eritrocitária (ZPP)</i>	22
I.4.6 – <i>Polimorfismo da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase</i>	23
I.5 – PERFIL FUNCIONAL E MORFOLÓGICO DO CÁLCIO	24
I.6 – CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DO METABOLISMO DE CÁLCIO	26
I.6.1 – <i>Fisiologia gastrointestinal do cálcio</i>	26
I.6.2 – <i>Fisiologia renal do cálcio</i>	30
I.6.3 – <i>Fisiologia óssea do cálcio</i>	34
I.7 – MECANISMOS DE REGULAÇÃO DA HOMEOSTASE DE CÁLCIO.....	35
I.7.1 – <i>Hormônio da paratireóide (PTH)</i>	35
I.7.2 – <i>Metabólitos da vitamina D</i>	37
I.7.3 – <i>Calcitonina</i>	38
I.8 – CÁLCIO URINÁRIO: FUNDAMENTOS E PATOLOGIAS.....	39
I.8.1 – <i>Hipercalciúria: etiologia e diagnóstico</i>	40
I.8.2 – <i>Razão cálcio/creatinina em urina: concepções teóricas e limitações práticas</i>	45
II – OBJETIVOS	49
II.1 – OBJETIVO GERAL	49
II.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
III – METODOLOGIA	51
III.1 – DELINEAMENTO DO ESTUDO	51
III.2 – CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	51
III.3 – CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO	52
III.4 – PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO E COLETA DE DADOS	53
III.5 – MATERIAIS E MÉTODOS	54
III.5.1 – <i>Determinação da razão cálcio/creatinina em urina</i>	54
III.5.2 – <i>Determinação de chumbo em matrizes ambientais</i>	55
III.5.3 – <i>Determinação de chumbo em matrizes biológicas</i>	55
III.5.4 – <i>Determinação de parâmetros de metabolismo ósseo</i>	57
III.5.5 – <i>Determinação de parâmetros clínicos laboratoriais</i>	57
III.6 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
IV – RESULTADOS.....	59
IV.1 – PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO E DEMOGRÁFICO DA POPULAÇÃO	59
IV.2 – AVALIAÇÃO DO <i>STATUS</i> NUTRICIONAL DA POPULAÇÃO	60
IV.3 – AVALIAÇÃO DOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO.....	63
IV.4 – QUANTIFICAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO	66

IV.5 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE METABOLISMO ÓSSEO	69
IV.6 – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS EM URINA.....	69
IV.7 - AVALIAÇÃO DA RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA.....	70
IV.8 – ESTUDO COMPARATIVO DA RAZÃO CÁLCIO/CREATININA.....	75
IV.9 – MODELOS DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA	76
IV.10 – ANÁLISE DE CURVA <i>RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC</i>	78
V - DISCUSSÃO	80
V.1 – DETERMINANTES SÓCIO-ECONÔMICOS E NUTRICIONAIS COMO MODULADORES DA VULNERABILIDADE AO CHUMBO	80
V.2 – ASSOCIAÇÃO DE INDICADORES AMBIENTAIS E BIOLÓGICOS NA MONITORIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO	85
V.3 – RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA COMO PARÂMETRO LABORATORIAL EM POPULAÇÃO EXPOSTA AO CHUMBO	87
VI – CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
ANEXOS	108

I – INTRODUÇÃO

I.1 – CARACTERIZAÇÃO GERAL DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

O chumbo é um metal relativamente abundante na crosta terrestre, de ocorrência natural ou antropológica, e foi um dos primeiros metais a ser manipulado pelo homem em decorrência do baixo ponto de fusão, durabilidade, ductibilidade e facilidade em formar ligas metálicas (Sheets, 1998). Estudos em sítios arqueológicos do Mediterrâneo permitem afirmar que o uso de chumbo em pigmentos data de 40000 anos e em utensílios e artefatos de 8000 anos. Atualmente, o chumbo é usado em mais de 900 profissões. Os principais setores de utilização do chumbo são: a fabricação de baterias chumbo-ácidas, a reforma de baterias, o reparo de radiadores, as fundições secundárias e o refino de metais, cujos trabalhadores sofrem altos níveis de exposição. Nos países em desenvolvimento, a fabricação de baterias em pequena escala ou operações de reparo são responsáveis pela maioria das intoxicações ocupacionais notificadas por chumbo (Goldsberg et al., 1997).

Os danos da toxicidade do chumbo e suas manifestações clínicas constituem a patologia conhecida como saturnismo, que é relatada desde a Antiguidade e cujos sinais e sintomas clássicos são: dor abdominal, fadiga, sonolência, cefaléia, dores articulares, irritabilidade, impotência sexual, depressão, anorexia, mialgia, tremores, alterações do ritmo intestinal, hipertensão arterial sistêmica e perda de peso (Cordeiro, 1995). No século segundo antes de Cristo, o físico grego Discorides relatou que o chumbo fazia a mente desfalecer. No século I a.c., Marcus Vitruvius Pollio, o pai da arquitetura, recomendou aos engenheiros a substituição de todo o encanamento de chumbo do Império Romano pois o metal destruía o vigor do sangue. A Revolução Industrial intensificou a utilização deste metal, classificado como

tóxico, nos processos industriais, transformando a intoxicação por chumbo um problema de Saúde Pública (Warren, 2001).

O século XX assistiu tanto à mais intensa exposição ambiental da população em geral quanto ao extraordinário quantitativo de novas pesquisas acerca da toxicidade do chumbo, que passou a ser reconhecida como um considerável risco à saúde ambiental no mundo. O chumbo é capaz de afetar humanos e animais de todas as idades, mas seus efeitos são mais severos em crianças (Tong et al., 2000; Patocka & Cerny, 2003).

A exposição é caracterizada como ocupacional quando decorre da utilização do metal em alguma etapa do processo de trabalho. Paralelamente a ela, observam-se as exposições ocupacionais secundárias, ocorrendo especialmente entre as famílias dos trabalhadores, parentes e vizinhos, e principalmente em crianças, através do contato com as roupas, sapatos, automóveis e dentre outros artigos que são encontrados no ambiente de trabalho e que são levados para suas casas (Aguilar-Garduño et al., 2003).

Além disso, há a exposição ambiental, ou seja, de populações circunvizinhas, ou não, às fontes de emissão do metal para o ambiente. Nestas populações, identificam-se níveis de chumbo em sangue (Pb-S) mais elevados do que nas populações não expostas (Candela et al., 1998). Fatores como distância da residência do tráfego pesado, etnia, má-nutrição e *status* sócio-econômico também influenciam os níveis de chumbo em sangue (ATSDR, 1999; Kelada et al., 2001; Bellinger, 2004). A exposição ao chumbo também pode ocorrer durante atividades como a demolição e restauração de construções velhas, cujas tintas contenham o metal em sua composição (Ahamed et al., 2005).

Nos últimos vinte anos, os níveis de exposição, os casos de intoxicação e, conseqüentemente, os valores de Pb-S da população em geral vêm decaindo significativamente devido às medidas de controle (Lippmann, 1990; ATSDR, 1999). Entretanto, a exposição a baixos níveis do metal representa um sério problema de Saúde Coletiva, principalmente, nos países em desenvolvimento como o Brasil (ATSDR, 1999).

O chumbo é capaz de ingressar nos sistemas biológicos através dos alimentos, da água, do ar e do solo. Antes de 1995, a exposição ao chumbo através de alimentos contaminados era proveniente das latas que possuíam as arestas soldadas com chumbo. A interrupção do processo de soldagem a base de chumbo reduziu a ingestão do metal de 30µg/dia em 1982 para 2µg/dia em 1991. Ainda que este processo tenha sido abandonado nos Estados Unidos, ele continua sendo utilizado em outros países de modo que alguns alimentos importados apresentam níveis de chumbo elevados. Tintas a base de chumbo foram utilizadas durante décadas na construção civil, aumentando a exposição de crianças e contribuindo para a deposição de chumbo no ambiente (Toscano & Guilarte, 2005).

Outros fatores que auxiliaram o acúmulo do metal na atmosfera foram as emissões industriais e a combustão de gasolina. Esta última continha, até 1980, chumbo em sua composição e é responsável, de acordo com a Agência de Substâncias Tóxicas e Registros de Doenças (ATSDR) por 90% do chumbo depositado na atmosfera, lançando nela, entre 1923 e 1986, aproximadamente 4 milhões de toneladas do metal (Patocka & Cerny, 2003). A quantidade de chumbo no ar é variável, já que em áreas com baixa poluição registram-se níveis de 0,005-0,3µg/m³, ao passo que em áreas industriais e poluídas este índice é de 0,2-5,0µg/m³ (Toscano & Guilarte, 2005).

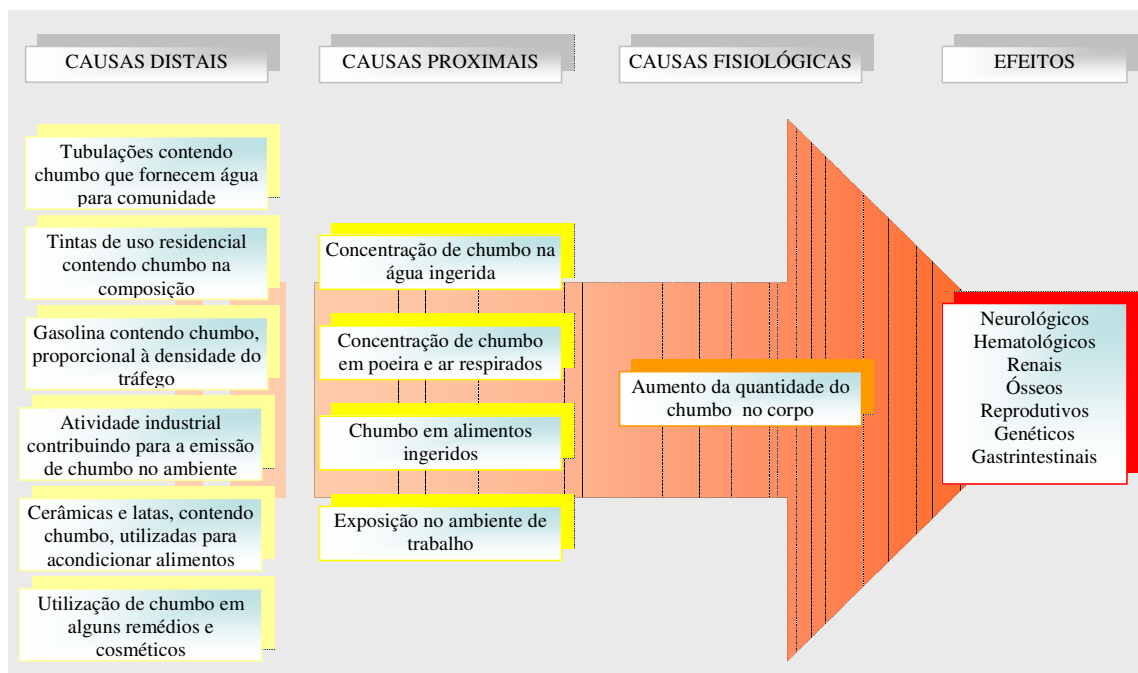


Figura 1 – Classificação e interdependência das causas da exposição ao chumbo. Os efeitos da exposição ao chumbo se devem a um grande número de causas de exposição, que podem ser mais distantes ou mais próximas do indivíduo. Ambas os tipos de causas, distais e proximais, são interdependentes e contribuem para o aparecimento e a intensificação da causa fisiológica, que dá margem à ocorrência de efeitos tóxicos. (Adaptação de Fewtrell et al., 2004)

Desta forma, o chumbo pode ser encontrado no ar, na água de beber, nos rios, lagos e oceanos, na poeira, no solo e na cadeia alimentar, em decorrência da sua utilização, durante muitos anos, em gasolina, tinta, cerâmica e cosméticos. Portanto, a exposição pode ocorrer pela ingestão de alimentos, água, ar ou poeira contaminados, sendo algumas vezes proveniente de múltiplas fontes (Tong et al., 2000).

I.2 – CARACTERIZAÇÃO TOXICOLÓGICA DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

I.2.1 – Toxicocinética

Os compostos de chumbo elementar e inorgânico são absorvidos tanto por inalação quanto por ingestão. A absorção pulmonar é eficiente, especialmente quando o diâmetro da partícula de chumbo suspensa no ar é aproximadamente $1\mu\text{m}$, já que ela é completamente absorvida pelos alvéolos pulmonares. A absorção gastrintestinal

de chumbo é menos eficiente, tendo em vista que depende de fatores como a presença de alimentos no estômago, a concentração de chumbo ingerido, a idade do indivíduo e seu *status* nutricional, sobretudo no que diz respeito à ingestão de ferro, zinco e cálcio. A absorção pela epiderme é irrisória, quando se trata de chumbo inorgânico (ATSDR, 1999; IPCS, 1999).

Após a absorção, o chumbo é transportado para o plasma, onde alcança rapidamente o equilíbrio com o fluido extracelular, atravessa membranas e se acumula em tecidos moles e duros. No sangue, cerca de 95-99% do chumbo é seqüestrado pelos eritrócitos, deixando apenas 1% no plasma, de forma livre ou associado à albumina, à gama-globulina e a outros compostos de baixo peso molecular. As altas concentrações nos eritrócitos são relacionadas à afinidade do chumbo com a hemoglobina (Hb), mas estudos indicaram que o chumbo dos eritrócitos está ligado principalmente à proteína ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALA-D). O acúmulo de chumbo nos eritrócitos e nos tecidos moles é responsável pela maioria dos efeitos tóxicos do metal. A meia-vida do chumbo é diferente em cada um de seus compartimentos: nos eritrócitos, ela varia de 25 a 40 dias, nos tecidos moles, é de aproximadamente 40 dias e nos ossos, pode chegar a 28 anos (Mushak, 1993; Diamond et al., 1998).

A carga de chumbo no osso corresponde a aproximadamente 90% da carga corpórea de chumbo em adultos. Esse metal é principalmente incorporado em ossos de rápido crescimento, como a tíbia, o fêmur, o rádio, onde compete com o cálcio. O osso serve de reservatório para o chumbo, assim como serve para o cálcio, considerando a similaridade eletroquímica entre estes elementos (Ahamed et al., 2005). O corpo pode mobilizar chumbo durante períodos de estresse, febre,

hipertireoidismo, imobilização prolongada, gravidez e lactação (Nashashibi et al.; 1999).

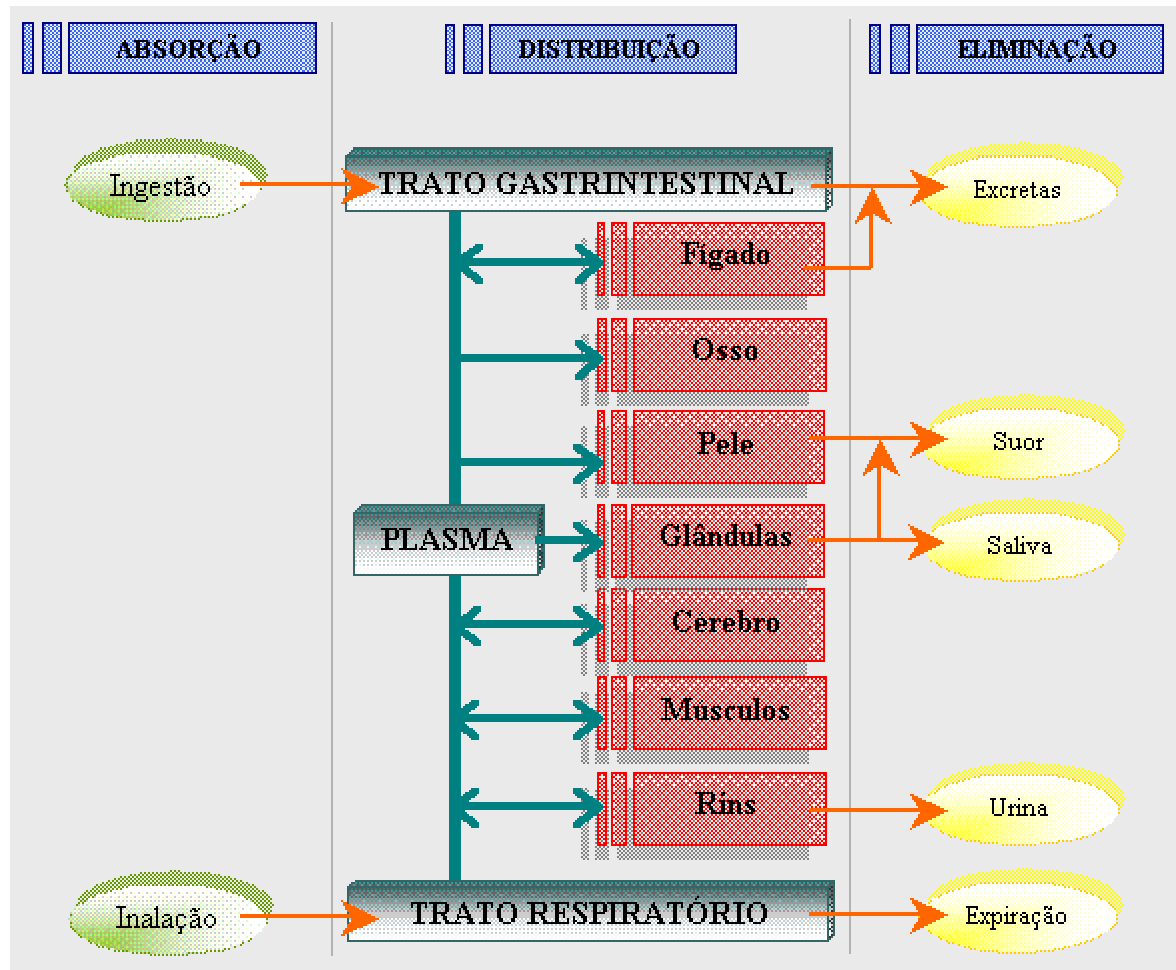


Figura 2 – Modelo esquemático integrando informações dos mecanismos de exposição e da toxicocinética do chumbo. O plasma é caracterizado como o compartimento central a partir do qual o chumbo é distribuído para outros órgãos-alvo. Nesses órgãos, o metal pode ser excretado, transportado novamente para o plasma ou armazenado. (Adaptação de ATSDR, 2005)

Em humanos, o chumbo é eliminado principalmente pela urina (65-75%) e fezes (25-30%), sendo no último, através da bile e de suco pancreático na forma de um complexo chumbo-glutationa. A excreção pela urina ocorre principalmente pela via renal, através dos processos de filtração glomerular e reabsorção, podendo ser afetada pelo fluxo urinário. Este metal também está presente no leite materno, no suor, nas unhas, nos cabelos e na saliva (Skerfving et al., 1993).

1.2.2 - Toxicodinâmica

A toxicidade do chumbo pode expressar-se com alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais em muitos sistemas orgânicos. Estes efeitos decorrem da interferência do chumbo nas propriedades funcionais das células, principalmente por causa de sua afinidade por membranas celulares e pela mitocôndria, de forma que o metal interfere na fosforilação oxidativa mitocondrial e nas ATPases de sódio, potássio e cálcio. Além disso, o chumbo impede a atividade dos mensageiros intracelulares dependentes de cálcio e da proteína quinase C no cérebro, e estimula a formação de corpos de inclusão, que podem transportá-lo para o núcleo da célula e alterar a expressão gênica (Bouton et al., 2001, Gressens et al., 2001).

Os efeitos de aumento da fragilidade celular resultam da interação do chumbo com grupos doadores de elétrons, com cátions essenciais, particularmente cálcio, ferro e zinco, e com a bomba de sódio-potássio (Na^+/K^+ -ATPase). O metal também é capaz de inibir a enzima pirimidina-5'-nucleotidase, alterando algumas funções do nucleotídeo (Vig et al., 1994; Lu et al., 2000). A toxicidade do chumbo é constatada em, principalmente, quatro eixos: hematológico, neurológico, ósseo e renal, mas o metal pode afetar também os sistemas gastrintestinal e reprodutivo, além de produzir possíveis efeitos carcinogênicos e mutagênicos (Mattos, 2001).

No que diz respeito às alterações hematológicas, um dos principais alvos do chumbo é a síntese do heme, grupamento constituinte de biomoléculas importantes como a hemoglobina. Como a respiração celular também é influenciada pelo heme, as ações tóxicas do chumbo em sua síntese trazem impactos em todo o organismo. O chumbo altera a atividade de quatro enzimas do processo: ácido delta-aminolevulínico sintetase (ALA-S), ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALA-

D), coproporfirinogênio oxidase e a ferroquelatase (ATSDR, 1999). A ALA-S, que catalisa a formação do ALA a partir de glicina e succinil-coenzima A, é induzida indiretamente pelo chumbo através de um mecanismo de *feedback* negativo. A coproporfirinogênio oxidase é inibida pelo metal, resultando na diminuição da formação de protoporfirina IX. Da mesma forma, o chumbo também inibe a atividade das enzimas ácido δ -aminolevulínico desidratase e ferroquelatase. A ALA-D catalisa a formação de porfobilinogênio e a ferroquelatase catalisa a incorporação do íon Fe^{2+} à molécula de protoporfirina IX. As alterações sofridas por estas enzimas resultam em aumento da concentração de ALA plasmático e urinário, coproporfirina urinária e zinco protoporfirina eritrocitária (ZPP) (Skerfving et al., 1993; Mattos, 2001). Estas alterações podem levar às seguintes manifestações clínicas: anemia microcítica hipocrômica moderada ou grave, hemólise, palidez, taquicardia e morte (Patočka & Cerny, 2003).

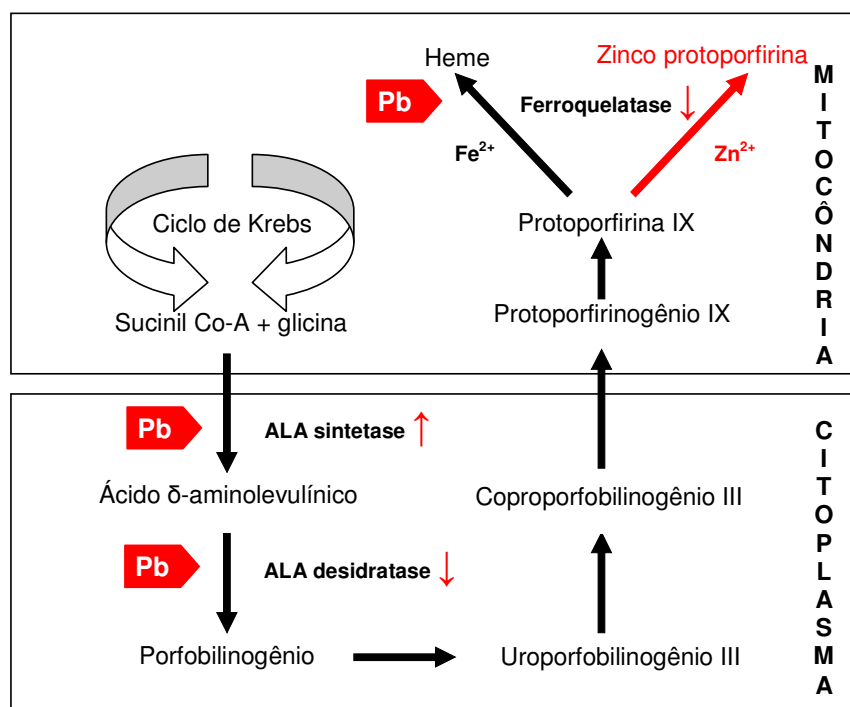


Figura 3 – O chumbo apresenta diferentes mecanismos de ação tóxica no processo de síntese biológica do heme. O metal é capaz de induzir indiretamente um aumento na enzima ALA-S e de inibir a enzima ALA-D, aumentando a concentração de ALA. O chumbo também inibe a enzima ferroquelatase, levando à formação da zinco protoporfirina. A redução da síntese do heme leva a uma série de efeitos tóxicos atribuíveis à exposição ao chumbo. (Adaptação de EPA, 1989)

Com relação ao sistema nervoso, o chumbo causa anormalidades através de diferentes mecanismos tóxicos, muitos dos quais ainda não foram totalmente explicados. No cérebro, o chumbo altera a função do cálcio celular, rompendo a barreira hematoencefálica. Essa alteração causa entrada de fluido protêico e edema cerebral, que afeta todas as partes do sistema nervoso central, predominantemente o cerebelo e os lobos occipitais. O edema cerebral induzido por chumbo manifesta-se inicialmente por dores de cabeça, torpor, vertigens e ataxia seguidos de convulsões, coma e morte ou recuperação com perdas neurológicas permanentes (Toscano & Guilarte, 2005). O chumbo também inibe a função de diferentes proteínas quinases e neurotransmissores. No sistema nervoso periférico, a exposição ao metal causa desmielinização segmentar de neurônios motores e destruição das células de Schwann, resultando na perda da função motora (Bressier et al., 1999; Gressens et al., 2001). No sistema nervoso central de adultos as neuropatias centrais são de difícil recuperação, mas neuropatias periféricas tendem a ocorrer com mais freqüência. No sistema nervoso das crianças, entretanto, efeitos centrais são mais freqüentes do que periféricos, e podem constituir danos permanentes. Efeitos neurotóxicos como diminuição do QI, da capacidade de concentração, acompanhados de distúrbios de fala e construção da lingüística, e neurocomportamentais, como hiperatividade, podem ser encontrados a níveis de chumbo cada vez mais baixos (Al-Saleh et al., 2001; Bellinger, 2004).

O tecido ósseo é o maior reservatório corporal para cálcio (Ca^{2+}) e chumbo (Pb^{2+}), que mantém entre si uma afinidade eletroquímica por serem ambos bivalentes. Pelo mecanismo da afinidade química, o chumbo pode interferir em vários processos mediados pelo cálcio em uma variedade de células e tecidos, mimetizando seu movimento intracelular e alterando sua distribuição nas células ósseas e em outros

tecidos (Skerfving et al., 1993; Cobayashi, 2004). As células osteoblásticas são alvos importantes e sensíveis dos efeitos tóxicos do chumbo. Estudos experimentais, *in vivo* e *in vitro*, sugeriram que o chumbo pode afetar a função osteoblástica, inibindo a diferenciação das células ósseas, reduzindo os níveis plasmáticos de vitamina D e do hormônio da paratireóide (PTH), e alterando a resposta das células ósseas à regulação hormonal (Rosen, 1983; Gennero et al., 2004). O chumbo tem a capacidade de inibir a ação do PTH sobre as concentrações séricas de Ca^{2+} , por exemplo, através da competição pelos canais de cálcio do PTH (Berglund et al., 2000).

A manifestação renal devido à intoxicação aguda apresenta sintomas semelhantes aos da síndrome de Falconi. Esta manifestação é geralmente reversível depois de uma terapia com agentes quelantes. Os sintomas resultantes de exposições crônicas são sutis, geralmente assintomáticos, mas podem ser observadas reduções significantes da função renal. Além disso, podem ser observadas disfunções tubulares decorrentes de exposições contínuas, classificadas como nefropatias agudas de efeitos reversíveis ou nefropatias crônicas irreversíveis. Em estudos envolvendo adolescentes e adultos, foram encontradas relações significativas entre a exposição ambiental ao chumbo e redução da taxa de filtração glomerular, além de observações clínicas de aumento da excreção de n-acetil-glicosaminidase (NAG), aminoacidúria e glicosúria (Manesh et al., 1992; Skerfving et al., 1993; Loghman-Adham, 1997; Öktem et al., 2004). Nos rins, observa-se a formação de corpos citoplasmáticos e nucleares associados à nefropatia causada pelo chumbo. Estes corpos de inclusão podem ser interpretados como uma resposta fisiológica importante, pois fazem parte do sistema de desintoxicação para proteger o tecido renal, seqüestrando o chumbo, mas que podem levar a alterações na expressão gênica das células portadoras de chumbo (Nolan & Shaikh, 1992; Mattos, 2001; Patocka & Cerny, 2003).

Outras ações tóxicas diretas do chumbo incluem apoptose, excitotoxicidade, dano aos processos de neurotransmissão, estresse oxidativo, peroxidação lipídica, anormalidade na formação de mielina e diminuição da função dos dendritos. Ainda que os vários efeitos tóxicos do chumbo não apresentem um mecanismo de ação único, a capacidade deste metal de mimetizar funções do cálcio e do zinco é um fator comum em muitas dessas manifestações tóxicas (Bressier et al., 1999).

No trato gastrintestinal o chumbo causa contrações no músculo que reveste as paredes do intestino, causando fortes cólicas abdominais. Outras manifestações intestinais incluem diarreia, constipação, perda de peso e perda extensiva de fluidos, chegando a um colapso circulatório (Patocka & Cerny, 2003; Bellinger, 2004).

O chumbo possui efeitos negativos sobre o sistema reprodutor, causando baixa espermatogênese e anormalidades morfológicas do espermatozoide em homens, e infertilidade, irregularidade menstrual e abortos espontâneos em mulheres. Exposições prolongadas podem resultar em redução da função da tireóide e, mais raramente, em hepatite, pancreatite e disfunção cardiovascular (Vivoli et al., 1993; Apostoli et al., 1998; Nashashibi et al., 1999).

Efeitos ligados à mutação ou aparecimento de câncer têm sido relatados com frequência em modelos experimentais em animais, nos quais houve incidência significativa de tumores no rim e no cérebro. Estudos recentes em humanos mostraram que o chumbo foi capaz de induzir um aumento na síntese de DNA sem causar citotoxicidade. Análises citométricas revelaram que o chumbo estimulou a passagem da fase G_0 para a fase S, aumentando o percentual de células na fase de síntese de DNA. O deslocamento e a atividade da proteína quinase C (PKC) também foram estimulados em indivíduos expostos ao chumbo. O metal mostrou-se capaz de ativar a cadeia de reações da proteína quinase ativada por mitogênicos (MAPK). Esses

e outros estudos experimentais e epidemiológicos viabilizaram a classificação do chumbo no grupo 2A da Agência Internacional para Pesquisa de Câncer (IARC) que reúne substâncias provavelmente cancerígenas (Antilla et al., 1995; Fu & Boffetta, 1995; Lu et al., 2000; Lu et al., 2001; IARC, 2006).

I.3 – ESPECIFICIDADES DAS CRIANÇAS NO CONTEXTO DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

O chumbo é uma ameaça ambiental às crianças, mais vulneráveis do que adultos, devido à sua atividade de exploração do ambiente por via oral, isto é, as crianças possuem o hábito de levar objetos e as mãos à boca, aumentando a ingestão de particulados e poeiras contendo o metal. Além disto, as taxas respiratórias são elevadas e a absorção gastrintestinal é maior (Ahamed et al., 2005).

Os adultos absorvem de 35% a 50% do chumbo ingerido contra os mais de 50% absorvidos pelas crianças. A mobilização de chumbo dos ossos durante a gravidez e lactação, juntamente com a exposição ambiental, aumenta a quantidade de chumbo no corpo das crianças (Ahamed et al., 2005). Além disto, o desenvolvimento e o amadurecimento do sistema nervoso iniciam-se na vida intra-uterina e são completados somente durante a infância (Tong et al., 2000).

Alguns estudos apontam que a exposição ao metal torna-se mais perigosa em grupos de crianças cujos pais sofrem exposição ocupacional ao chumbo. A média geométrica dos níveis de Pb-S, neste grupo de crianças, é quase três vezes maior do que em grupos de crianças da população em geral (9,3µg/dL e 3,6µg/dL, respectivamente) (Roscoe et al., 1999).

Nas crianças, o chumbo impede a secreção do hormônio do crescimento humano e do fator de crescimento da insulina, e interfere nas funções da adenosina

cíclica monofosfato (cAMP), resultando em anormalidades no crescimento ósseo. Evidências epidemiológicas têm demonstrado uma correlação negativa entre os níveis do chumbo no sangue e a estatura de crianças (Berglund et al., 2000).

Este metal possui a capacidade de atravessar a barreira transplacentária, podendo passar do organismo materno para o fetal. Portanto, a exposição da criança pode ter início ainda na vida intra-uterina. O metal também pode ser transferido para a criança através do leite materno, em razão da mobilização do chumbo armazenado no osso, durante a gravidez (Mattos, 2001; Bellinger, 2004).

Baseadas nas evidências de que o chumbo é um elemento prejudicial à saúde de crianças, mesmo em baixas concentrações, novas diretrizes têm sido traçadas em relação aos programas de saúde na Europa e nos Estados Unidos. Estas diretrizes recomendam um estudo das crianças, não só de áreas consideradas de risco, mas também, uma quantificação universal dos níveis de chumbo no sangue, para a implantação de programas de intervenção, com o objetivo de reduzir a exposição ao chumbo e conseqüentemente, os riscos de efeitos adversos à saúde (Tong et al., 2000).

Utilizando os níveis de chumbo em sangue (Pb-S) como um parâmetro, o limite máximo para crianças no início da década de 60 era de 60µg/dL, que correspondia a uma exposição ao chumbo em que eram observados claros sintomas físicos. Entretanto, a observação de que níveis mais baixos de Pb-S produziam efeitos neurológicos, ainda que não houvesse manifestações clínicas claras, levou à diminuição do limite para 40µg/dL. Estudos contínuos e recentes demonstraram que níveis de chumbo cada vez mais baixos também produziam efeitos tóxicos, de maneira que o limite máximo aceitável de Pb-S foi sendo sucessivamente diminuído. Em 1975, o limite de Pb-S passou para 30µg/dL, em 1985, para 25µg/dL e,

finalmente, em 1991, para 10µg/dL. Considerando a realização constante de novas pesquisas sobre a toxicidade do chumbo, é possível afirmar que esse nível ainda é válido? (Lin-Fu, 1972; Schwartz, 1994; Poeschel et al., 1996).

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) estabeleceu em 1991 o valor de 10µg/dL como uma diretriz para ações de intervenção na saúde de crianças. Embora este nível de Pb-S tenha sido estabelecido como guia, muitas vezes é visto incorretamente como um valor de referência, abaixo do qual não há efeitos considerados tóxicos. A concentração de 10µg/dL corresponde, na verdade, à concentração molar de 0,48mM, mas vários efeitos da exposição ao chumbo ocorrem a concentrações de magnitudes menores (CDC, 1991; CDC, 2000; Bellinger, 2004).

No Terceiro Exame Nacional de Saúde e Nutrição (NHANESIII), realizado nos Estados Unidos com 4856 crianças de 6 a 16 anos, as medidas de função cognitiva apresentaram relações inversas com os níveis de Pb-S, mesmo com amostras que continham níveis menores do que 5µg/dL. O chumbo, por exemplo, afeta a calmodulina e a sinaptotagimina em concentrações nanomolares e a proteína quinase C (PKC) em concentrações picomolares (Bressler et al., 1999; Ferguson et al., 2000; Lamphear et al., 2000; Bouton et al., 2001).

Desta forma, nenhum valor pode ser citado como referência, isolado do contexto de exposição, ou seja, de fatores como idade, duração e intensidade da exposição. Além disso, um nível de chumbo em sangue abaixo do qual nenhum efeito adverso tenha sido identificado, ainda não foi estabelecido (Bellinger, 2004).

I.4 – DIAGNÓSTICO E MONITORIZAÇÃO BIOLÓGICA DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define saúde como um “estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doenças ou enfermidade”. Desta forma, cabe aos profissionais da saúde identificar, avaliar e corrigir qualquer estado que não o de bem-estar. Algumas das principais ferramentas para atingir este objetivo são a monitorização ambiental e biológica, usadas na avaliação da exposição ocupacional ou ambiental a agentes químicos (Sakai, 2000).

O processo de monitorização biológica pode envolver análises contínuas de um indicador ou uma análise pontual de uma série de indicadores. A monitorização ambiental inclui a análise de indicadores ambientais, obtidos em coletas de matrizes ambientais próximas a população estudada. A monitorização biológica é definida como o conjunto de mensurações e avaliações de agentes tóxicos e/ou seus metabólitos em tecidos, secreções, excreções com o objetivo de avaliar a exposição à substância química e seu risco à saúde (Schulte, 2005).

A utilização dos indicadores biológicos, por exemplo, tem uma função fundamental em investigações de avaliação do risco por fornecer informações que podem ser usadas para prever o desenvolvimento de doenças e para implementar programas de prevenção de doenças (Bonassi, 2002). De acordo com sua natureza, estes indicadores podem ser classificados como: (1) indicadores de exposição ou de dose interna, (2) indicadores de efeito e (3) indicadores de susceptibilidade (Au et al., 2005).

Os agentes tóxicos são absorvidos, distribuídos e metabolizados no organismo humano gerando uma dose interna que representa a concentração deste agente nas

matrizes biológicas. Os indicadores de dose interna determinam o nível de exposição, através da quantificação do agente tóxico ou do seu metabólito nestas matrizes. (Della Rosa et al., 1991; Lauwerys, 1991; Schulte, 1991).

Após a exposição a substâncias tóxicas, uma variedade de respostas orgânicas à exposição pode ocorrer, dando origem a alterações biológicas. A substância tóxica pode se ligar a macromoléculas funcionais, como enzimas, receptores e DNA, resultando em efeitos subclínicos nos órgãos e tecidos alvo. Estes efeitos em processos bioquímicos ou estruturais são geralmente reversíveis e precoces. Os indicadores de efeito mensuram, portanto, a extensão dos efeitos tóxicos subclínicos, ou seja, as alterações químicas, fisiológicas ou estruturais que podem levar ao aparecimento de uma doença ocasionada pela exposição (Schulte, 1991; Schulte, 1993; Au et al., 2005).

O indicador de susceptibilidade se refere às limitações inerentes ou adquiridas do organismo que influenciam na sua habilidade de responder a mudanças de exposição a uma determinada substância, alterando a resposta biológica e os efeitos individuais, ou seja, são variações genéticas relacionadas ao metabolismo, gerando diferenças interindividuais de risco à saúde (Schulte, 1991; Schulte, 1995; Aitio & Kallio, 1999; Bertazzi, 2000; Au et al., 2005).

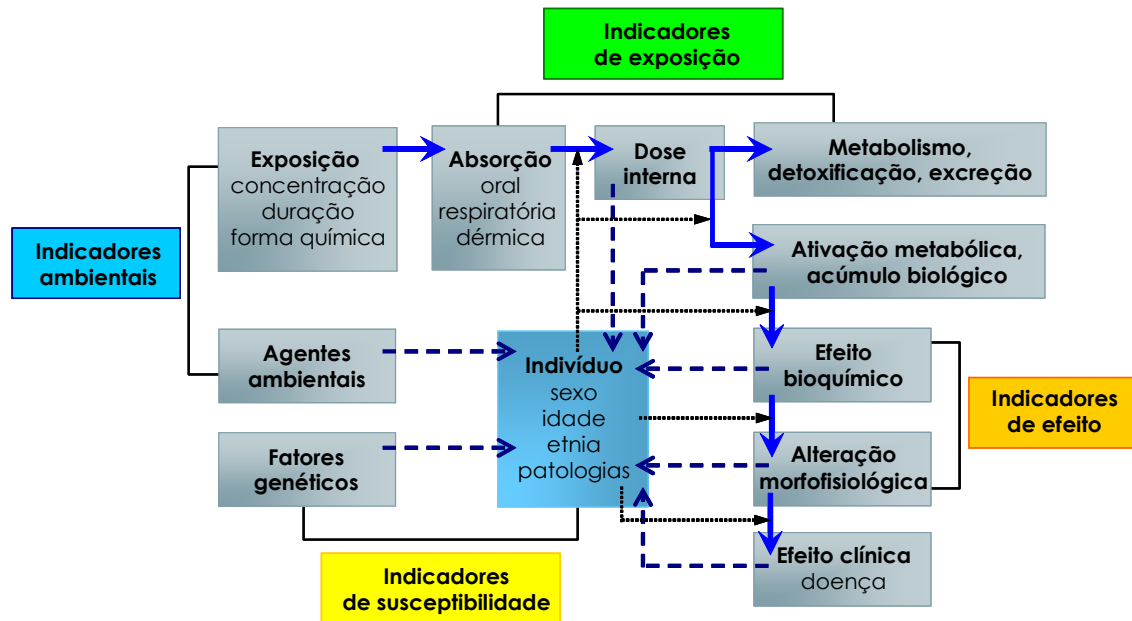


Figura 4 – O processo de monitorização de uma exposição a um agente químico compreende os aspectos ambiental e biológico. A utilização do indicador adequado depende do tipo de agente tóxico e da substância na qual ele será analisado. (Adaptação de Sakai, 2000)

1.4.1 – Chumbo em sangue (*Pb-S*)

A determinação das concentrações de *Pb-S* é o indicador biológico mais utilizado para a detecção de exposição ao chumbo. O uso extensivo desse reflete a confiabilidade e a validade de seus resultados em estudos clínicos e epidemiológicos, em comparação com outros indicadores de dose interna, como chumbo no rim, plasma, urina e osso. O *Pb-S* tem, todavia, uma limitação no que diz respeito à mensuração da carga corpórea de chumbo, tendo em vista que o sangue comporta menos de 2% a carga corpórea total (ACGIH, 2004).

A meia-vida do chumbo em sangue é de aproximadamente 30 dias, de forma que a concentração de *Pb-S* é capaz de refletir se a exposição ocorreu durante o período de um mês, mas sem apontar necessariamente aumento de carga corpórea ou diminuição de eliminação do metal. A relação entre absorção de chumbo e aumento *Pb-S* é variável ao se considerar fatores como idade, dieta e *status* nutricional. As alterações na concentração de chumbo em sangue refletem rapidamente mudanças no

contexto de exposição, tendo em vista a rápida difusão no sangue do chumbo, após sua absorção (ATSDR, 2005).

Uma determinação única de Pb-S não consegue distinguir, entretanto, entre uma exposição intermediária a baixos níveis de Pb^{2+} , uma exposição crônica ou uma exposição aguda a altos níveis de Pb^{2+} . Desta forma, para estudos que visam registrar a história da exposição, são indicadas duas quantificações em períodos diferentes superiores a um mês, mas para estudos que tem como objetivo identificar a exposição, uma quantificação de Pb-S se mostra suficientemente válida e fidedigna (Roels et al., 1995).

Apesar de algumas limitações em seu uso, a determinação do Pb-S continua a ser um parâmetro confiável para a monitorização biológica do chumbo, demonstrando com segurança vários efeitos que se correlacionam com o aumento dos seus níveis (Skerfving et al., 1993; Mattos, 2001).

1.4.2 – Chumbo em urina (Pb-U)

A utilização de chumbo em urina (Pb-U) como indicador biológico de exposição ao chumbo está baseada no fato de que uma fração do chumbo absorvido é excretada pela via urinária. Além disso, este indicador apresenta vantagens metodológicas por estar presente na matriz biológica urina, já que é de fácil coleta, transporte, manuseio e armazenamento, e é obtido por técnica de coleta não invasiva, sem causar desconforto para o indivíduo, principalmente para crianças e idosos (Gulson et al., 1998; Fukui et al., 1999).

Os níveis de Pb-U aumentam exponencialmente com o aumento do chumbo em sangue, mas suas concentrações dependem não só das condições de exposição, como

também da função renal, que é variável e pode comprometer a análise de amostras de urina. Entretanto, a variabilidade interindividual dos parâmetros analisados em urina pode ser corrigida pela creatinina, que oferece uma estimativa bastante precisa da filtração glomerular, garantindo a confiabilidade da análise urinária (IPCS, 1999; Skerfving et al., 1993; Lee et al., 2000; Schwartz et al., 2000; Sakai, 2000).

Desta maneira, muitos estudos têm utilizado o Pb-U como um indicador de dose interna auxiliar, tendo em vista sua capacidade de apontar com segurança as exposições ocupacionais e ambientais ao chumbo (Gulson et al., 1998; Fukui et al., 1999; Tshaih et al., 1999; Makino et al., 2000; Shimbo et al., 2000).



Criança 	Chumbo em sangue (µg/dL)	 Adulto
	150	Morte
Morte		
	100	Encefalopatia Anemia ↓ Longevidade
Encefalopatia Neuropatia Dores abdominais		
	50	↓ Secreção de T3 e T4 ↓ Síntese de Hb
Síntese de Hb ↓		Neuropatia periférica Infertilidade ♀
	40	Neuropatia ↓ Filtração glomerular
Níveis de vitamina D ↓ Anemia		↓ Acuidade auditiva
	30	
Filtração glomerular ↓ IgE ↑ IgM ↓ IgG ↓ Velocidade condução nervosa ↓ Protoporfirina ↑		↑ Protoporfirina ♂
	20	
Atividade da ALA-D ↓		↓ Atividade da ALA-D ↑ Protoporfirina ♀
	10	
Desenvolvimento neurológico ↓ Crescimento ↓ Q.I. ↓		Hipertensão ↑ Pressão diastólica ↑ Pressão sistólica
	6	
Audição ↓ Maturação sexual ↓ Habilidade de leitura ↓ Função cognitiva ↓		
Aumento da função ↑		↓ Diminuição da função

Figura 5 – Os efeitos da exposição ao chumbo são muito variados. As concentrações de Pb-S têm se mostrado capazes de causar diferentes efeitos com diferentes magnitudes. Nas crianças, alguns efeitos são observados a níveis mais baixos de chumbo do que em adultos. (Adaptação de ATSDR, 1999 e ATSDR, 2005)

1.4.3 – Recuperação da atividade da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase

A enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALA-D) é a segunda enzima no processo de síntese do heme, sendo responsável pela condensação de duas moléculas de ALA para formar uma molécula de porfobilinogênio. A ALA-D eritrocitária é rapidamente inibida pela exposição ao chumbo (Sakai et al., 1981). Sua inibição em crianças pode ser observada a níveis baixos de Pb-S ($<10\mu\text{g/dL}$), correspondendo a um efeito não detectado, mas paralelo às alterações de chumbo em sangue (Skerfving et al., 1993).

A determinação da atividade de ALA-D é um dos métodos mais úteis para a avaliação da exposição ao chumbo, tendo em vista que sua atividade é muito sensível e específica para o contexto de exposição ao chumbo. A atividade dessa enzima é totalmente inibida a níveis de 40 a $60\mu\text{g/dL}$ de chumbo em sangue (Sakai et al., 1987).

Entretanto, a determinação da concentração da ALA-D isoladamente apresenta uma limitação no que diz respeito à desnaturação enzimática durante o processo de estocagem das amostras (Sakai & Morita, 1996). Para eliminar esta limitação do indicador ALA-D, utiliza-se uma etapa de ativação da enzima, na qual o calor e a adição de dietiltreitól (DTT) recuperam as pontes de dissulfeto, reativando assim a enzima (Skerfving et al., 1993).

O percentual de ativação da enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALA-D%) tem sido bem correlacionada com a concentração de chumbo em sangue, de forma que vem sendo crescentemente utilizada na avaliação da exposição ao chumbo (Sakai, 2000).

1.4.4 – Ácido δ -aminolevulínico urinário (ALA-U)

A concentração urinária do ácido δ -aminolevulínico (ALA-U) tem sido utilizada e aceita como um indicador de efeito bioquímico do chumbo. O ALA é sintetizado na mitocôndria a partir da glicina e a succinil-coenzima-A através da ALA sintetase (ALA-S). Estudos mostraram que um aumento na concentração de chumbo em sangue é capaz de induzir um aumento substancial nos níveis de ALA-U (WHO, 1980; Okayama et al., 1990).

A diminuição da atividade da ALA-D e a ativação indireta da ALA-S por mecanismo de *feedback* negativo em resposta à exposição ao chumbo aumenta a concentração de ALA em vários tecidos e no plasma, elevando sua excreção urinária (Hosoda et al., 1989; Tekebayashi et al., 1993).

O ALA-U começou a ser utilizado em 1950, e várias metodologias foram desenvolvidas e estudadas, com destaque para o método que utiliza Cromatografia Líquida de Alta Performance, para o qual foi relatada, em diversos estudos, em correlação exponencial entre as concentrações de ALA-U e de Pb-S. Enquanto o ALA plasmático é mais utilizado para refletir indiretamente o nível de chumbo disperso no corpo, o ALA-U vem sendo utilizado extensivamente e continuamente como um indicador de efeitos da exposição ao chumbo (Morita et al., 1994; Sakai & Morita, 1996; Morita, 2003).

1.4.5 – Zinco protoporfirina eritrocitária (ZPP)

A última etapa do processo de síntese biológica do heme consiste na introdução de Fe^{2+} na protoporfirina IX, que é também afetada pela exposição ao chumbo. A inibição da redução do Fe^{3+} e da enzima ferroquelatase pelo chumbo

causa a diminuição do transporte de Fe^{2+} para a mitocôndria, resultando no acúmulo da protoporfirina IX nos eritrócitos, onde ela é ligada ao Zn^{2+} por meio de processos enzimáticos e não-enzimáticos, formando a zinco protoporfirina (ZPP). O acúmulo de ZPP nos eritrócitos constitui, portanto, um indicador biológico de efeito da exposição ao chumbo (Lamola & Yamane, 1974; Blumberg et al., 1977; Skerfving et al., 1993).

A ZPP é muito utilizada na avaliação de exposição ocupacional, pois é de fácil identificação graças à sua fluorescência e as amostras são de fácil obtenção. É através da fluorescência que é possível determinar as concentrações de ZPP através de hematofluorometria. Essa técnica tem sido muito utilizada, mas pode apresentar baixo controle de interferentes como a bilirrubina e a protoporfirina IX. Além disso, em populações com deficiência severa de ferro este indicador pode apresentar valores acima dos normais (Niinuma et al., 1982; Skerfving et al., 1993; Mattos, 2001).

1.4.6 – Polimorfismo da enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase

O polimorfismo genético da ALA-D é uma alteração genética, que coloca determinados indivíduos mais vulneráveis à ação do chumbo. Esta enzima possui dois alelos co-dominantes, ALA-D¹ e ALA-D². A determinação deste alelo poderá ser utilizada como um indicador de susceptibilidade (Potluri et al., 1987; Schwartz et al., 1995; Mitri, 2003).

A análise da seqüência de aminoácidos da ALA-D, localizados do cromossomo 9q-34, demonstra que a diferença entre os polipeptídios ALA-D¹ e ALA-D² está na substituição do aminoácido carregado positivamente (lisina) pelo neutro (asparagina), resultante da troca das bases nitrogenadas guanina (G) por citosina (C) no sítio ativo do nucleotídeo 177, criando um sítio de restrição da enzima MspI. Essa substituição altera a carga elétrica, tornando o genótipo ALA-D² uma enzima mais

eletronegativa e, conseqüentemente, capaz de ligar íons Pb^{2+} de maneira mais firme que a proteína ALA-D¹, podendo reter o metal por um período de tempo maior (Astrin et al., 1987; Wetmur et al., 1991; Mitri, 2003).

Estudos recentes descrevem algumas das diferenças entre os portadores dos diferentes genótipos da ALA-D. Portadores da ALA-D² apresentaram níveis maiores de Pb-S se comparados aos portadores da ALA-D¹, tanto em exposições ocupacionais quanto ambientais. Como a ALA-D² tem a capacidade de permanecer ligada ao Pb^{2+} por um período maior, a quantidade de chumbo biologicamente ativo é menor em seus portadores do que nos indivíduos ALA-D¹ homozigotos, os quais apresentam, por exemplo, maiores concentrações de ZPP, tendo em vista que há mais Pb^{2+} livre e capaz de competir com o Fe^{2+} (Benkmann et al., 1983; Ziemsen et al., 1986; Schwartz et al., 1997; Zhang et al., 1998).

I.5 – PERFIL FUNCIONAL E MORFOLÓGICO DO CÁLCIO

O cálcio é um mineral essencial para a integridade estrutural do corpo e da função bioquímica de cada célula. Sua importância está relacionada, principalmente, à formação da estrutura óssea e à manutenção de sua integridade. O cálcio também regula diversos processos orgânicos, como comunicação intercelular, transmissão de impulsos nervosos, adesão de uma célula a outra, contração muscular, coagulação sanguínea, manutenção do ritmo cardíaco, ação de enzimas e síntese e secreção de múltiplos hormônios (Guthrie & Yucha, 2003).

A ingestão suficiente de cálcio no período de formação do osso, principalmente durante a infância e adolescência, é de fundamental importância para uma melhor densidade óssea, propiciando na idade adulta e terceira idade, um fator

de risco menor quanto ao desenvolvimento de osteoporose e, conseqüentemente, de fraturas (Cobayashi, 2004).

A quantidade de cálcio no corpo se mantém em torno de 1200g, dos quais 99% são armazenados do osso e 1% permanece no meio extracelular ou intracelular. Os principais órgãos envolvidos nos processos de absorção, transporte, distribuição, armazenamento e excreção do cálcio são o intestino, os ossos e os rins. O cálcio extracelular representa a maior parcela do cálcio em trânsito pelo organismo e se apresenta sob três formas (Mundy, 1990; Sahota & Hosking, 1999).

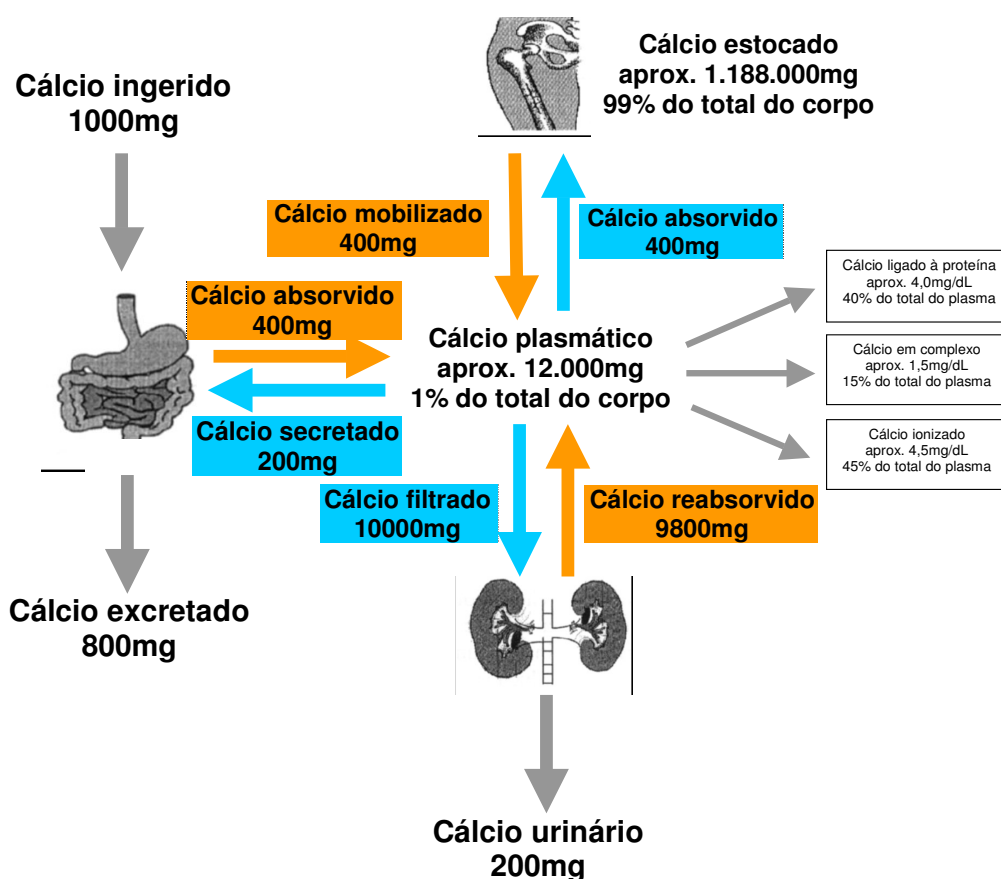


Figura 6 – Representação esquemática dos principais sítios anatômicos do cálcio. O cálcio ingerido passa pelo intestino e uma parte é absorvida para o plasma, onde se apresenta na forma de íon livre, ligado a ânions ou ligado a proteínas. O fluxo de cálcio entre o fluido extracelular e os ossos é idêntico para manter a homeostase. Nos rins, uma fração substancial do cálcio filtrado é reabsorvida e o restante é excretado na urina.

A primeira delas corresponde a 45% do total de cálcio extracelular e se refere ao cálcio ionizado (Ca^{2+}), difusível pelas membranas celulares e, portanto,

biologicamente ativo. A segunda forma, correspondente a 40% do cálcio extracelular, representa o cálcio ligado de forma reversível a proteínas plasmáticas, como a albumina. Os 15% restantes do cálcio extracelular representam o Ca^{2+} que forma complexos químicos com ânions como citrato, lactato, bicarbonato, sulfato e fosfato, e é difusível e passível de filtração glomerular (Mundy & Guise, 1999; Guthrie & Yucha, 2003).

I.6 – CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DO METABOLISMO DE CÁLCIO

A compreensão do processo fisiológico a nível celular é uma ferramenta a partir da qual é possível compreender os mecanismos do metabolismo de uma substância. Este conhecimento é útil para a visualização de distúrbios metabólicos, que podem comprometer a homeostase do organismo. A divisão da descrição fisiológica do metabolismo de cálcio entre trato gastrintestinal, rins e osso é usada para minimizar as generalizações dos mecanismos de absorção, transporte e excreção do cálcio (Bindels, 1993; Friedman & Gesek, 1993). Ainda que esta separação por órgãos apresente uma descrição fidedigna do metabolismo de cálcio, é importante reconhecer que as vias metabólicas do cálcio não se restringem a determinados sítios anatômicos e que existem inúmeras vias específicas de transporte de cálcio, cujos mecanismos ainda não foram completamente explicados (Friedman & Gesek, 1993; Bindels et al., 1994).

1.6.1 – Fisiologia gastrintestinal do cálcio

Os mecanismos da absorção do Ca^{2+} constituem os processos bioquímicos mais estudados, cujas deficiências causam significativos problemas de saúde (Hoenderop et al., 2002). A absorção intestinal é um sistema de controle crucial na

regulação da homeostase de Ca^{2+} , pois executa a entrada do cálcio ingerido no compartimento extracelular (Bronner & Pansu, 1999). O intestino delgado constitui a maior parte do trato gastrintestinal e é composto do duodeno, do jejuno, e do íleo. O intestino grosso é uma continuação do intestino delgado no trato digestivo e consiste no ceco, no cólon e no reto (Bushinsky, 1999; Bushinsky, 2001).

O Ca^{2+} é absorvido por dois mecanismos distintos, incluindo o transporte passivo (transcelular) e ativo (paracelular), cujos graus de importância são ajustados pelos níveis de Ca^{2+} ingerido (Bronner et al., 1986; Peng et al., 1999; Hoenderop et al., 1999b). A absorção intestinal pelo mecanismo paracelular insaturável é predominante quando a dieta é repleta em cálcio, e pelo mecanismo transcelular saturável dependente da vitamina D, quando a ingestão de cálcio é limitada (Simon et al., 1999; Weinstein & Windhager, 2001).

A absorção de Ca^{2+} transcelular ativa é situada, na maior parte, no duodeno e no jejuno, enquanto a absorção paracelular ocorre em todo intestino. Aproximadamente 90% da absorção de cálcio ocorrem no intestino delgado, enquanto os 10% restantes ocorrem no ceco e no cólon (Lajeunesse et al., 1994).

O mecanismo de transporte paracelular intestinal consiste na difusão das moléculas e dos íons pequenos através dos estreitos espaços intercelulares do epitélio intestinal (Morita et al., 1999). O epitélio consiste em uma camada contínua de células individuais, cuja função fundamental é separar compartimentos diferentes dentro do organismo e regular a troca das substâncias entre eles (Tsukita & Furesu, 2000; Tang & Goodenough, 2003). Dependendo das exigências funcionais de um trecho epitelial específico, o fluxo paracelular de solutos é regulado pelas junções íntimas, que constituem uma barreira à passagem livre dos íons e das moléculas pelo transporte paracelular (Wong & Goodenough, 1999).

As junções íntimas são áreas especializadas da membrana plasmática da região apical de células epiteliais, que criam não somente uma barreira preliminar para impedir o livre transporte paracelular dos solutos, mas restringem também a difusão lateral de lipídios, proteínas e outras macromoléculas (Anderson, 2001). Estas estruturas intercelulares consistem em disposições lineares das proteínas integrantes da membrana, permitindo que células epiteliais adjacentes entrem em contato muito próximo (Gonzalez-Mariscal et al., 2003). Recentemente, mostrou-se que as junções íntimas manifestam as propriedades biofísicas dos canais iônicos da membrana plasmática, como a seletividade pelo tamanho molecular, a permeabilidade parcial regulada pela concentração do soluto e a sensibilidade ao pH (Martin-Padura et al., 1998).

O movimento dos íons através das junções íntimas é um processo passivo que depende, sobretudo do gradiente de concentração dos íons permeáveis e do gradiente eletroquímico do epitélio. Os hormônios e os fatores que afetam o gradiente eletroquímico das células epiteliais influenciam, conseqüentemente, os fluxos passivos através das junções íntimas de forma indireta. Desta forma, a permeabilidade própria das junções íntimas é regulada dinamicamente pelas várias circunstâncias fisiológicas (Ebnet et al., 2003).

O processo de absorção transcelular intestinal de Ca^{2+} pode ser descrito em três etapas celulares seqüenciais: entrada, difusão intracelular, e extrusão. O Ca^{2+} do lúmen intestinal entra no enterócito através das microvilosidades da membrana apical por intermédio de um mecanismo de difusão facilitada, que consiste em um canal epitelial de cálcio (ECaC) (Witcher et al., 1993; Yu et al., 1995). As proteínas de ligação ao cálcio dependentes de vitamina D, também denominadas calbindinas D (CaBP-D), são responsáveis pela difusão intracelular de Ca^{2+} no tecido epitelial

intestinal (Fleet et al., 1996; Fixemer et al., 2003). A extrusão do Ca^{2+} do enterócito ocorre majoritariamente pelos mecanismos de transporte ativo. A enzima cálcio adenosina trifosfatase da membrana plasmática (Ca^{2+} -ATPase ou PMCA) utiliza a energia da quebra da ligação com o fosfato inorgânico para lançar o Ca^{2+} intracelular no fluido extracelular. Além desse mecanismo, observa-se, em menor grau, a função da sódio-cálcio adenosina trifosfatase ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -ATPase ou NCX) que realiza o contra-transporte de íons Na^+ e Ca^{2+} na membrana basolateral do epitélio intestinal (Friedman et al., 1996; Fleet & Wood, 1999; Fleet et al., 2002). Estudos em diversos modelos animais mostraram que a $\text{CaBP-D}_{9\text{KDa}}$ e a PMCA são mais ativas nas células do duodeno proximal, diminuindo gradualmente até o fim do intestino delgado e demonstrando dependência da vitamina D (Giuliano & Wood, 1991; Hoenderop et al., 1999a).

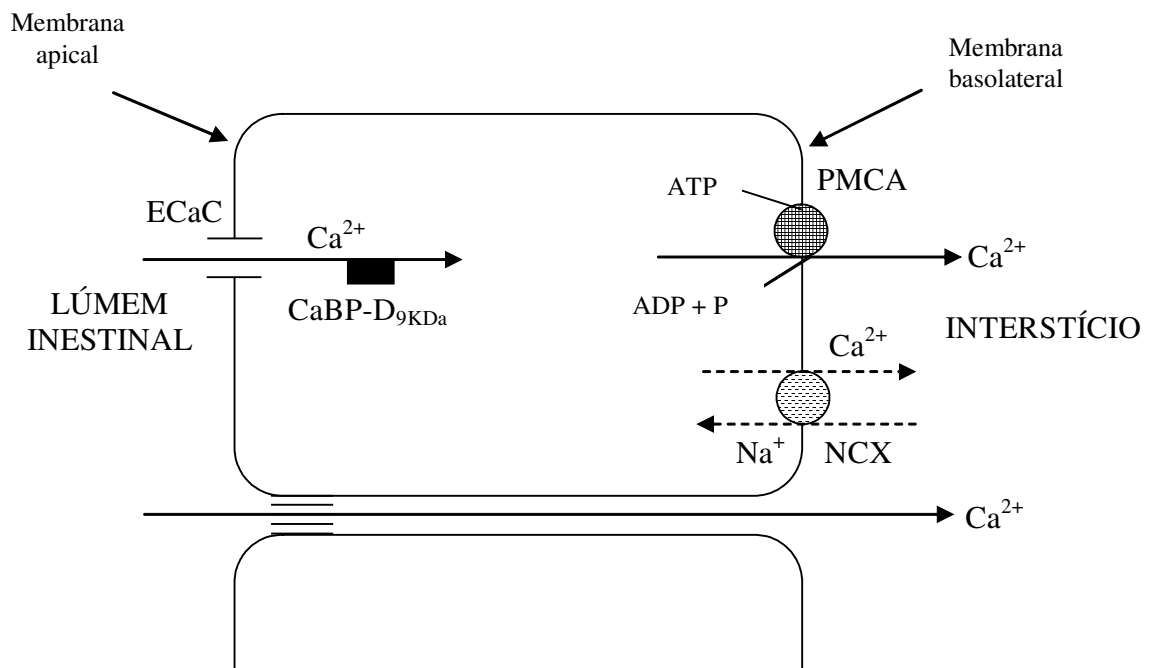


Figura 7 – A absorção de cálcio pelo epitélio intestinal ocorre por via paracelular e transcelular. O Ca^{2+} entra no enterócito através do canal epitelial de cálcio (ECaC), sendo transportado pela calbindina D ($\text{CaBP-D}_{9\text{KDa}}$). A saída do Ca^{2+} através da membrana basolateral ocorre pela ação das enzimas de membrana Ca^{2+} -ATPase (PMCA) e Na^+ - Ca^{2+} -ATPase (NCX).

A contribuição do estômago para o processo de absorção de Ca^{2+} no trato gastrointestinal foi explicada a partir de estudos *in vivo* e *in vitro* em ruminantes, ainda que o papel desse órgão não fosse considerado significativo no que diz respeito à fisiologia do Ca^{2+} . As taxas do fluxo de Ca^{2+} pelo epitélio do rúmen de carneiros foram medidas *in vitro* na ausência de gradientes eletroquímicos. As taxas de fluxo medidas foram significativas, sugerindo a presença de mecanismos ativos para o transporte de Ca^{2+} . A expressão do ECaC foi constatada predominantemente nos segmentos superiores das glândulas gástricas, quando comparadas aos fragmentos inferiores (Hoenderop et al., 1999b; Nijenhuis et al., 2003). A função do ECaC no epitélio estomacal também está relacionada à manutenção da concentração de Ca^{2+} intracelular após a secreção do muco das glândulas gástricas. Foi observado um mecanismo de transporte ativo na membrana apical do epitélio gástrico dos ruminantes, que consiste na $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -ATPase, independente do controle da 1,25-(OH) $_2$ D, cuja função específica ainda não foi determinada. A extrusão basolateral de Ca^{2+} ocorre em função da atividade da PMCA e da NCX (Schroeder et al., 1999; Zhuang et al., 2002).

1.6.2 – Fisiologia renal do cálcio

O processo fisiológico renal de Ca^{2+} foi assunto de extensa investigação clínica nos últimos anos. Os rins têm uma função essencial na manutenção da homeostase de Ca^{2+} , regulando sua excreção. Em uma base diária, 10g de Ca^{2+} são filtrados nos glomérulos, dos quais apenas 2g são excretados na urina. Conseqüentemente, o Ca^{2+} filtrado é absorvido extensivamente enquanto passa pelos segmentos individuais do néfron: túbulo proximal (TPX), alça de Henle (ALH),

túbulo contorcido distal (TCD), túbulo coletor cortical (TCC) e ducto coletor (DCC) (Larsson & Nemere, 2002).

O túbulo proximal é responsável pela reabsorção de aproximadamente 70% da quantidade de Ca^{2+} filtrado. Análises fisiológicas mostraram que o transporte de Ca^{2+} ao longo do túbulo proximal ocorre essencialmente como um processo paralelo à reabsorção de Na^+ e água. Desta forma, a passagem de Ca^{2+} do lúmen tubular para o interstício é um processo energeticamente passivo e ocorre pela via paracelular (Suki, 1979; Garcia et al., 1998; Ba et al., 2003).

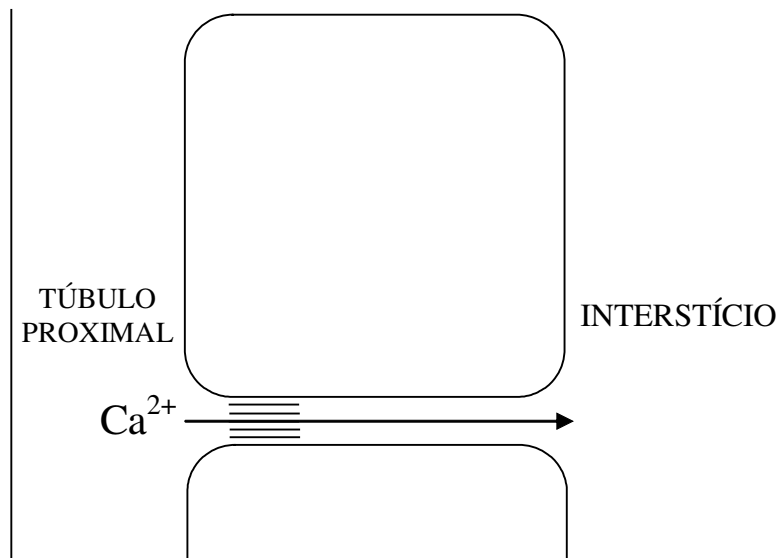


Figura 8 – No túbulo proximal, a maior parte do cálcio filtrado nos glomérulos é reabsorvida por mecanismo paracelular passivo, em processo análogo ao do sódio.

A alça de Henle é composta pelo ramo ascendente delgado, pelo ramo descendente delgado e pelo ramo ascendente espesso. Aproximadamente 20% do Ca^{2+} filtrado nos glomérulos são absorvidos na alça de Henle. Nos ramos delgados a permeabilidade do epitélio tubular é muito baixa, de forma que nestes segmentos não há reabsorção significativa de Ca^{2+} . Desta forma, a reabsorção de Ca^{2+} na alça de Henle é executada completamente no ramo ascendente espesso, tanto por transporte paracelular passivo quanto por transporte transcelular ativo. Nesse segmento, o mecanismo de transporte paralelo de Na^+ , K^+ e 2Cl^- (NKCC2) dá margem à formação

de um potencial elétrico, carregando positivamente o lúmen tubular e criando uma força elétrica que direciona o Ca^{2+} para o interstício pela via paracelular ou pelo ECaC (Gamba et al., 1994; Haas & Forbush, 1998). O funcionamento do NKCC2 é viabilizado pelas baixas concentrações intracelulares de Na^+ e Cl^- , garantidas pela atividade na Na^+/K^+ -ATPase e pelo canal de cloreto (CLC), e pela presença de K^+ no lúmen tubular, garantida pelo canal de potássio da membrana celular (ROMK) (Yu, 2001). A extrusão do Ca^{2+} da célula para o interstício é realizada através da PMCA e do NCX (Pearce, 1998; Scheinman et al, 1999). O receptor sensível ao cálcio (CaSR) presente na alça de Henle é responsável pelo monitoramento na concentração extracelular de Ca^{2+} e pela regulação da reabsorção tubular deste mineral. Na presença de níveis elevados de Ca^{2+} extracelular o CaSR induz a redução dos níveis de adenosina monofosfato cíclica (cAMP), limitando a ativação do NKCC2, e ativa a fosfolipase A2, inibindo tanto o NKCC2 quanto o ROMK (Larsson & Nemere, 2002).

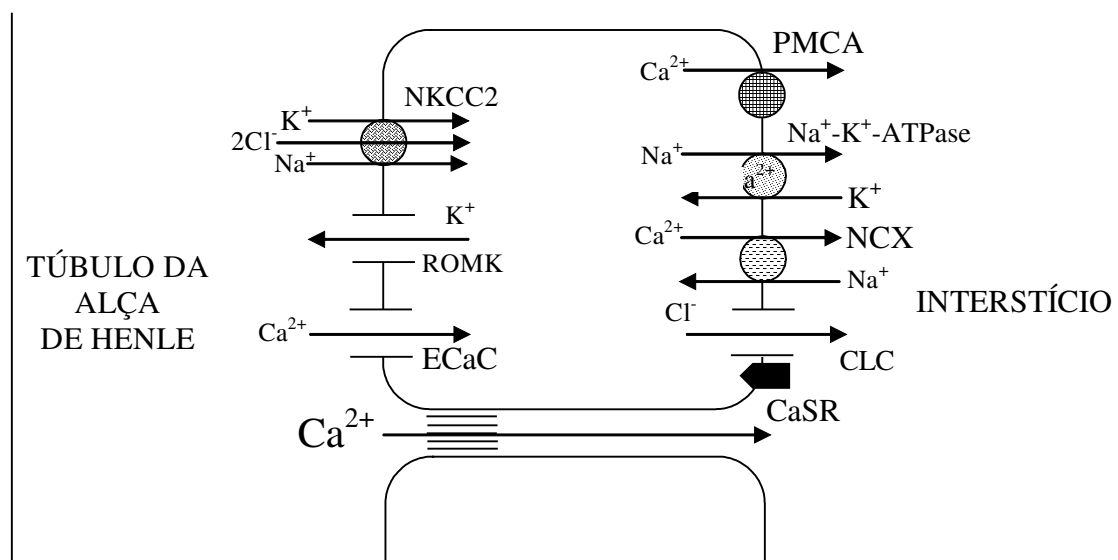


Figura 9 – O ramo ascendente espesso é responsável por toda a reabsorção de cálcio na alça de Henle. Os mecanismos paracelular e transcelular são viabilizados pela diferença de potencial elétrico entre o lúmen tubular e o citoplasma, criada pela ação de NKCC2, ROMK, Na^+/K^+ -ATPase e CLC e regulada pelo CaSR. A saída do cálcio da célula para o interstício ocorre pela ação da PMCA e da NCX.

No túbulo contornado distal e no túbulo coletor cortical, aproximadamente 8% do Ca^{2+} filtrado são reabsorvidos por mecanismo ativo de transporte transcelular,

tendo em vista que as junções celulares são quase completamente impermeáveis ao Ca^{2+} neste segmento renal (Hoenderop et al., 2002). Como no epitélio intestinal, o Ca^{2+} entra na célula através do ECaC e se liga à calbindina D (CaBP-D) para ser transportado no interior da célula em direção ao interstício (Koster et al., 1995). A extrusão basolateral do Ca^{2+} é mediada pelos mecanismos da PMCA e NCX, responsáveis por 30% e 70% do transporte de Ca^{2+} para o interstício nesse segmento renal (Reilly & Ellison, 2000; Magyar et al., 2002).

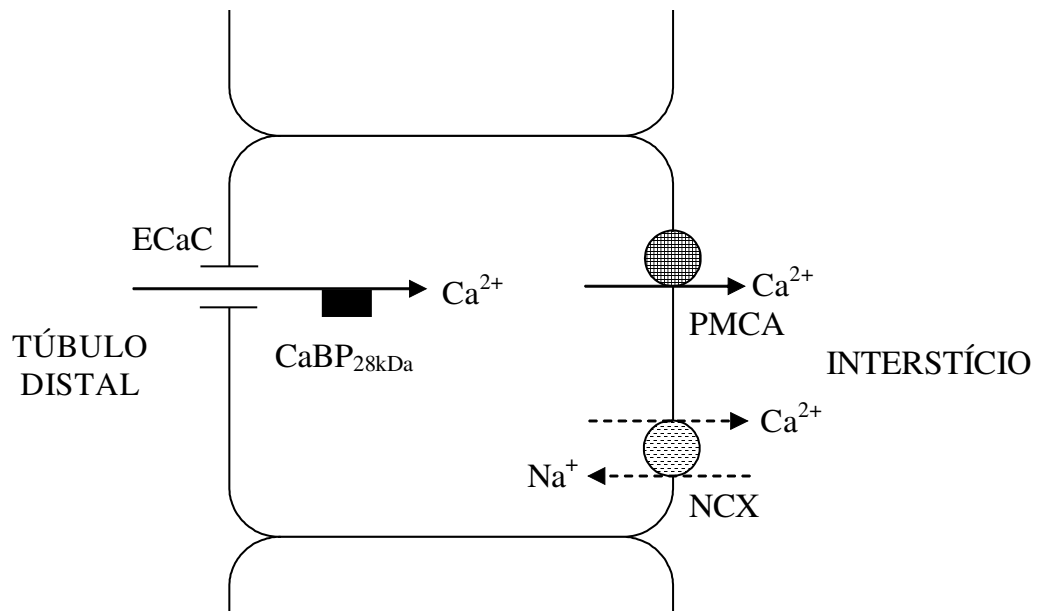


Figura 10 – A reabsorção de cálcio nos túbulos distais (TCD e TCC) apresenta mecanismo análogo ao da absorção intestinal. O cálcio é absorvido pelo ECaC e transportado no interior da célula pro CaBP-D_{28kDa}. A extrusão do Ca^{2+} é realizada pela PMCA e pela NCX.

O ducto coletor é o último segmento do néfron e tem como funções principais a reabsorção de água e a acidificação da urina. Estudos de análise fisiológica mostraram que aproximadamente 2% do Ca^{2+} total filtrado são reabsorvidos no ducto coletor. Foi observado que o transporte de Ca^{2+} ocorre contra o gradiente de concentração e não é inviabilizado em ausência de água, caracterizando, portanto, um mecanismo de transporte ativo transcelular, cujos mecanismos específicos não foram

determinados, ainda que sua estrutura deva ser semelhante a do transporte ativo transcelular do túbulo contornado distal e do túbulo coletor cortical (Shimzu et al., 1990; Schulze et al., 2002).

1.6.3 – Fisiologia óssea do cálcio

O osso tem como função principal o armazenamento de Ca^{2+} , exercendo importante papel como regulador em sua homeostase. Os processos ósseos de incorporação e extrusão de Ca^{2+} são relativamente lentos para causarem respostas rápidas na concentração extracelular deste mineral, mas podem influenciá-la a médio e longo prazo (Pietschmann et al., 1992). Os processos de absorção e redistribuição de Ca^{2+} são regulados por células ósseas específicas como os osteoblastos e os osteoclastos, cujos mecanismos não foram completamente sistematizados a nível molecular (Jaeger et al., 1994).

Os osteoblastos são capazes de formar uma camada de Ca^{2+} nos ossos que é posteriormente cristalizada, passando a integrar a estrutura óssea. A atividade dos osteoblastos na mineralização óssea sugere um processo celular de transporte ativo de Ca^{2+} (Giannini et al., 1998).

Os osteoclastos são células que possuem a capacidade de responder a mudanças na concentração sérica de Ca^{2+} promovendo a saída deste mineral dos ossos para o fluido extracelular. Diversos estudos relataram a expressão de CaBP- $\text{D}_{9\text{kDa}}$ no citoplasma de células osteoblásticas de ratos e de humanos (Misael da Silva et al., 2002; Tasca et al., 2002).

I.7 – MECANISMOS DE REGULAÇÃO DA HOMEOSTASE DE CÁLCIO

O processo de regulação da homeostase de cálcio envolve o controle do fluxo de cálcio entre o fluido extracelular e órgãos como intestino, rins e ossos. Esse controle é realizado por diferentes e complexos mecanismos bioquímicos, dos quais se destaca a ação do hormônio da paratireóide, dos metabólitos da vitamina D e da calcitonina. A manutenção da concentração extracelular de cálcio dentro de limites com pouca variação (8,5-10,5mg/dL) é essencial para garantir o desempenho perfeito do cálcio em todas as funções orgânicas em que este mineral está envolvido. O estudo dos principais mecanismos que mantêm a concentração de cálcio extracelular dentro da normalidade é, portanto, fundamental para tentar compreender os desequilíbrios que podem comprometer a homeostase de cálcio (Sparano et al., 1995).

1.7.1 – Hormônio da paratireóide (PTH)

O hormônio da paratireóide (PTH), é um polipeptídeo de cadeia única, composto de 84 aminoácidos e produzido nas células da paratireóide, cuja atividade biológica reside na região que corresponde a uma seqüência de 34 aminoácidos. Sua secreção é controlada pela concentração de cálcio no plasma; quando a concentração diminui, a paratireóide é estimulada para aumentar a produção de PTH, por mecanismo de *feedback* negativo (Guthrie & Yucha, 2003). Os receptores sensíveis ao cálcio (CaSR) – pertencentes à mesma subfamília do receptor de ácido glutâmico, receptores de feromônio e receptores gustativos – regulam este mecanismo na paratireóide em um curto espaço de tempo, através de um mecanismo de adenosina monofosfato cíclica (Houillier et al., 2001; Miyashiro & Hauache, 2002).

O CaSR possui 1078 aminoácidos e faz ligação com Ca^{2+} e Mg^{2+} . Este receptor tem sete sítios de transporte pela membrana e sítios de ligação ativados através de uma proteína G, que serve como um sinalizador inicial de ligação com o Ca^{2+} . O gene codificador do CaSR está localizado no cromossomo 3q21-q24. Após a ligação do Ca^{2+} ao seu receptor (na subunidade da proteína-G) a glândula paratireóide estimula a produção e secreção do PTH (Root, 2000). As mutações no gene codificador do CaSR podem ser inativadoras ou ativadoras. Foram descritas mais de 35 mutações inativadoras do gene, muitas das quais ocorrem no longo domínio extracelular do CaSR. As alterações inativadoras homozigóticas causam Hipercalcemia Hipocalciúrica Familiar (FHH) e as heterozigóticas Hiperparatireoidismo Neonatal Severo (NSHPT). As alterações ativadoras causam, por mecanismos opostos, a Hipocalcemia Autossômica Dominante, caracterizada por quadros clínicos de hipocalcemia e hipercalcúria (Rodriguez-Soriano et al., 2001; Miyashiro & Hauache, 2002; Vezzoli et al., 2002).

As ações biológicas do PTH incluem o estímulo à liberação de cálcio e fosfato dos ossos, estímulo à reabsorção de cálcio nos túbulos renais e aumento da produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ nos rins. Dados de alguns estudos experimentais sugeriram que a ação renal do PTH se deve a sua capacidade de regular a inserção de ECaC nas membranas apicais do epitélio tubular renal e a abertura dos canais de cloreto na membrana basolateral, criando uma hiperpolarização celular e modulando a atividade da PMCA. Nos ossos, o PTH induz a rápida liberação de cálcio dos ossos, agindo diretamente na inibição dos osteoblastos, que secretam substâncias capazes de ativar a produção e a atividade dos osteoclastos (Rodriguez-Soriano et al., 2001).

1.7.2 – Metabólitos da vitamina D

A vitamina D é formada pela ação de raios ultravioleta na pele exposta ao sol, que converte 7-desidrocolesterol em colecalciferol (vitamina D₃). Uma forma alternativa da vitamina D (ergocalciferol) também pode ser obtida através de ingestão. Tanto o colecalciferol quanto o ergocalciferol são metabolizados da mesma forma no fígado para serem transformados em 25-hidroxicolecalciferol pela ação da 25-hidroxilase. A quantificação de 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD) é importante para a mensuração do *status* de vitamina D. A 25-OHD é, então, convertida na mitocôndria das células renais, através da 1- α -hidroxilase, para a forma ativa 1- α ,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D ou calcitriol). Os dois principais estimulantes da enzima 1- α -hidroxilase são o PTH e o estado de hipofosfatemia (Sahota & Hosking, 1999).

A produção de 1,25(OH)₂D nas células do epitélio renal é dependente da concentração de cálcio no fluido extracelular. A principal função da 1,25(OH)₂D é estimular a absorção gastrointestinal de cálcio, através do aumento de transporte celular de cálcio. A ação da 1,25(OH)₂D se deve, em grande parte, a sua interação com o receptor de vitamina D (VDR), presente nas células epiteliais intestinais e renais, para dar início à transcrição genética de proteínas que executam ou regulam o transporte de cálcio (Vezzoli et al., 2002).

O principal grupo de proteínas sintetizado pela 1,25(OH)₂D é o das proteínas de ligação ao cálcio reguladas por vitamina D (calbindinas D). Essas proteínas existem em duas formas – calbindina_{9kDa} (CaBP-D_{9kDa}) e calbindina_{28kDa} (CaBP-D_{28kDa}) – que diferem entre si pelo peso molecular. Tanto a primeira forma, presente principalmente no epitélio gastrointestinal, quanto a segunda, mais comum nas células

do epitélio renal, estão envolvidas no transporte de cálcio no interior das células epiteliais. Estudos experimentais mostraram que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ regula a função dos mecanismos de transporte da membrana apical e basolateral (ECaC, PMCA e NCX), mas as interações bioquímicas específicas que levam a esta regulação ainda não foram completamente explicadas. Nos ossos, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ estimula, através da mediação da fosfatase alcalina, a incorporação do cálcio à estrutura óssea (Houillier et al., 2001).

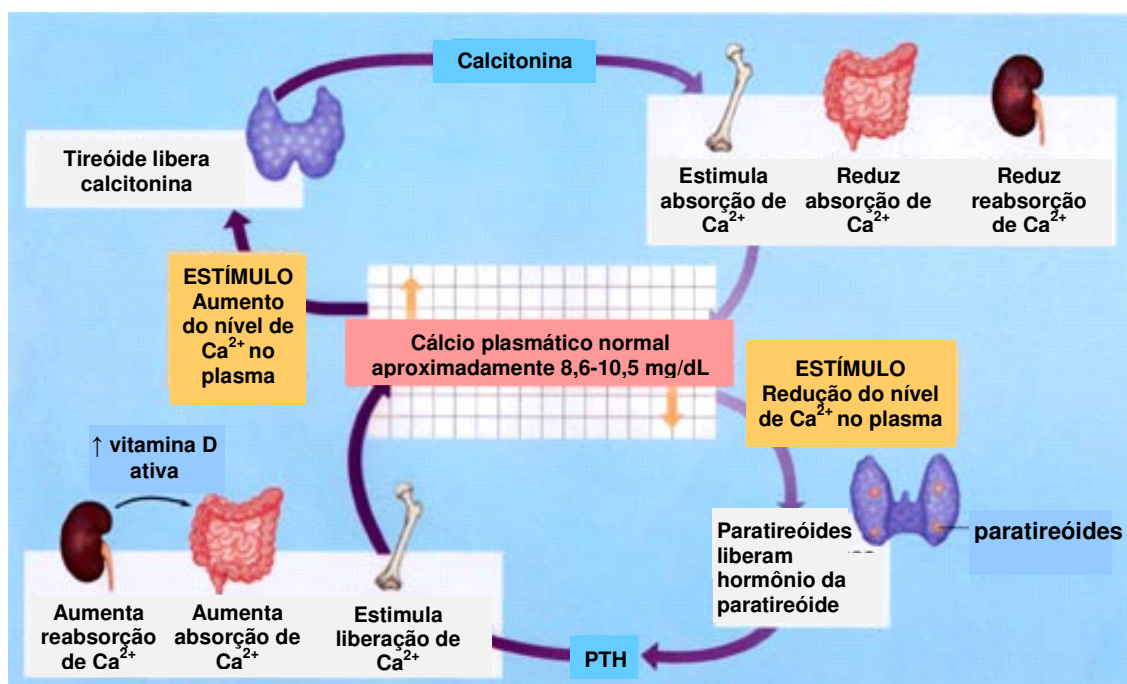


Figura 11 – A manutenção da concentração de cálcio circulante envolve a ação coordenada de diferentes substâncias, das quais se destacam o hormônio da paratireóide (PTH) a vitamina D ativa ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) e a calcitonina. Esses são os principais mecanismos que regulam a circulação de cálcio no corpo através de ações específicas no intestino, rins e ossos.

1.7.3 – Calcitonina

A calcitonina é um peptídeo de 32 aminoácidos sintetizado nas células parafoliculares da glândula tireóide e sua secreção ocorre em resposta ao aumento da concentração de cálcio extracelular. Os mecanismos bioquímicos e fisiológicos da ação da calcitonina nos diferentes sítios de regulação do metabolismo de cálcio ainda não foram explicados. As observações clínicas e experimentais mostraram apenas

que a calcitonina é capaz de inibir a atividade osteoclástica, auxiliando na incorporação de cálcio à matriz óssea. No intestino, a calcitonina reduz a absorção de cálcio e nos rins causa a redução da reabsorção tubular de cálcio e a inibição da produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Miyashiro & Hauache, 2002).

I.8 – CÁLCIO URINÁRIO: FUNDAMENTOS E PATOLOGIAS

A regulação metabólica de uma substância envolve vários processos, que incluem sua excreção para a manutenção da concentração necessária para garantir a homeostase do organismo. O cálcio urinário representa, desta forma, o último passo para a regulação da homeostase de cálcio no organismo. Sua utilização como parâmetro clínico é justificada também por sua capacidade de refletir distúrbios que alterem os processos metabólicos relacionados a sua regulação (Albright et al., 1953; Levy et al., 1995).

A identificação dos distúrbios ligados à excreção urinária de cálcio é uma ferramenta muito útil no estudo de patologias. Desequilíbrios na concentração de cálcio urinário podem refletir, do ponto de vista etiológico, distúrbios no trato gastrointestinal, doenças renais, anormalidades metabólicas, aberrações genéticas ou mesmo incorreções nutricionais. As duas principais patologias ligadas ao cálcio urinário se referem a sua excreção ínfima (hipocalciúria) ou a sua excreção excessiva (hipercalciúria). Ambos os estados patológicos podem constituir causas para o aparecimento de outras doenças (Kalia et al., 1981; Ljunghall, 1987; Stapleton et al., 1987).

A hipocalciúria tem sido pouco estudada em função das limitações na sistematização de suas características clínicas do ponto de vista laboratorial. A determinação de um valor de referência mínimo para uma substância em uma

população consiste, geralmente, em subtrair da média calculada na população estudada o dobro do desvio-padrão. No caso específico do cálcio urinário, esse valor mínimo é geralmente negativo, não podendo ser utilizado na prática laboratorial. Além disso, a escassa literatura biomédica acerca da hipocalciúria não descreve patologias causadas diretamente por este quadro clínico (Bianchetti et al., 2003).

A hipercalciúria, por outro lado, tem se tornado crescentemente objeto de pesquisas clínicas e epidemiológicas. O interesse por essa patologia se deve sobretudo a suas associações, algumas vezes causais, com outras patologias, especialmente aquelas relacionadas ao aparelho urinário. A preocupação específica com a hipercalciúria infantil está relacionada a possibilidade de comprometimento também da estrutura óssea (Roy et al., 1981; Alon et al., 1990).

1.8.1 – Hipercalciúria: etiologia e diagnóstico

O termo hipercalciúria idiopática foi proposto inicialmente em 1953 para descrever a associação entre a excreção elevada de cálcio na urina com os níveis normais de cálcio em sangue em pacientes com nefrolitíase. O interesse na patogênese e no tratamento da hipercalciúria idiopática é explicado pelo fato de que esta anormalidade é muito comum em humanos, estando presente em aproximadamente 60% dos pacientes com cálculo renal. O impacto social da hipercalciúria está relacionado à observação de que o risco de mortalidade para pacientes com formação de cálculos renais é estimado em 20% para homens e 15% para mulheres. A hipercalciúria parece ter um papel similar em casos de nefrolitíase infantil, estando presente em quase metade das crianças nefrolíticas (Fivush, 1990; Levy et al., 1995).

Em 1981, dois estudos relataram simultaneamente uma associação entre hipercalcúria e hematúria na ausência de nefrolitíase diagnosticável em crianças que posteriormente desenvolveram a formação de cristais de oxalato de cálcio na urina. Outros dados mostram que pode haver relação entre hipercalcúria e disúria, enurese, dor abdominal e dorsal, e infecções no trato urinário. Recentemente, muitas pesquisas têm se dedicado a relacionar potenciais efeitos da hipercalcúria na densidade óssea e no aparecimento de osteoporose, frente aos relatos de diminuição de massa óssea em adultos e crianças com hipercalcúria (Levy et al., 1995; Lopez et al., 1999).

A hipercalcúria pode ocorrer em função de uma alteração no metabolismo de cálcio no intestino, nos rins, nos ossos ou, mais freqüentemente, nos três órgãos simultaneamente. Deficiências ou anomalias genéticas ligadas à produção, secreção e regulação hormonal podem ser causas de alteração no controle metabólico de cálcio, resultando em um quadro de hipercalcúria. Entre essas deficiências estão hiperparatiroidismo, hipertiroidismo e mutações nos genes que codificam o receptor sensível de cálcio (CaSR), o canal epitelial de cálcio (ECaC), a Ca^{2+} -ATPase da membrana plasmática (PMCA) e o mecanismo de contra-transporte de sódio e cálcio (NCX). Além disso, um grau elevado de exposição ao sol pode aumentar a produção de vitamina D, aumentando a absorção intestinal de cálcio e levando, possivelmente, à hipercalcúria (Rodriguez Fernandez et al., 1997; Leon et al., 1999; Yanes et al., 2005).

Fatores nutricionais como a ingestão excessiva de cálcio e sódio ou a deficiência de fosfato e potássio se mostraram capazes de causar direta e indiretamente hipercalcúria. No caso do sódio, por exemplo, a reabsorção do cálcio no túbulo proximal é diminuída pois a via paracelular de transporte de íons é

saturada pelas altas concentrações de sódio. A condição de deficiência de fosfato, por outro lado, induz indiretamente a hipercalcúria, aumentando a produção da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. É importante observar que os mecanismos capazes de causar esta patologia não são isolados. Assim como a regulação do cálcio é complexa, o desequilíbrio em sua homeostase causa uma série de alterações. A ausência de evidências clínicas diretas, como alterações na alimentação ou nos níveis de hormônio da paratireóide e de vitamina D, que permitam a identificação da causa provável da hipercalcúria leva a sua classificação como idiopática (Leon et al., 1999; Audran & Legrand, 2000; Allgrove, 2003; Liebman et al., 2006).

Na prática clínica atual, considera-se o limite máximo da excreção normal de cálcio e, portanto, o valor de referência para o diagnóstico de hipercalcúria 4mg/kg/dia de cálcio em urina de 24 horas (24hCa-U), independentemente da idade do paciente (Rodriguez Fernandez et al., 1997; Alconcher et al., 1997; Rodriguez et al., 1999; Penido et al., 2001). A legitimidade deste valor é baseada sobretudo em um estudo conduzido por *Ghazali & Barratt* (1974) em 54 indivíduos normais com idades variando de 1 a 15 anos, cuja média de cálcio urinário foi $2,38 \pm 0,66\text{mg/kg/dia}$. A determinação da regressão do logaritmo de 24hCa-U e do logaritmo do peso revelou a possibilidade de relacionar estas variáveis. O valor máximo de 24hCa-U calculado se refere à soma da média com o dobro do desvio-padrão.

As diretrizes propostas por *Ghazali & Barratt* (1974) tem sido utilizadas até hoje, ainda que estudos subseqüentes tenham relatado diferentes valores médios de 24hCa-U. Estes estudos também mostraram uma diminuição da excreção urinária de cálcio em função do aumento da idade. *Manz et al.* (1999) relataram a excreção de cálcio in 507 crianças e adolescentes alemães com idades entre 3 e 18 anos. Foi

criado um banco de dados para cada uma das idades, mostrando que o valor médio do 24hCa-U variou de $2,42 \pm 1,50$ mg/kg/dia para $1,52 \pm 1,10$ mg/kg/dia e que, em 15 dos 16 grupos analisados, a excreção de cálcio foi menor do que a relatada por *Ghazali & Barratt* (1974). No total, 8,6% das amostras apresentaram 24hCa-U maior do que 4mg/kg/dia, mas só 5,8% dos adolescentes tinham diagnóstico de hipercalciúria se comparados aos 18,8% das crianças menores que 13 anos. Não foram encontradas diferenças significativas entre os sexos, exceto para o grupo de 11 anos de idade, o que foi atribuído às diferenças metabólicas da puberdade. Resultados similares foram obtidos por *De Santo et al.* (1992) em 220 crianças italianas das quais 9,1% apresentaram 24hCa-U superior a 4mg/kg/dia sem diferenças entre meninos e meninas.

Alconcher et al. (1997) estudaram 200 crianças argentinas entre 6 e 13 anos de idade. A média de 24hCa-U foi $2,05 \pm 1,40$ mg/kg/dia, um valor menor do que os relatados em outros estudos. A idade se apresentou como um determinante na excreção de cálcio, mostrando valores significativamente mais altos no grupo de crianças entre 6 e 9 anos em comparação ao grupo de 10 a 13 anos. A excreção de cálcio excedeu 4mg/kg/dia em 12,7% das crianças. A média de 24hCa-U foi $2,34 \pm 1,47$ mg/kg/dia para meninos e $1,70 \pm 1,24$ mg/kg/dia em meninas, revelando uma diferença evidente entre os sexos.

Chen et al. (1994) relataram um 24hCa-U médio de $2,06 \pm 1,21$ mg/kg/dia em 125 crianças taiwanesas divididas entre três grupos de idade. Diferentemente dos outros estudos, não foi relatada diminuição significativa de cálcio urinário com o aumento da idade, mas sim um valor médio de 24hCa-U no grupo de crianças mais velhas (15-18 anos).

Sweid et al. (1997) conduziram um estudo com 258 crianças do norte da Índia. A excreção de cálcio média encontrada na população foi 0,7mg/kg/dia. Não foram relatadas diferenças entre idade ou sexo e a baixa excreção de cálcio foi atribuída, pelos autores, à baixa ingestão de cálcio (200-400mg/dia).

Pronicka et al. (1997) compararam a excreção urinária de cálcio entre 17 crianças com níveis elevados de cálcio plasmático (hipercalcemia) e 10 crianças saudáveis, encontrando os valores médios de $4,68 \pm 2,80$ mg/kg/dia e $1,88 \pm 1,16$ mg/kg/dia, respectivamente. Em 10 dos 17 casos de hipercalcemia o valor de 24hCa-U foi superior a 4mg/kg/dia. Foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo estudado e o grupo de controle. *Penido et al.* (2001) relataram o acompanhamento de 471 casos de crianças e adolescentes brasileiros com 24hCa-U superior a 4mg/kg/dia e correlacionaram a hipercalciúria com alterações como urolitíase em 56%, hiperuricosúria em 18,5% e hipocitratúria em 8,5% dos casos acompanhados.

Estudos mostraram que a etnia também desempenhou a função de um determinante na excreção urinária de cálcio. *Bell et al.* (1993) determinaram o 24hCa-U em 18 crianças brancas saudáveis e 15 crianças negras saudáveis, desconsiderando o peso, e encontrou os valores médios 84 ± 11 mg/dia e 165 ± 18 mg/dia, respectivamente, que mostraram uma diferença significativa ($p < 0,001$).

Os dados dos diversos estudos mostram que a excreção urinária de cálcio em urina de 24 horas pode ser influenciada por fatores como idade e etnia. Além disso, *Sweid et al.* (1997) identificou variação no 24hCa-U em função da ingestão de cálcio, estimando um aumento na excreção de cálcio de aproximadamente 7% do excedente ingerido.

O 24hCa-U continua, entretanto, sendo utilizado em razão de sua especificidade e sensibilidade para a análise da excreção urinária de cálcio e para o diagnóstico de hipercalciúria, mas muitos pesquisadores têm utilizado a razão cálcio/creatinina (Ca/Cr) em amostra de urina isolada, tendo em vista a dificuldade de obter amostras confiáveis de urina de 24 horas em crianças (Sweid et al., 1997; Penido et al., 2001).

1.8.2 – Razão cálcio/creatinina em urina: concepções teóricas e limitações práticas

O uso da razão cálcio/creatinina em urina (Ca/Cr) como medida da excreção urinária de cálcio foi proposto por *Nordin* (1959), baseado nos dados de seu estudo com 71 indivíduos saudáveis, que apresentaram Ca/Cr variando entre 0,02mg/mg e 0,26mg/mg. O valor médio encontrado deste parâmetro foi $0,147 \pm 0,065$ mg/mg e sua correlação com 24hCa-U foi boa ($r=0,75$). *Nordin* (1959) observou que a dieta tinha pouco efeito sobre os valores de Ca/Cr.

O primeiro estudo com o objetivo de estabelecer dados normativos sobre a Ca/Cr em crianças saudáveis foi publicado no Reino Unido por *Ghazali & Barratt* em 1974. A média de Ca/Cr encontrada foi $0,14 \pm 0,06$ mg/mg, muito similar aos dados encontrados em adultos. Não foram encontradas variações significativas entre sexo e idade nas 60 amostras analisadas. Além de examinar a relação entre a excreção urinária de cálcio e peso, foi realizada uma comparação entre 24hCa-U e Ca/Cr obtida em segunda urina matinal com o paciente em jejum, para a qual se observou uma forte correlação positiva ($r=0,88$).

Ainda que *Alconcher et al.* (1997) não tenham encontrado correlação entre 24hCa-U e Ca/Cr ($r=0,18$), extensivos estudos demonstraram que a Ca/Cr é sensível

e específica para diagnosticar hipercalciúria, podendo ser utilizada em substituição a 24hCa-U (Butani e Kalia, 2004). *Penido et al.* (2001) compararam a Ca/Cr de um grupo de pacientes com hipercalciúria diagnosticada através de 24hCa-U com um grupo controle e encontraram diferença significativa ($p < 0,001$) entre os valores médios de Ca/Cr nesses grupos (0,33mg/mg e 0,11mg/mg, respectivamente). *Mir & Serdaroglu* (2005) encontraram correlação positiva e significativa entre 24hCa-U e Ca/Cr ($r = 0,67$; $p < 0,001$) de 215 crianças turcas em seu estudo.

Embora *Ghazali & Barrat* (1974) não tenham encontrado variações na Ca/Cr em função de idade ou sexo, estudos subseqüentes encontraram diferenças clínicas significativas na excreção urinária de cálcio de crianças de diferentes idades. No estudo conduzido nos Estados Unidos, com 184 crianças e adolescentes e 31 adultos, *Sargent et al.* (1993) concluíram que a Ca/Cr é mais elevada em crianças mais novas do que em adolescentes e adultos ($p < 0,0001$), com os valores médios e do percentil 95 diminuindo de 0,24mg/mg e 0,86mg/mg nas crianças mais novas para 0,10mg/mg e 0,22mg/mg em adultos. *Matos et al.* (1997) encontram resultados similares em 410 crianças suíças, mostrando que o percentil 95 de Ca/Cr diminuía com o aumento a idade até alcançar o valor de 0,25mg/mg aos 7 anos de idade, onde permanecia durante a idade adulta. No estudo iraniano com 990 crianças, *Safarinejad* (2003) encontrou um valor médio de Ca/Cr de $0,04 \pm 0,03$ mg/mg e observou decréscimo do percentil 95 de Ca/Cr com a idade até os 7 anos, quando os valores se estabilizaram. *Vachvanichsanong et al.* (2000) observaram uma correlação inversa entre a Ca/Cr e a idade ($p < 0,0001$) em 488 crianças tailandesas. *Öner et al.* (2004) analisaram a Ca/Cr de 483 crianças turcas divididas em três grupos faixas etárias e encontraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a Ca/Cr média dos grupos de crianças mais novas e do grupo de crianças mais velhas.

Além das alterações decorrentes da idade, a Ca/Cr também se mostrou influenciável pela localização geográfica do indivíduo. *Kaneko et al.* (2002) encontraram diferença significativa ($p < 0,01$) na Ca/Cr de 392 crianças vivendo em duas cidades diferentes, próximas ao Mar Arábico. Não foram observadas diferenças da excreção de cálcio entre indivíduos de sexos diferentes em ambas as localidades estudadas. *Mélian et al.* (2000) estudaram 557 crianças que habitavam uma mesma ilha, encontrando diferenças significativas ($p < 0,01$) entre a Ca/Cr de crianças de diferentes zonas da ilha. Mesmo dentro de estado ou de uma cidade, a exposição ao sol pode sofrer variações que explicariam em parte as alterações da excreção de cálcio em urina em função da localização, já que a síntese da vitamina D, um dos reguladores do metabolismo do cálcio, é altamente dependente da intensidade de exposição ao sol.

Alguns estudos procuraram estabelecer outros fatores que influenciavam a Ca/Cr. *Hilgenfeld et al.* (2004), por exemplo, investigaram a variação sazonal da excreção de cálcio em 65 crianças americanas, não encontrando diferenças significativas. No que diz respeito ao sexo, os estudos não encontraram diferenças entre indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino, exceto por *Öner et al.* (2004), que observaram uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre a Ca/Cr média de meninas ($0,09 \pm 0,10 \text{ mg/mg}$) e meninos ($0,08 \pm 0,06 \text{ mg/mg}$). A relação entre o cálcio urinário e a etnia também foi estudada. *So et al.* (2001), por exemplo, mostraram que, entre as crianças de uma mesma região, a Ca/Cr era significativamente menor em negros do que em caucasianos ($p < 0,05$). *Osório & Alon* (1997) analisaram a excreção urinária de cálcio de 100 crianças americanas, encontrando diferença significativa ($p < 0,001$) entre a Ca/Cr das crianças brancas ($0,04 \pm 0,06 \text{ mg/mg}$) e das crianças negras ($0,16 \pm 0,12 \text{ mg/mg}$).

Ainda que a Ca/Cr tenha se mostrado bastante variável, os dados dos diferentes estudos realizados sobre sua utilização mostraram que ela é capaz de substituir a análise em urina de 24 horas no diagnóstico de hipercalcúria. É comum utilizar o valor de 0,21mg/mg de Ca/Cr para o diagnóstico de hipercalcúria (Penido, 1995; Ordóñez et al., 2002; Hilgenfeld et al., 2004). Contudo, autores latino-americanos utilizam um valor de 0,12mg/mg como referência para detecção de hipercalcúria (Zambrano et al., 1994; Sparano et al., 1995; Díaz, 2003). Há ainda outros valores que foram padronizados para utilização em estudos internacionais: como 0,04 mg/mg (Bettinelli & Tedeschi, 2003) e 0,11 mg/mg (Heilberg, 2000).

A restrição do diagnóstico de hipercalcúria a um valor isolado do contexto do estudo tem sido repensada por alguns pesquisadores. Essa decisão clínica envolve o risco de crianças com excreção urinária de cálcio inferior a 0,21mg/mg desenvolverem a formação de cristais de oxalato de cálcio na urina. A aplicabilidade irrestrita deste valor de referência pode, portanto, ser questionada, parecendo mais clinicamente prudente a definição de uma faixa de normalidade de Ca/Cr para cada população estudada (Sweid et al., 1997).

II – OBJETIVOS

II.1 – OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta pesquisa foi investigar associações e relações entre excreção de cálcio urinário e exposição ambiental ao chumbo em crianças residentes em área urbana. Sua realização foi viabilizada pela participação no Programa de Vocação Científica (PROVOC) da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Esta pesquisa fez parte de um estudo mais amplo, segmentado em diversos projetos colineares, com o objetivo de gerar dados da real exposição ambiental ao chumbo em crianças residentes em área urbana para implantação de um programa preventivo de Saúde Pública. O estudo foi realizado no Laboratório de Toxicologia do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP) da mesma Fundação.

II.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Avaliar características sócio-econômicas, demográficas e ambientais da população estudada através da aplicação de questionário específico.
 - ❖ Avaliar o estado nutricional da população através dos resultados da estimativa de ingestão de nutrientes por questionário de frequência alimentar.
 - ❖ Caracterizar o contexto de exposição ambiental ao chumbo através de resultados encontrados dos indicadores biológicos de exposição.
-

-
- ❖ Verificar o risco da exposição ao chumbo partir de cálculos da Dose Potencial e dos Fatores de Risco Neurológico baseados nos níveis de chumbo determinados em matrizes ambientais.
 - ❖ Determinar associações entre a exposição ao chumbo e o comportamento dos indicadores biológicos e parâmetros nutricionais e de metabolismo ósseo.
 - ❖ Determinar a razão cálcio/creatinina em urina (Ca/Cr) através dos níveis de cálcio urinário e de creatinina urinária.
 - ❖ Avaliar as alterações morfológicas na urina da população estudada e estabelecer suas relações com a excreção de cálcio urinário.
 - ❖ Verificar a consistência dos dados relativos à razão cálcio/creatinina em urina através de comparação estatística com resultados de estudos publicados na literatura biomédica.
 - ❖ Determinar associações entre a razão cálcio/creatinina em urina e outras variáveis escolhidas, avaliando a plausibilidade biológica de cada possível associação.
-

III – METODOLOGIA

III.1 – DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi adotado um modelo epidemiológico transversal para determinar a associação entre a exposição ao chumbo e a possibilidade de alterações na razão cálcio/creatinina em urina. O estudo transversal é utilizado para descrever relações epidemiológicas existentes em uma população específica em um período particular de tempo. A determinação desse tipo de relação – entre doenças e parâmetros laboratoriais, por exemplo – não tem interesse em diagnosticar a pré-existência do *status* de saúde encontrado no período estudado, mas de avaliar a prevalência de fatores de interesse e demonstrar associações (Kelsey et al., 1996).

Na prática epidemiológica, os estudos transversais são muito utilizados para a descoberta de aspectos relacionados ao estado de saúde estudado e para reunir dados importantes ao suporte de decisões de políticas públicas de saúde. Esses dados oferecem a possibilidade de realização de inferências e geração de hipóteses acerca das estratégias de promoção de saúde e, até mesmo, de intervenção clínica na população alvo do estudo. Ainda que os estudos transversais não sejam capazes de identificar relações de causa e efeito, eles podem reunir evidências sobre uma condição da população e apontar a possibilidade do surgimento de um problema de saúde (Abramson & Abramson, 2000).

III.2 – CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi realizado em uma comunidade situada no Complexo de Manguinhos, localizado na bacia hidrográfica da Baía de Guanabara, na Baixada de Inhaúma, zona norte do Município do Rio de Janeiro. Esta região é considerada,

segundo registro de situação ambiental no município, como de alto índice de poluição atmosférica, sendo a qualidade do ar ainda mais prejudicada pela proximidade da Refinaria de Manguinhos, Estação de Transferência de Lixo do Caju, além de várias outras indústrias, e ausência de área verde. Além disto, esta área é caracterizada como de baixo desenvolvimento social e econômico, e considerada um perímetro de perigo, em razão da marginalização social.

III.3 – CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população estudada foi constituída de crianças na faixa etária de 0-16 anos, que residiam na comunidade há pelo menos três meses, e não possuíam nenhuma doença debilitante renal ou hematológica de acordo com os registros médicos anteriores do CSEGSF. Este trabalho foi realizado no Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) em parceria com o Centro de Saúde-Escola Germano Sinval Faria, onde a população destas comunidades é atendida. O CSEGSF funciona como modelo de atendimento básico em área urbana e seu programa de agentes de saúde é pioneiro no país. As famílias foram indicadas pelos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) do Programa de Saúde da Família (PSF) do Governo Federal e foram visitadas pelos agentes de saúde e pela equipe do projeto para que o estudo fosse apresentado e para que concordassem em participar da pesquisa.

Participaram do presente estudo 23 famílias contatadas pelos respectivos Agentes de Saúde do Programa de Saúde da Família, responsáveis pelas cinco micro-áreas desta comunidade, onde estas famílias residem em média há 9 anos. Foram incluídas no estudo 65 crianças com idade média de 7 anos, variando entre 0 e 16 anos, das quais 52,3% eram do sexo masculino e 47,7% do sexo feminino.

III.4 – PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO E COLETA DE DADOS

Na ocasião da visita dos agentes de saúde do CSEGSF e dos pesquisadores do CESTEJ, as famílias indicadas foram informadas sobre a justificativa, os objetivos e os procedimentos utilizados no estudo. O caráter voluntário e livre da participação no estudo foi explicitado, bem como a garantia de sigilo de todas as informações ligadas ao participante. Os responsáveis pelas famílias que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Ainda na visita às famílias, foram agendados data e horário em que seriam realizadas as coletas de material biológico no CSEGSF. As amostras de sangue foram coletadas entre sete e nove horas da manhã, após jejum noturno pelo período de 12 horas, adotando as precauções necessárias para a não contaminação das amostras biológicas. As amostras de urina foram coletadas na primeira hora da manhã, também após jejum noturno de 12 horas, desprezando-se a micção inicial.

Em seguida, foi aplicado um questionário para obtenção de variáveis sócio-econômicas. Dados relativos à localização física e às características estruturais das residências, bem como a hábitos e atividades relacionados à exposição ambiental e/ou ocupacional das crianças participantes e de seus familiares, também estavam incluídos no questionário (**Anexo A**).

A coleta de informações relativas à ingestão de nutrientes para que fosse realizada uma estimativa do *status* nutricional das crianças participantes também foi realizada através de um questionário de frequência alimentar, aplicado por profissional habilitado (**Anexo B**). Foram realizadas estimativas do consumo dos principais nutrientes por sexo e faixa etária, respeitando as diretrizes nutricionais

estabelecidas nas *Recommended Dietary Allowances* (RDA) e nos *Dietary Reference Intakes* (DRI) (RDA, 1989).

De acordo com a Resolução n° 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde, o projeto no qual este estudo estava inserido, bem como os questionários e termo de consentimento livre e esclarecido foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, recebendo aprovação conforme parecer n° 24 de 11 de junho de 2001 do CEP/ENSP.

III.5 – MATERIAIS E MÉTODOS

III.5.1 – Determinação da razão cálcio/creatinina em urina

Os níveis de cálcio urinário foram determinados por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, segundo o Procedimento Operacional Padrão (POP) do CESTEH, em espectrômetro AAnalyst 800 (PerkinElmer). Para a realização desta análise, foi utilizada urina diluída 200 vezes em solução de ácido clorídrico 3%. A seguir, realizou-se a curva de calibração analítica com as concentrações 0,5mg/L (50µL de padrão, 25µL de urina diluída e 4925µL de lantânio 1%), 2,5mg/L (250µL de padrão, 25µL de urina diluída e 4725µL de lantânio 1%) e 5,0mg/L (500µL de padrão, 25µL de urina diluída e 4475µL de lantânio 1%). Para a análise da amostra, utilizou-se 25µL de urina diluída e 4975µL de lantânio 1%.

A creatinina urinária foi quantificada através de Espectrofotometria Ultravioleta Sensível, seguindo a metodologia do kit BIOCLIN (Quibasa Química Básica LTDA.) para análise de creatinina, em Espectrofotômetro Ultravioleta Visível UV-1601 (Shimadzu). Este método consistia na reação de *Jaffé*, baseada na formação

do complexo creatinina-picrato, sensível aos raios ultravioleta, decorrente da união de creatinina e ácido pícrico. Para a realização desta reação, utilizou-se na amostra 125µL de urina, 250µL de ácido pícrico e 1000µL de reagente alcalino (hidróxido de sódio, tetraborato de sódio e surfactante); no padrão, 125µL de padrão do kit, 250µL de ácido pícrico e 1000µL de reagente alcalino; e no branco; 125µL de água destilada, 250µL de ácido pícrico e 1000µL de reagente alcalino. Todos os tubos foram homogeneizados em agitador, incubados por 10 minutos em banho-maria a 37°C e analisados em comprimento de onda de 510nm no espectrofotômetro.

III.5.2 – Determinação de chumbo em matrizes ambientais

Para conhecer as características ambientais da exposição ao chumbo, foram determinadas as concentrações de chumbo em solo, água, poeira e ar por Espectrometria de Absorção Atômica. A partir das médias das concentrações de chumbo encontradas nos pontos de coleta, foram calculadas a Dose Potencial e os Fatores de Risco Neurológico para cada uma das matrizes e também para inalação (poeira e ar) e ingestão (solo e água). Os parâmetros utilizados para os cálculos relativos ao chumbo nas matrizes ambientais foram baseados na metodologia da Agência de Proteção Ambiental (EPA) americana (**Anexo C**).

III.5.3 – Determinação de chumbo em matrizes biológicas

No Laboratório de Toxicologia do CESTE, foram analisados os seguintes indicadores de exposição ao chumbo em matrizes biológicas:

Indicadores de dose interna

– Chumbo em sangue (Pb-S) e chumbo em urina (Pb-U) em Espectrômetro de Absorção Atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer), de acordo com o Padrão Operacional Padrão (POP) n° 34 do Laboratório de Toxicologia do CESTEH.

Indicadores de efeito

– Enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALA-D) em Espectrofotômetro Ultravioleta Visível UV-1601 (Shimadzu), de acordo com método modificado de *Sakai et al.* (1980), que consiste em medir a atividade da enzima ALA-D, através da quantificação do composto colorido produzido pela reação entre o reativo de Erlich's e o porfobilinogênio, formado pela ALA-D a partir da adição do substrato ALA. A adição de dietiltreitól (DTT) a um dos tubos de análise ativa a enzima ALA-D. O percentual de recuperação da ALA-D (%ALA-D) corresponde à diferença entre o percentual de atividade da enzima ativada (considerado como 100%) e o percentual da enzima inativa.

– Ácido delta-aminolevulínico urinário (ALA-U) em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance modelo SCL 10A (Shimadzu), segundo metodologia modificada de *Ogata & Taguchi* (1987), que consiste no uso de metilacetoacetato na etapa de condensação e formação do composto ácido δ -aminolevulínico-pirrol, e do n-butanol para diminuir o número de interferentes encontrados na urina, impedindo a formação de outros pirróis;

– Zinco protoporfirina (ZPP) por Hematofluorômetro 206D (AVIV), conforme Padrão Operacional Padrão (POP) do Laboratório de Toxicologia do CESTEH.

III.5.4 – Determinação de parâmetros de metabolismo ósseo

As determinações do hormônio da paratireóide (PTH) e da vitamina D na forma de 25-hidroxicolecalciferol (25OHD) foram realizadas para investigar possíveis efeitos do chumbo e para oferecer informações complementares sobre o metabolismo do cálcio. O método utilizado para determinação de PTH no sangue foi o ensaio tipo enzimaímométrico quimioluminescente automatizado em analisador específico IMMULITE (DPC MedLab). O procedimento operacional utilizado foi o do Laboratório de Endocrinologia do Hospital Pedro Ernesto, cujos valores de referência para os níveis de PTH são de 12–72 pg/mL. A análise da 25(OH)D foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance modelo SCL 10A (Shimadzu), utilizando o método desenvolvido *Akness* (1992), que utiliza hexano para a extração da vitamina D do plasma.

III.5.5 – Determinação de parâmetros clínicos laboratoriais

Além dos indicadores biológicos de exposição ao chumbo, foram realizados exames de rotina para verificar possíveis alterações laboratoriais. O Laboratório de Análises Clínicas do CSEGSF seguiu os padrões analíticos próprios para análise de elementos anormais e sedimentoscopia (EAS) em urina para identificar a presença de cristais e outras substâncias.

III.6 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

O software estatístico SPSS 12.0 foi utilizado na análise dos resultados. Para análise descritiva, foram utilizados média aritmética, valor mínimo, valor máximo e desvio padrão das variáveis quantitativas. Também foi verificada a distribuição dos

dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram logaritmizadas.

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar possíveis diferenças entre os grupos de variáveis, através dos testes de comparação múltipla (Bonferroni e Tukey). Os testes t-Student para amostra única ou para duas amostras independentes foram utilizados para determinar diferenças estatísticas entre os grupos formados por pontos de corte ou por variáveis categóricas.

Também foram feitas as correlações simples para avaliar a magnitude da associação das variáveis, através da determinação do coeficiente de correlação (r) ao nível de significância (p) de 95%. Estas análises forneceram dados para a realização de modelos de regressão linear múltipla, onde as variáveis independentes foram adicionadas a modelos para testar sua capacidade em prever alterações na variável dependente.

O teste chi-quadrado para uma amostra e para duas amostras foi utilizado para investigar a existência de uma relação entre as proporções e/ou a interdependência entre as variáveis. A análise de curvas *receiver operator characteristic* (ROC) foi empregada para determinar a especificidade e a sensibilidade de testes em diagnosticar estados de saúde.

IV – RESULTADOS

IV.1 – PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO E DEMOGRÁFICO DA POPULAÇÃO

As crianças foram divididas em grupos de idade, ficando organizadas em grupo 1 para as crianças de 0 a 4 anos, grupo 2 para crianças de 4 a 7 anos, grupo 3 para crianças de 7 a 10 anos, e grupo 4 para crianças de 7 a 16 anos, de acordo com os quartis. Embora o abastecimento de água seja realizado inteiramente pela rede pública, em 32,6% das casas o esgoto é lançado a céu aberto sem tratamento. Quanto ao destino do lixo, todas as residências têm coleta do lixo domiciliar. Dos domicílios participantes, 46,8% possuem três cômodos e 25% dois cômodos. No que diz respeito ao revestimento, a maior parte das casas apresenta cimento como matéria-prima. Durante o tempo de moradia, foi relatado que nenhuma das casas havia sido pintada. A limpeza da poeira ocorre mais de uma vez por dia em 49% das casas, uma vez por dia em 32%, duas ou mais vezes por semana em 5% e uma vez por semana em 14%.

Quanto aos hábitos importantes para a avaliação do risco da exposição ao chumbo, 58% das crianças apresentaram hábito de ingerir materiais que podem conter o metal e 39% de levar a mão à boca. Aproximadamente 68% dos responsáveis declararam que ele ou alguém em sua casa trabalha ou já trabalhou em atividades relacionadas à exposição ao chumbo. Os responsáveis têm em sua maioria o Ensino Fundamental incompleto. A **tabela 1** descreve as características mais relevantes da população estudada.

Tabela 1 – Principais características sócio-econômicas da população estudada.

CARACTERÍSTICAS		N	%
Sexo	<i>Feminino</i>	31	48
	<i>Masculino</i>	34	52
Idade por grupo	<i>Grupo 1: 0-4 anos</i>	12	18
	<i>Grupo 2: 4-7 anos</i>	18	28
	<i>Grupo 3: 7-10 anos</i>	16	25
	<i>Grupo 4: 10-16 anos</i>	19	29
Grau de instrução do responsável	<i>Ensino fundamental completo</i>	1	7
	<i>Ensino fundamental incompleto</i>	8	53
	<i>Ensino médio completo</i>	2	13
	<i>Ensino médio incompleto</i>	2	13
	<i>Não respondeu</i>	2	13
Criança freqüenta a escola	<i>Sim</i>	58	89
	<i>Não</i>	7	11
Responsável fumante	<i>Sim</i>	27	41
	<i>Não</i>	38	59
Tipo de piso da residência	<i>Cimento</i>	33	51
	<i>Vermelhão</i>	8	12
	<i>Cerâmica</i>	23	35
	<i>Outros</i>	1	2
A criança ingere materiais relacionados à exposição?	<i>Sim</i>	27	58
	<i>Não</i>	38	42
	<i>Reboco</i>	7	18,42
	<i>Terra</i>	8	21,05
	<i>Areia</i>	1	2,63
	<i>Lápis de cera</i>	2	5,26
	<i>Borracha</i>	3	7,89
	<i>Plástico</i>	2	5,26
	<i>Lápis</i>	9	23,68
	<i>Outros</i>	6	15,79

N – número de amostras

IV.2 – AVALIAÇÃO DO STATUS NUTRICIONAL DA POPULAÇÃO

Diferentemente das outras análises, na avaliação dos parâmetros nutricionais, as crianças foram distribuídas por grupos de idade específicos, de acordo com as características metabólicas e nutricionais preconizadas pela RDA (1989). Assim, os indivíduos foram distribuídos da seguinte maneira: grupo 1 de 0 a 3 anos, grupo 2 de 4 a 7 anos e grupo 3 de 8 a 16 anos.

Uma estimativa diária do consumo de nutrientes de interesse foi elaborada a partir da avaliação do questionário de frequência alimentar para cálcio, ferro, vitamina D, proteínas e calorias totais (Kcal). Os valores médios calculados para o consumo de calorias e para as ingestões de cálcio e ferro encontraram-se abaixo dos recomendados. A média da ingestão de vitamina D foi superior ao valor recomendado para os três grupos de idade. A média de proteína ingerida foi também superior ao valor recomendado para todos os três grupos de idade, em decorrência do alto consumo de alimentos enriquecidos com vitaminas ou com proteínas não recomendáveis para a nutrição infantil. Quanto ao consumo de calorias, as médias dos três grupos etários foram inferiores ao recomendado (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Análise descritiva da ingestão de nutrientes por grupos de idade.

Nutriente	Idade	N	VR	Média	DP	Mínimo	Máximo
Cálcio (mg)	Grupo 1	10	500	367	110	187	536
	Grupo 2	23	800	562	288	130	1216
	Grupo 3	28	1300	645	680	130	3570
	Total	61	-	568	500	130	3570
Ferro (mg)	Grupo 1	10	10	4,6	2,2	0,9	9,8
	Grupo 2	23	10	7,2	3,1	2,3	13,9
	Grupo 3	28	12	11,0	8,2	2,7	42,7
	Total	61	-	8,5	6,3	0,9	42,7
Vitamina D (µg)	Grupo 1	9	5	11,0	24,2	1,2	75,8
	Grupo 2	23	5	9,9	19,3	0,3	82,8
	Grupo 3	28	5	6,5	12,9	0,3	54,4
	Total	60	-	8,5	17,3	0,3	82,8
Proteínas (g)	Grupo 1	10	13	31,1	10,8	13,1	50,0
	Grupo 2	23	19	48,9	17,3	9,4	80,1
	Grupo 3	28	34	70,4	46,7	9,4	251,0
	Total	61	-	55,9	36,4	9,4	251,0
Calorias (kcal)	Grupo 1	10	1300	966,3	755,0	429,6	3067,1
	Grupo 2	23	1900	1313,9	483,8	652,2	2135,9
	Grupo 3	28	2500	1917,9	1240,2	566,0	6789,8
	Total	61	-	1534,2	1002,3	429,6	6789,8

N – número de amostras; VR – valor de referência; DP – desvio padrão

Foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA), com testes de comparações múltiplas (Turkey HSD e Bonferroni), para avaliar diferenças entre os

grupos de idade e os valores médios do consumo de calorias e dos nutrientes. Foram observadas diferenças significativas entre os grupos 1 e 3 para o consumo de calorias ($p=0,022$), ingestão de proteínas ($p=0,007$) e de ferro ($p=0,016$). Também foram encontradas diferenças não significativas, mas próximas de $p=0,05$, entre os grupos 2 e 3 para o consumo de calorias ($p=0,068$), de proteínas ($p=0,071$) e de ferro ($p=0,075$). Foram encontradas correlações positivas e significativas entre a ingestão de cálcio e a ingestão de ferro ($r=0,843$; $p=0,000$) e entre a ingestão de cálcio e de vitamina D ($r=0,567$; $p=0,000$).

A maioria das crianças encontra-se abaixo da RDA para ferro, cálcio e vitamina D, além do consumo total de calorias. Por outro lado, grande parte das crianças estudadas encontra-se acima da RDA para proteínas, mas é importante observar a contribuição, neste cálculo, de biscoitos recheados, salgadinhos e outros petiscos, que apresentam aditivos, corante e gordura, e não constituem proteínas qualitativamente adequadas. A **tabela 3** mostra o percentual de consumo de nutrientes atingido pelo total de crianças de acordo com as quantidades previstas na RDA.

Tabela 3 - Percentual do consumo de nutrientes atingido em relação a RDA.

	Atingem 100%	Não atingem 100%	Acima do recomendado	Não atingem 50%
Calorias	19% (n=12)	76% (n=48)	5% (n=3)	33% (n=21)
Proteínas	45% (n=28)	9% (n=6)	46% (n=29)	9% (n=6)
Cálcio	46% (n=29)	49% (n=31)	5% (n=3)	49% (n=31)
Vitamina D	21% (n=13)	76% (n=47)	3% (n=2)	35% (n=18)
Ferro	46% (n=29)	49% (n=31)	5% (n=3)	49% (n=31)

RDA - Recomendação Diária Aceitável

IV.3 – AVALIAÇÃO DOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

O valor médio de Pb-S encontrado na população foi de 5,5µg/dL. Neste estudo, foi adotado um ponto de corte de Pb-S de 6µg/dL com base em evidências da ocorrência de efeitos tóxicos do chumbo a níveis de Pb-S menores do que o limite recomendado pelo CDC de 10µg/dL. Das crianças avaliadas, 40% (n=25) apresentaram valores de Pb-S acima de 6µg/dL.

Quanto a ALA-D%, 56,7% das crianças apresentaram valores abaixo do valor de referência de 40%. Os valores médios de ALA-D% dos grupos de crianças com Pb-S abaixo e acima do ponto de corte adotado apresentaram diferenças estatisticamente significativas (p=0,000; Teste t-Student). Estes valores indicaram que as crianças que ficaram acima do ponto de corte de Pb-S (6µg/dL) apresentam alteração no indicador de efeito ALA-D. A **tabela 4** demonstra a análise descritiva dos indicadores de exposição ao chumbo. Foi encontrada correlação positiva e significativa (r=0,460; p=0,000; n=68) entre ALA-D% e Pb-S, que não são variáveis colineares. Também foi observada correlação inversa e significativa entre Pb-S e ingestão de vitamina D (r=-0,339; p=0,009).

Tabela 4 - Análise descritiva dos indicadores biológicos de exposição ao chumbo na população.

Indicador	N	Média	DP	VR	Mínimo	Máximo
Pb-S (µg/dL)	62	5,5	2,3	10,0	1,0	13,6
ALA-D% (%)	60	40,3	8,9	40	20,0	71,0
Pb-U (µg/gCr)	52	0,5	0,2	1,2	0,2	1,0
ALA-U (mg/gCr)	53	3,9	1,1	4,5	0,8	6,6
ZPP (µg/gHb)	64	2,5	1,7	3,6	1,1	13,0

N – número de amostras; DP – desvio padrão; Pb-S – Chumbo em sangue; ALA-D%- % de recuperação de ALA-D; Pb-U – Chumbo em urina; ALA-U – ALA urinário; ZPP – Zinco protoporfirina

Neste estudo, os níveis encontrados de Pb-U ficaram dentro dos limites estabelecidos pelo valor de referência de 1,2 µg/gCr. A variável Pb-U não apresentou distribuição uniforme e foi logaritimizada para utilização nas análises estatísticas.

As crianças estudadas apresentaram valores médios de ALA-U de 2,9 mg/gCr. O valor de referência deste indicador é 4,5mg/gCr e o Índice Biológico Máximo Permitido é 10mg/gCr em trabalhadores submetidos à exposição ocupacional ao chumbo. Nesta população, verificou-se que 11% (n=7) das crianças apresentaram valores de ALA-U acima de 4,5 mg/gCr, com média de 5,0 mg/gCr, caracterizando exposição ambiental ao metal nesta parte da população. O teste ANOVA mostrou diferenças significativas no ALA-U entre os grupos de idade (p=0,005), especialmente entre os grupos 1 (0-4 anos) e 4 (11-16 anos), revelando a capacidade deste indicador de diferenciar o grupo mais vulnerável do grupo menos vulnerável à exposição ao chumbo.

A média de ZPP encontrada foi de 2,5µg/gHb. Os níveis encontrados de ZPP ficaram dentro dos limites estabelecidos pelo valor de referência de 3,6µg/gHb. Esta variável não apresentou distribuição normal e foi logaritmizada. É importante ressaltar que a ZPP pode sofrer alterações decorrentes da deficiência de ferro e que esta população apresentou deficiências nutricionais importantes, sobretudo no que diz respeito ao nutriente ferro.

É importante observar que, ainda que o teste ANOVA não tenha revelado diferenças significativas entre os grupos de idade para muitos indicadores, as médias foram maiores no grupo 1 (0-4 anos) e diminuíram com o aumento a idade. A **figura 12** mostra os valores médios dos indicadores distribuídos por grupos de idade.

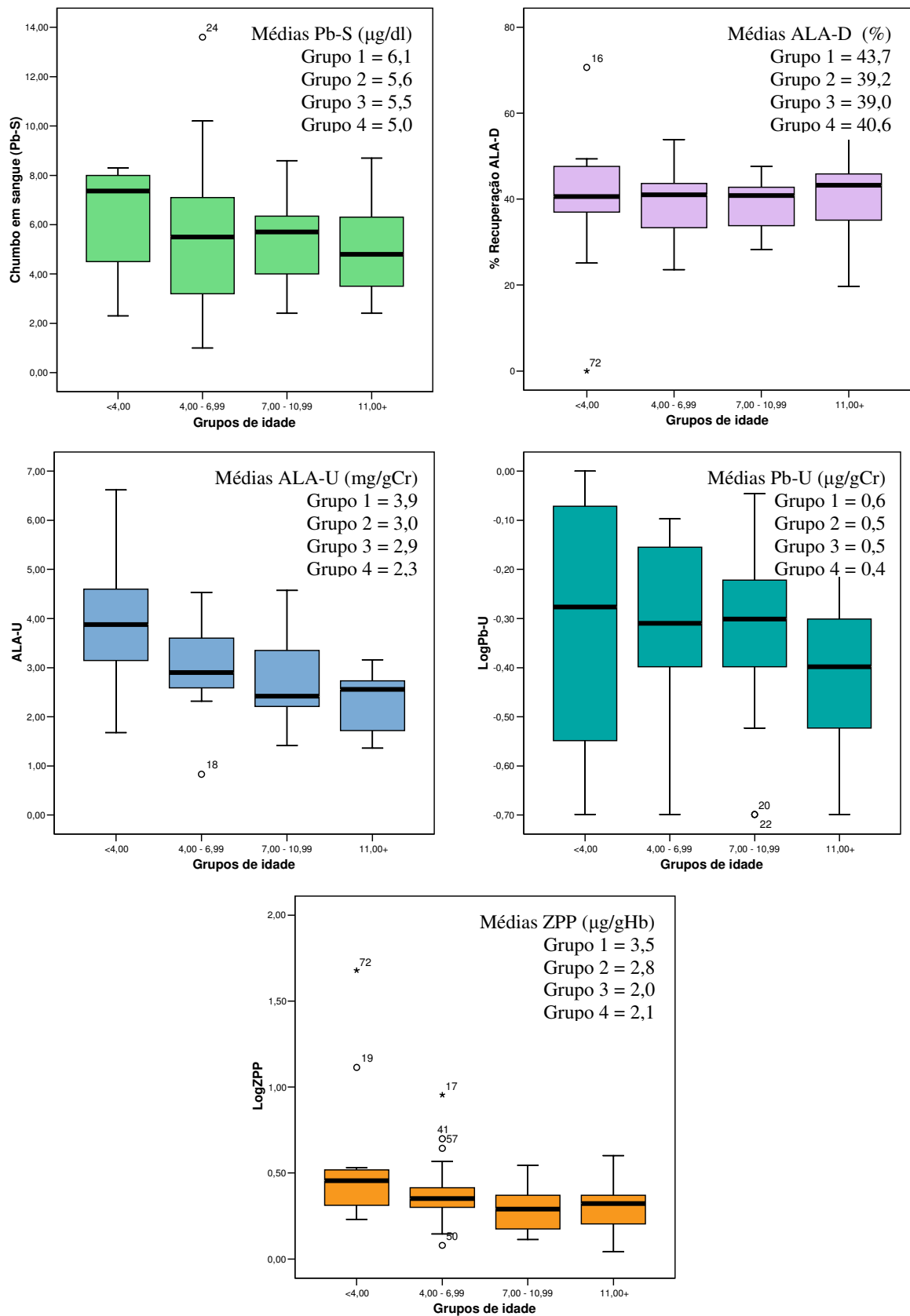


Figura 12 – Distribuição e médias dos níveis de indicadores biológicos de exposição ao chumbo por grupos de idade.

IV.4 – QUANTIFICAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DE EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

Apesar da principal forma de monitorização da exposição ser biológica, a monitorização ambiental é importante, tendo em vista que as matrizes ambientais (solo, água, ar e poeira) constituem a principal fonte de exposição ao chumbo. Em relação aos resultados da análise dos níveis de chumbo nas matrizes ambientais, foram coletadas amostras em sete pontos próximos à área de estudo (**Figura 13**). Na **tabela 5**, encontram-se os valores médios do chumbo nas matrizes ambientais estudadas.

Tabela 5 – Valores médios de chumbo nas matrizes ambientais.

Matriz ambiental	Valor de referência	Média
Solo ($\mu\text{g/g}$)	EPA – 400	73,35
	APP – 200	
Água ($\mu\text{g/L}$)	EPA – 200	0,56
Ar ($\mu\text{g/m}^3$)	OMS – 0,5	0,11
	EPA – 1,5	
Poeira ($\mu\text{g/m}^2$)	OMS – 5,38	631,39

As Doses Potenciais de ingresso de chumbo em cada uma das matrizes foi calculada segundo metodologia da EPA (**Anexo C**), que indica as Taxas de Ingresso e as Taxas de Absorção de chumbo por dia em cada uma das matrizes ambientais. Embora a EPA recomende a utilização de 16kg como peso médio de crianças, o peso utilizado foi de 15kg tendo em vista que, com base na avaliação nutricional, a população pôde ser considerada como uma população em risco nutricional (Engstron, 2002).

A **tabela 6** resume as Doses Potenciais de cada matriz biológica e das matrizes envolvidas na inalação (ar e poeira) e ingestão (solo e água). Os Fatores de Risco Neurológico médios calculados para ingestão e para inalação superaram as Doses de

Referência, indicando o risco estimado de danos neurológicos na população. Para ingestão, por exemplo, o Fator de Risco Neurológico foi 13 vezes superior à dose de referência (DRf).

Tabela 6 - Dose Potencial e Fator de Risco Neurológico calculado para cada matriz ambiental.

Matriz	Dose Potencial (mg/Kg/dia)	Fator de Risco Neurológico*
Solo	$9,9 \times 10^{-4}$	13,0
Água	$4,4 \times 10^{-5}$	0,5
Poeira	$1,7 \times 10^{-5}$	0,2
Ar	$8,7 \times 10^{-5}$	1,0
Ar + Poeira	$1,0 \times 10^{-4}$	1,2
Solo + Água	$1,0 \times 10^{-4}$	13,2

* O valor apresentado indica quantas vezes o fator é superior à dose de referência



Figura 13 – Localização da área de estudo e pontos de coleta das amostras de matrizes ambientais.

Pontos A e D: FIOCRUZ – Avenida Brasil — Ponto B: FIOCRUZ – Avenida Beira Rio — Pontos C e E: FIOCRUZ – Avenida Leopoldo Bulhões — Ponto F: João Goulard – Campo de Futebol — Ponto G: João Goulard – Área de depósito de lixo

IV.5 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE METABOLISMO ÓSSEO

Foram avaliadas 55 crianças quanto aos níveis de 25OH-D, que foram logaritmizados para análise estatística, por não apresentarem distribuição normal. As crianças avaliadas apresentaram valores médios de $21,9 \pm 32,3$ ng/mL (mínimo: 2,4 ng/mL; máximo: 129,0 ng/mL).

Muitos esforços têm sido feitos para definir um valor de referência para a concentração de 25OH-D necessário para o diagnóstico da sua deficiência e foram estabelecidos aceitáveis os valores acima de 20 ng/mL. Analisando os níveis encontrados na população, 40 crianças apresentaram valores abaixo do recomendado (média 6,3 ng/mL), indicando deficiência de vitamina D (Lips, 2004).

Para as crianças, foram analisados também os níveis de PTH, cuja média foi $42,5 \pm 17,5$ pg/mL (mínimo: 9,7 pg/mL; máximo: 79,5 pg/mL) e as médias dos grupos de idade situaram-se dentro da faixa de normalidade nas respectivas faixas etárias (0-3 anos = 9 a 52 pg/mL; acima de 3 anos = 12 a 72 pg/mL). Foi encontrada diferença não significativa, mas próxima do nível de significância de 5%, no teste de análise de variância entre as médias de PTH nos grupos de idade ($p=0,053$). Considerando o descrito na literatura, obteve-se uma correlação negativa entre PTH e 25OH-D ($r=-0,382$, $p=0,007$, $n=48$).

IV.6 – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS EM URINA

Além dos indicadores biológicos de exposição ao chumbo, foi realizada a análise urinária de elementos anormais e sedimentos (EAS), revelando que 55,36% das amostras apresentaram alterações. Dentre estas alterações a presença de cristais de oxalato de cálcio foi verificada em 19,64% ($n=11$) das crianças, a presença de

cristais de urato foi verificada em 5,36% (n=3) e a presença de cristais de fosfato em 3,57% das crianças (n=2). Além da presença de cristais foi verificada a presença de bactérias no sedimento urinário de 14,29% (n=8) das crianças. A **figura 14** mostra a distribuição das alterações relativas aos cristais, indicando distúrbios metabólicos relacionados ao metabolismo de cálcio e fosfato, e à presença de bactérias.

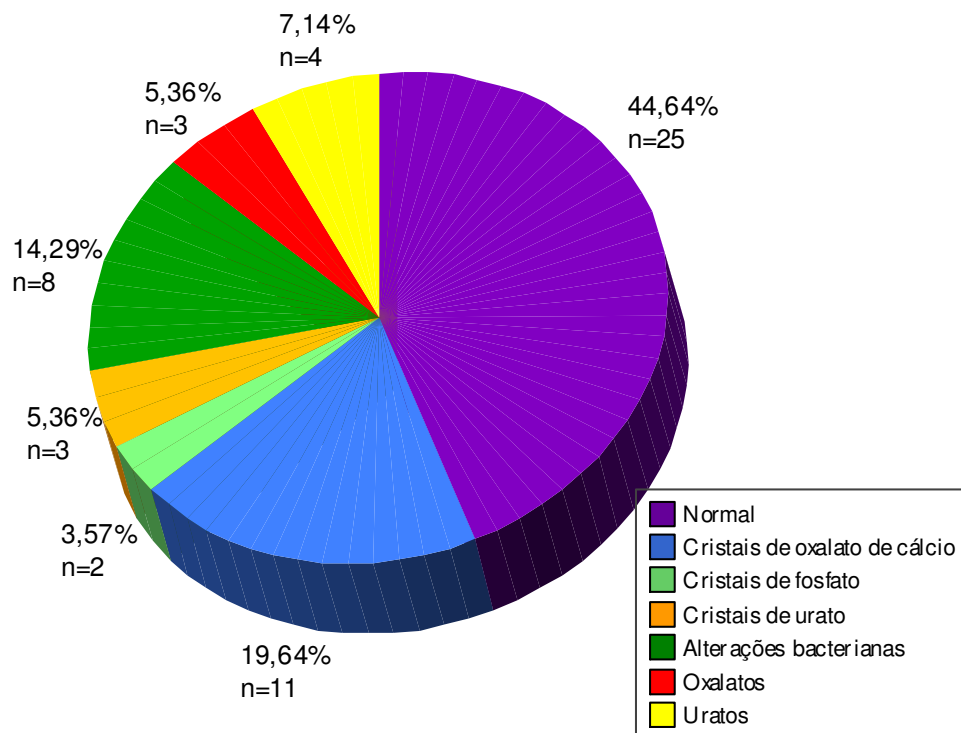


Figura 14 – Distribuição das alterações morfológicas urinárias na população estudada.

IV.7 - AVALIAÇÃO DA RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA

O valor médio da relação urinária cálcio/creatinina (Ca/Cr) foi de $0,12 \pm 0,07$ mg/mg (n=49) com valor mínimo de 0,01 mg/mg, valor máximo de 0,40 mg/mg e percentil 95 de 0,26 mg/mg. Não foi observada diferença entre a média de Ca/Cr para meninos e meninas. Aproximadamente 12% das crianças (n=6) apresentaram valores de Ca/Cr acima do valor de referência tradicionalmente

considerado para o diagnóstico de hipercalcúria em adultos e crianças (0,21 mg/mg). O teste t-Student mostrou a existência de uma diferença significativa ($p=0,000$) entre as médias dos grupos de crianças que ficaram abaixo e acima de 0,21mg/mg. Na parcela da população com Ca/Cr superior ao valor de referência, foram encontrados cristais de oxalato de cálcio em 66,7% das crianças ($n=4$). A **figura 15** mostra a distribuição das alterações nos indivíduos com Ca/Cr inferior e superior a 0,21mg/mg.

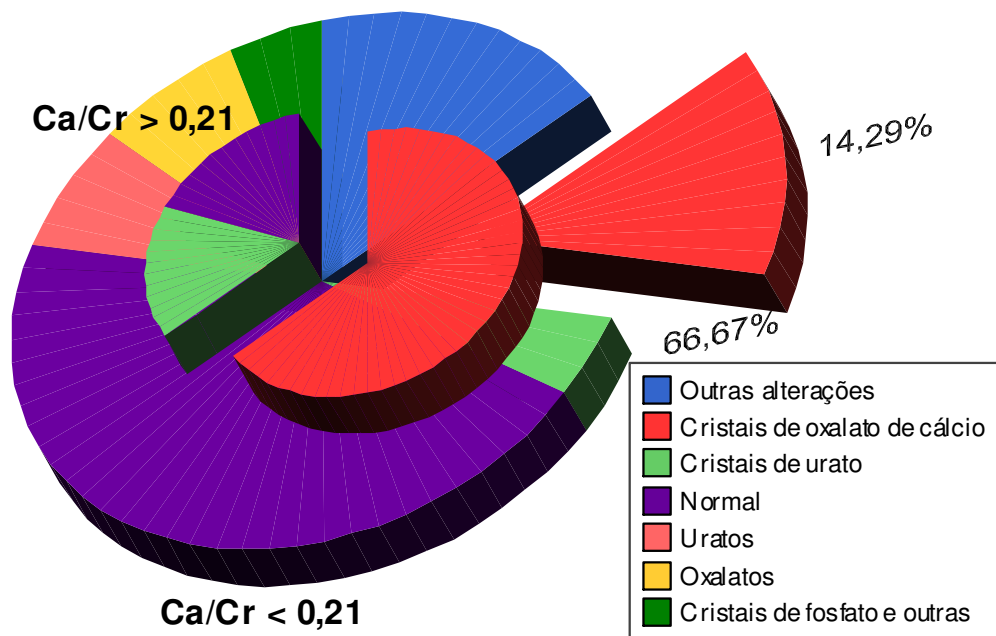


Figura 15 – Distribuição das alterações urinárias nos grupos de crianças com Ca/Cr inferior e superior ao valor de referência de 0,21mg/mg.

As médias de Ca/Cr decresceram com o aumento da idade, conforme a **figura 16**, mas não foram encontradas diferenças significativas entre as médias de Ca/Cr de cada grupo de idade.

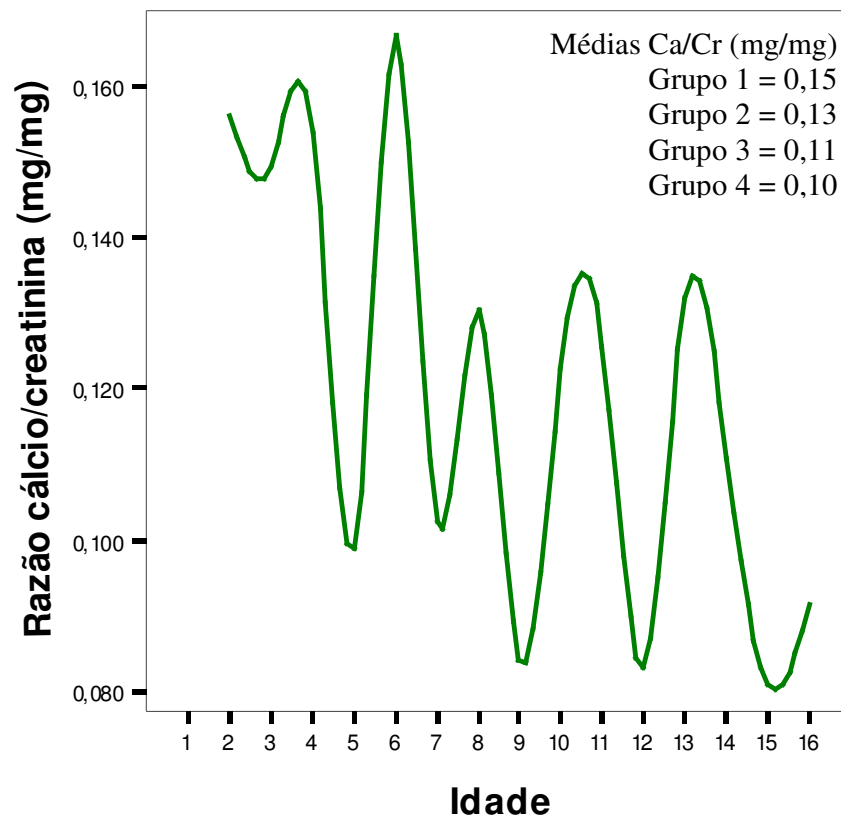


Figura 16 – Dinâmica da variável razão cálcio/creatinina em urina de acordo com o aumento da idade na população estudada.

Foram realizadas correlações para avaliar a interação entre a excreção de cálcio e a exposição ao chumbo e para verificar a aplicabilidade da razão cálcio/creatinina em populações ambientalmente expostas. O indicador de dose interna chumbo em urina (Pb-U) logaritmizado apresentou correlação positiva e significativa ($r=0,313$; $p=0,029$; $n=49$) com os valores da razão cálcio/creatinina, sem apresentar colinearidade (**Figura 17**).

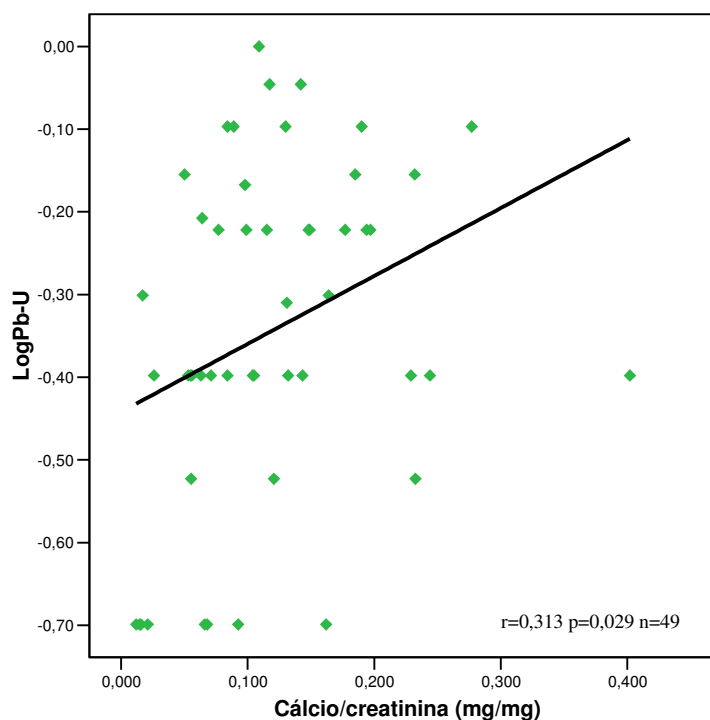


Figura 17 – Correlação entre as variáveis Ca/Cr e LogPb-U.

A relação entre chumbo e cálcio na cinética química no organismo foi observada também através da correlação positiva e não colinear entre o indicador de efeito ALA-U e os valores da Ca/Cr ($r=0,443;p=0,001;n=49$), indicando que o aumento da exposição ao chumbo leva ao aumento da excreção de cálcio, dando margem ao surgimento de hipercalciúria (**Figura 18**). No grupo de crianças com Ca/Cr superior a 0,21mg/mg, a correlação entre esta variável e ALA-U foi forte positiva e significativa ($r=0,882;p=0,020;n=6$). As médias de ALA-U também mostraram diferenças significativas entre os grupos de crianças com valores de Ca/Cr abaixo e acima de 0,21mg/mg ($p=0,05$; teste t-Student).

O teste não-paramétrico chi-quadrado para duas variáveis avalia se suas frequências observadas refletem independência entre duas variáveis qualitativas. Esta independência é verificada quando o valor de χ^2 encontrado é inferior ao valor de χ^2 crítico para o nível de significância de 5% do grau de liberdade da análise. No teste

entre ALA-U e Ca/Cr, considerando as proporções determinadas pelos valores de referência de 4,5mg/gCr para ALA-U e 0,21mg/mg para Ca/Cr, foi calculado um valor de χ^2 de 3,99 para 1 grau de liberdade. Este valor é superior ao valor de χ^2 crítico de 3,84 ($p=0.04$), indicando que a excreção excessiva de cálcio não é independente da excreção de ALA-U.

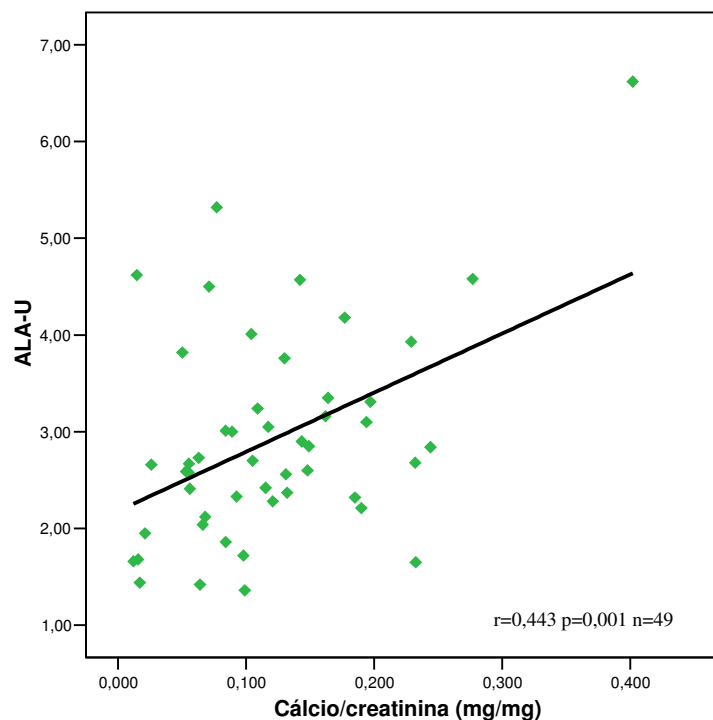


Figura 18 – Correlação entre as variáveis Ca/Cr e ALA-U.

A relação entre a excreção de cálcio e a formação de cristais de oxalato de cálcio em urina foi evidenciada através do teste chi-quadrado para duas variáveis. Foi encontrada uma associação entre os grupos com Ca/Cr superior e inferior a 0,21mg/mg e os grupos de crianças sem alteração clínicas na urina e com presença de oxalato de cálcio. O valor de χ^2 encontrado de 5,88 é superior ao valor de χ^2 crítico de 3,84, para nível de significância de 0,05 e 1 grau de liberdade, tornando possível afirmar que o conhecimento da excreção de cálcio fornece informações adicionais referentes à possibilidade de surgimento de cristais de oxalato de cálcio.

IV.8 – ESTUDO COMPARATIVO DA RAZÃO CÁLCIO/CREATININA

Para verificar a conformidade dos resultados referentes à razão cálcio/creatinina em urina encontrados neste estudo com relação aos resultados de diversos estudos realizados sobre este assunto, foi utilizado o teste não-paramétrico chi-quadrado (χ^2) para amostra única. Este teste focaliza quaisquer discrepâncias entre frequências observadas e frequências esperadas de uma variável determinada. A questão crucial corresponde ao fato de as discrepâncias entre essas frequências serem suficientemente grandes, ou seja, apresentarem um valor de χ^2 alto, para serem qualificadas como um resultado raro. Um valor de χ^2 alto é aquele que supera o valor de χ^2 crítico específico do nível de significância de 5% para o grau liberdade da análise. De fato, é bastante improvável que muitas amostras aleatórias apresentem conformidade com uma proporção determinada também aleatoriamente.

Neste estudo, foram considerados valores observados as proporções determinadas pelo valor de referência de 0,21mg/mg de Ca/Cr, ou seja, 43 crianças normais e 6 crianças com diagnóstico de hipercalciúria. As proporções relatadas em estudos anteriores, publicados em periódicos científicos, foram consideradas como valores esperados. Os resultados do teste chi-quadrado para cada uma das populações analisadas foram resumidos na **tabela 7**. Esta análise apresentou 1 grau de liberdade de forma que o valor de χ^2 crítico para nível de significância inferior a 5% foi 3,84. Assim, valores de χ^2 inferiores a 3,84 permitem afirmar que não há discrepância significativa entre as frequências observada e esperada. Através dessa análise, foi possível observar que a proporção de crianças normais e de crianças com diagnóstico de hipercalciúria na população deste estudo está em conformidade com 8 das 13 (61,5%) populações analisadas.

Tabela 7 – Resultados do teste chi-quadrado e níveis de significância estatística para cada uma das populações consideradas.

Autor do estudo	N	VR	Abaixo VR	Acima VR	χ^2	p
Alconcher et al.,1997	220	0,21	213	7	13,065	0,000
Rodriguez et al.,1999	305	0,21	242	63	2,115	0,146
Penido et al., 2003	88	0,21	25	63	84,852	0,000
Osorio & Alon, 1997	100	0,21	78	22	2,717	0,099
Kaneko et al., 2002	205	0,29	126	79	14,300	0,000
	187	0,29	163	24	0,015	0,902
Mir & Serdaroglu, 2005	215	0,18	177	38	0,993	0,319
Vachvanisanong et al., 2000	488	95th	466	22	6,813	0,009
	138	0,29	119	19	0,096	0,757
	56	0,34	45	11	1,699	0,192
Mélian et al., 2000	93	0,28	79	14	0,302	0,582
	188	0,22	168	20	0,133	0,715
	82	0,38	58	24	6,859	0,009

N – número de amostras; VR – valor de referência; χ^2 – resultado do teste chi-quadrado; p – significância estatística

IV.9 – MODELOS DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA

Para analisar mais criteriosamente as relações entre excreção de cálcio e exposição ao chumbo, foram construídos modelos de regressão linear múltipla para verificar qual indicador pode prever alterações nos níveis de cálcio urinário.

No modelo resumido na **tabela 8**, com a razão cálcio/creatinina em urina como variável dependente, a variável ALA-U foi preditiva (p=0,001) em 19,6% das alterações na Ca/Cr, com valor de β positivo.

Tabela 8 – Modelo de regressão múltipla com Ca/Cr como variável independente e ALA como variável independente.

Variável Independente	r	Sig r	r ²	Sig r ²	β	Sig β
ALA-U	0,443	0,001	0,196	0,001	0,480	0,001

r – coeficiente de correlação; r² – coeficiente de determinação; β – coeficiente angular da reta de regressão; Sig – significância estatística

Em outro modelo, resumido na **tabela 9**, a variável LogPb-U foi preditiva em 10,8% (p=0,029) das alterações da variável dependente Ca/Cr, com valor β positivo.

Tabela 9 - Modelo de regressão múltipla com Ca/Cr como variável independente e com LogPb-U como variável independente.

Variável Independente	r	Sig r	r ²	Sig r ²	β	Sig β
LogPb-U	0,313	0,029	0,108	0,029	0,313	0,029

r – coeficiente de correlação; r² – coeficiente de determinação; β – coeficiente angular da reta de regressão; Sig – significância estatística

Foi construído também um modelo de regressão múltipla com a variável Pb-S sendo a variável dependente, no qual a ALA-D% foi capaz de predizer em 21,1% (p=0,000) as alterações nos níveis de chumbo em sangue, com valor de β positivo ($\beta=0,460$).

A construção de um modelo de regressão múltipla (**Figura 19**) com a razão cálcio/creatinina em urina com variável dependente e com ALA-U e Pb-U como variáveis independentes (**tabela 10**) mostrou que estes indicadores de exposição ao chumbo são capazes de simultaneamente explicar em 22,7% (p=0,003) as alterações na Ca/Cr, com valores de β positivo.

Tabela 10 - Modelo de regressão múltipla com Ca/Cr como variável independente.

Variáveis Independentes	r	Sig r	r ²	Sig r ²	β	Sig β
ALA-U	0,447	0,003	0,227	0,003	0,404	0,040
Pb-U					0,179	0,184

r – coeficiente de correlação; r² – coeficiente de determinação; β – coeficiente angular da reta de regressão; Sig – significância estatística

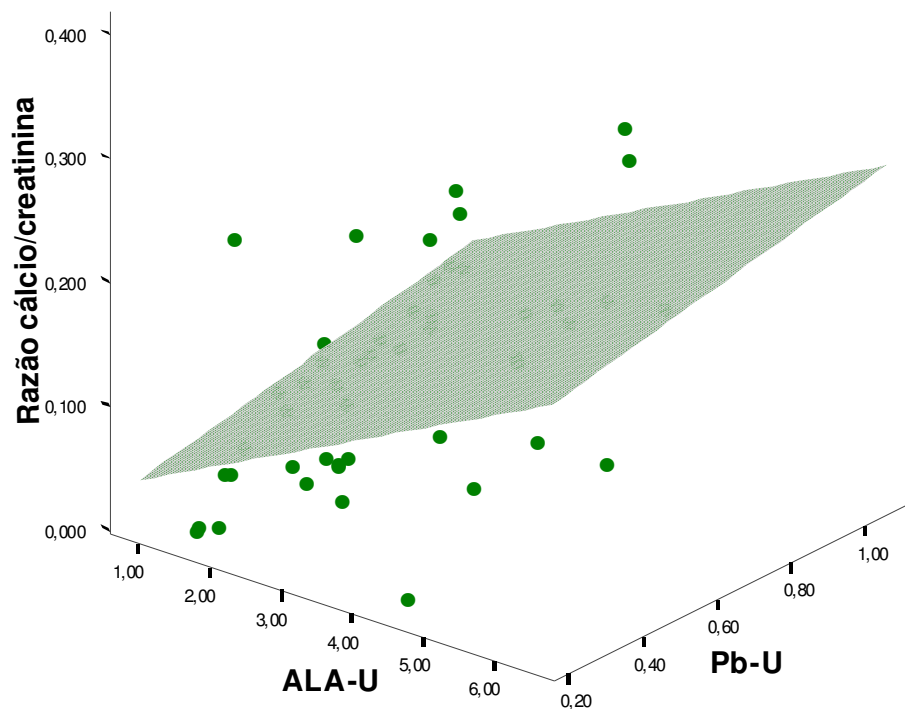


Figura 19 – Regressão múltipla com Ca/Cr como variável dependente e ALA-U e Pb-U como variáveis independentes.

IV.10 – ANÁLISE DE CURVA *RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC*

As curvas *receiver operator characteristic* (ROC) são tradicionalmente usadas para verificar a sensibilidade e a especificidade de diferentes pontos de corte uma variável em teste, capazes de diagnosticar um determinado estado de saúde. Os dados encontrados neste estudo permitiram a construção de uma curva ROC (**Figura 20**) testando a capacidade da variável ALA-D% de diagnosticar um estado de Pb-S acima de 6 μ g/dL. Como os modelos de regressão linear mostraram que a capacidade preditiva da ALA-D% em relação ao Pb-S, foi importante aprofundar a análise dessa relação com a construção da curva ROC.

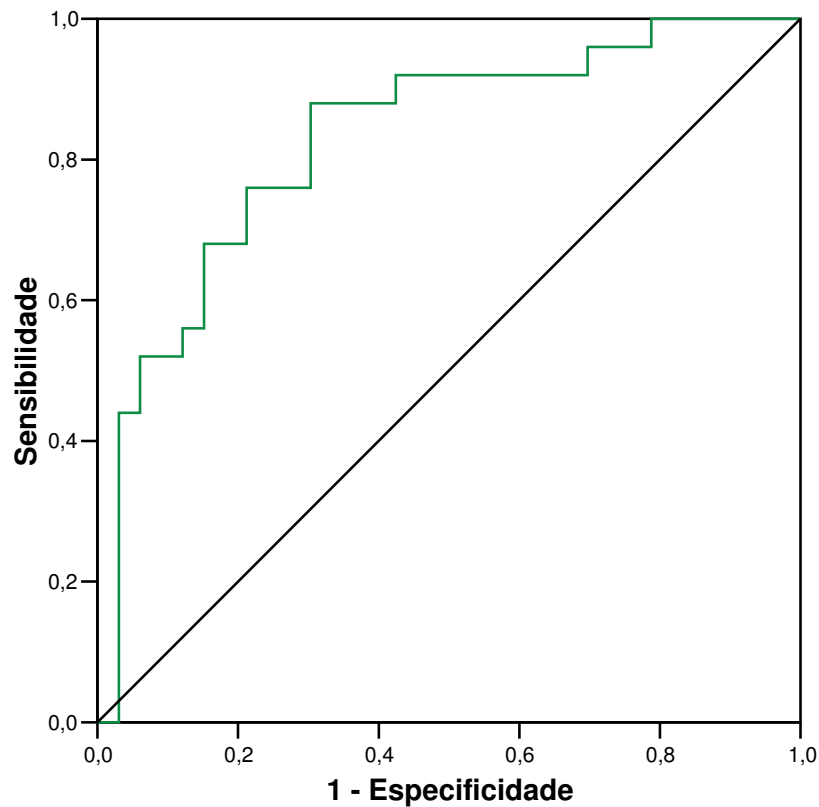


Figura 20 – Curva *receiver operator characteristic* para teste da variável ALA-D% quanto ao diagnóstico de Pb-S superior a 6µg/dL.

A área sob a curva resultante da análise foi 0,829 ($p=0,000$), de forma que a utilização do ponto de corte de ALA-D% de 40% se mostrou sensível e específica para diagnosticar um nível de Pb-S superior a 6µg/dL (sensibilidade = 88%; especificidade = 70%).

V - DISCUSSÃO

V.1 – DETERMINANTES SÓCIO-ECONÔMICOS E NUTRICIONAIS COMO MODULADORES DA VULNERABILIDADE AO CHUMBO

O *status* sócio-econômico de uma população afeta claramente as conseqüências da exposição ambiental a substâncias químicas. O Terceiro Exame Nacional de Saúde e Nutrição (NHANESIII), que estudou o nível de chumbo em sangue da população americana entre 1988 e 1991, mostrou que 21% das crianças dos subúrbios apresentavam níveis de chumbo em sangue iguais ou maiores ao máximo de 10µg/dL, limite recomendado pelo CDC, se comparadas com os 5,8% das crianças de áreas mais favorecidas. Quando classificadas pela renda, 18,3% das crianças das famílias de baixa renda apresentaram Pb-S maior do que 10µg/dL contra 5,4 e 4,0% das crianças das famílias de renda média e de alta renda. Desta forma, é possível observar claramente o papel do *status* sócio-econômico como determinante no aumento da probabilidade de exposição ao chumbo (Brody et al., 1994; Rutter, 1983).

Considerar o *status* sócio-econômico somente como um fator de confundimento é subestimar sua influência no contexto de exposição. Rutter (1983) atribuiu a maior vulnerabilidade de crianças de baixa renda a desenvolver efeitos neurotóxicos do chumbo ao seu *status* neuropsicológico enfraquecido pelas condições sócio-econômicas. Winneke & Kraemer (1984) confirmaram essa hipótese, mostrando que os determinantes sócio-econômicos interagiram com os efeitos do chumbo, no que diz respeito a aumento do tempo de resposta motora a estímulos visuais e a déficit motor, nas crianças mais pobres comparadas ao grupo controle de crianças mais favorecidas.

Bellinger (2000) relatou conclusões semelhantes em um estudo acerca da exposição pré-natal ao chumbo. Três grupos de crianças, como níveis de chumbo em sangue do cordão umbilical de 3µg/dL (baixo), 6µg/dL (médio) e >10µg/dL (alto) foram estudadas. O desenvolvimento neurológico das crianças foi avaliado após 6, 12, 16 e 24 meses após o nascimento. Durante os primeiros 24 meses, as crianças com maiores níveis de chumbo no cordão umbilical alcançaram pontuações menores em testes cognitivos do que as crianças com níveis médios ou baixos de chumbo em sangue. O *status* sócio-econômico exerceu um papel modulador nos efeitos da exposição ao chumbo. Dentro do grupo de crianças com maiores níveis de chumbo, aquelas que eram de famílias mais pobres apresentaram pior desenvolvimento cognitivo aos 24 meses de idade. O mesmo resultado foi encontrado dentro do grupo de crianças como níveis médios de chumbo em sangue do cordão umbilical.

Ainda que os mecanismos da ação do *status* sócio-econômico sobre a toxicidade do chumbo não tenham sido completamente sistematizados, existem outros estudos que corroboram com as evidências de que os determinantes sócio-econômicos influenciam não só a probabilidade de uma criança ser exposta ao chumbo, mas também a magnitude dos efeitos aos quais ela será submetida.

A população deste estudo habita uma comunidade localizada próxima de tráfego intenso e de grande poluição atmosférica, além de não possuir vegetação considerável, tornando-a mais vulnerável à circulação de agentes tóxicos no ar. O Parque João Goulard tem, como um de seus traços característicos, a composição demográfica de nível econômico desfavorecido. O baixo nível de instrução dos responsáveis, cuja maioria possui apenas o Ensino Fundamental incompleto, é um modulador de risco para a exposição ao chumbo e para o surgimento de muitas

patologias, tendo em vista que o grau de instrução é um determinante da compreensão de riscos e métodos de prevenção de estados patológicos.

Os riscos da exposição ao chumbo são ainda mais elevados pelas condições nutricionais resultantes de um baixo *status* sócio-econômico (Chisolm, 1996; Cheng et al., 1998). Além de aumentar a absorção do chumbo, as deficiências nutricionais têm o potencial de aumentar a toxicidade do chumbo no cérebro. *Kerper & Hinkle* (1997) mostraram que o chumbo diminui a concentração de cálcio intracelular das células endoteliais dos capilares cerebrais, enfraquecendo as junções que garantem a integridade da barreira hematoencefálica e causando seu rompimento.

A função do *status* nutricional na alteração da vulnerabilidade à toxicidade do chumbo foi reconhecida através de uma variedade de métodos capazes de estabelecer a relação entre chumbo e nutrientes. Modelos experimentais caso-controle em animais foram os percussores no estabelecimento dessa relação. Estudos em humanos demonstraram especificamente a caracterização das deficiências nutricionais como um mecanismo de vulnerabilidade seletiva à exposição ao chumbo (Mahaffey, 1995).

O estado nutricional como causa de várias doenças forma a base de muitos programas de Saúde Pública. Os alimentos e a água vêm sendo há muito tempo suplementados com vitaminas ou minerais em quantidades traço para a prevenção de doenças. Estudos experimentais, avaliações clínicas e epidemiológicas foram usados para estabelecer a associação entre o estado nutricional e a toxicidade do chumbo (Mahaffey, 1995).

Em adultos, a ingestão de chumbo durante período de jejum resulta em maior absorção do metal do que quando ele é ingerido juntamente com alimentos. *Rabinowitz et al.* (1980) relataram, por exemplo, que entre homens adultos, a

absorção de quantidades mínimas de chumbo ingerido sem alimentação concomitante ou anterior alcançava uma taxa de 35% enquanto somente 8,2% do chumbo ingerido com alimentos eram absorvidos. *Blake & Mann*. (1983) e *Flannagan et al.* (1982) também identificaram maior absorção de frações de chumbo quando havia presença de alimentação no trato gastrintestinal. Embora não existam dados provenientes de estudos experimentais com crianças, é extremamente provável que os resultados em adultos possam ser utilizados quando a população estudada é composta de crianças. Na verdade, é extremamente provável também que o aumento na absorção de chumbo em estados de deficiência nutricional seja mais importante na população infantil, tendo em vista que a absorção gastrintestinal de crianças é mais rápida e eficiente.

O aumento no aparecimento e na magnitude dos efeitos tóxicos da exposição ao chumbo ocorre principalmente em três estados nutricionais: ingestão irregular de alimentos, ingestão deficiente de cálcio e baixa ingestão de ferro. Programas de intervenção em Saúde Pública, direcionados para a prevenção da exposição ao chumbo, devem incluir o componente nutricional como estratégia de redução tanto da carga corpórea de chumbo quanto dos efeitos tóxicos decorrentes da absorção do metal.

No caso específico da exposição ao chumbo, os principais nutrientes a serem considerados são ferro e cálcio. A deficiência de ferro é um dos distúrbios mais comuns da atualidade e pode dar margem ao surgimento de anemia ferropriva, que compromete a síntese de hemácias. Baixas quantidades de ferro também são associadas ao aumento dos níveis de indicadores biológicos de exposição ao chumbo (Engstron, 2002).

Estudos extensivos indicaram que a ingestão de cálcio e o *status* nutricional de cálcio podem influenciar a vulnerabilidade à toxicidade do chumbo. A compreensão

das funções celulares mediadas por cálcio possibilitou a postulação da hipótese de que um mecanismo de substituição de Ca^{2+} por Pb^{2+} nessas funções pode exercer um papel central na toxicidade do chumbo. Alterações no desenvolvimento do esqueleto e na regulação da densidade da estrutura óssea assumiram um significado particular nos estudos clínicos, tendo em vista a ação do osso como principal reservatório biológico para chumbo e também para cálcio. Muitos pesquisadores observaram que ratos submetidos a uma dieta deficiente em cálcio apresentavam concentrações de chumbo em sangue quatro vezes maior do que ratos com ingestão normal de cálcio, mesmo quando as quantidades de chumbo ingerido eram iguais. As concentrações de chumbo no osso também foram elevadas em casos que os animais apresentavam deficiências nutricionais de cálcio (Mahaffey, 1995).

As crianças deste estudo apresentaram deficiências na ingestão de ferro, cálcio, vitamina D e calorias, caracterizando sua inserção em um grupo de risco nutricional. Esta caracterização define a maior vulnerabilidade destas crianças, não só à exposição ao chumbo, mas também ao surgimento de diversas patologias, condicionadas, por exemplo, ao enfraquecimento do organismo por nutrição insuficiente. As diferenças da ingestão de nutrientes entre os grupos de idade definidos pela Recomendação Diária Aceitável e as correlações positivas entre a ingestão de diferentes nutrientes observadas neste estudo evidenciam a consistência da utilização da estimativa de consumo como metodologia para avaliação do *status* nutricional.

V.2 – ASSOCIAÇÃO DE INDICADORES AMBIENTAIS E BIOLÓGICOS NA MONITORIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO

Estudos recentes demonstraram a existência de efeitos neurológicos e cognitivos em crianças a níveis cada vez mais baixos de chumbo em sangue (Pb-S). O valor de 10µg/dL preconizado pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) americano deve ser compreendido com um valor somente indicativo, acima do qual intervenções são necessárias. Além disso, o Exame Nacional de Saúde e Nutrição (NHANESIII) realizado pela mesma instituição avaliou concentrações de Pb-S em crianças da população americana, indicando que elas continuam a decair e que as concentrações em crianças com idade entre 1 e 5 anos parecem ser mais altas entre as populações mais pobres, residentes em grandes áreas metropolitanas (Soldin et al., 2003).

Desta forma, considerando que *Sakai e Morita* (1996) verificaram os níveis de alguns indicadores de exposição ao chumbo, como também avaliaram o valor diagnóstico destes parâmetros, demonstrando que a inibição da ALA-D ocorreu em um nível de chumbo em sangue muito pequeno ($\pm 5\mu\text{g/dL}$), foi adotado um ponto de corte de 6µg/dL para avaliação das alterações (Soldin et al., 2003). A adoção desse valor é justificada também pelos relatos de ocorrência de efeitos neurológicos a níveis de Pb-S de 5µg/dL (Bellinger, 2004).

O percentual de crianças com nível de chumbo em sangue acima do ponto de corte adotado é bastante considerável do ponto de vista da Saúde Pública, tendo em vista que aproximadamente metade da população estudada está suscetível aos efeitos tóxicos do chumbo. Essa susceptibilidade é confirmada em razão da correlação entre Pb-S e ALA-D% e da diferença entre as médias de ALA-D% dos grupos

determinados pelo ponto de corte de $6\mu\text{g/dL}$ de Pb-S. A ALA-D% é um indicador que demonstra efeito tóxico precoce da exposição ambiental ao chumbo e suas alterações representam a ocorrência da ação do chumbo no organismo.

Além disso, os modelos de regressão múltipla evidenciaram a capacidade da ALA-D% de, a partir de alterações em seus valores, explicar as alterações do nível de chumbo em sangue. A análise de curva ROC demonstrou a forte possibilidade de utilização do valor de referência atual para ALA-D% de 40% como um ponto de corte capaz de diagnosticar níveis de chumbo em sangue superiores a 6mg/dL . Para o valor de 40% de ALA-D% foi calculado 88% de sensibilidade – possibilidade de um estado positivo ser diagnosticado como positivo, isto é, de evitar o erro tipo I (falsos positivos) – e 70% de especificidade – possibilidade de um estado negativo ser diagnosticado como negativo, isto é, de evitar o erro tipo II (falsos negativos).

O ALA-U foi capaz de reconhecer o grupo mais vulnerável aos efeitos tóxicos do chumbo, como foi demonstrado pela análise de variância. Ainda que esta mesma análise não tenha mostrado diferenças significativas entre os grupos de idade para os outros indicadores, foi possível observar que para todos eles a maior média encontrada era a do grupo de crianças mais novas (grupo 1), ficando evidenciada o condicionamento da vulnerabilidade das crianças à idade.

A monitorização biológica vem sendo utilizada com crescente confiabilidade em estudos acerca da exposição ao chumbo. A monitorização ambiental, entretanto, tem se mostrado útil para oferecer informações adicionais acerca do contexto de exposição ao chumbo e das características do ambiente no qual os indivíduos estudados estão inseridos. A análise das Doses Potenciais e dos Fatores de Risco Neurológico demonstrou que a população estudada vive em uma área onde há níveis

consideráveis de chumbo em matrizes ambientais, que oferecem uma maior probabilidade de exposição ao metal.

A associação da utilização de indicadores biológicos e ambientais na monitorização da exposição ambiental ao chumbo é, portanto, um meio de determinar as características e a magnitude da exposição de forma consideravelmente fidedigna. Essa associação oferece subsídios importantes para a determinação de estratégias de minimização dos riscos oferecidos pela exposição o chumbo.

V.3 – RAZÃO CÁLCIO/CREATININA EM URINA COMO PARÂMETRO LABORATORIAL EM POPULAÇÃO EXPOSTA AO CHUMBO

A análise da excreção de cálcio vem sendo utilizada há algumas décadas como um parâmetro de desequilíbrios metabólicos que poderiam resultar em um quadro patológico de nefrolitíase, especialmente aquele relacionado à hipercalciúria. Tradicionalmente, a excreção urinária de cálcio e de outros eletrólitos era determinada por coletas de urina de 24 horas. Considerando, entretanto, a dificuldade de obter uma amostra de urina de 24 horas corretamente coletada, especialmente em crianças, a análise em amostra única de urina, corrigida pela creatinina, foi introduzida como método de *screening*. Estudos subsequentes se empenharam em determinar a validade dessa metodologia de análise e muitos encontraram correlações positivas com a análise em amostra de 24 horas. Assim, a utilização, por exemplo, da razão cálcio/creatinina em urina (Ca/Cr) passou a ser considerada como um método válido e capaz de substituir a análise em urina de 24 horas no diagnóstico de hipercalciúria (Sweid et al., 1997).

As orientações de estudos internacionais aconselham a adoção de um valor de referência para cada população estudada, considerando as variações demográficas e

geográficas entre diferentes populacionais. A padronização de um valor de referência deve ser realizada em população saudável, sobretudo no que diz respeito à nutrição, tornando impossível sua realização na população deste estudo. No Brasil, há poucos estudos acerca da razão cálcio/creatinina em urina, mas *Penido* (1995) encontrou, em população mineira saudável (n=125) com idades variando de 2 a 18 anos, um valor máximo de Ca/Cr de 0,25mg/mg, próximo ao valor de referência de 0,21mg/mg, que foi, portanto utilizado neste estudo.

Os valores da razão cálcio/creatinina em urina encontrados nas crianças deste estudo apresentaram conformidade com os valores observados em muitos outros estudos anteriores. Foi observado um decréscimo da Ca/Cr em função do aumento da idade, ainda que o teste de análise de variância não tenha apontado diferenças significativas entre os grupos de idade. As proporções de crianças saudáveis e de crianças com diagnóstico de hipercalciúria não apresentaram discrepâncias com as proporções de uma parte considerável dos estudos analisados através do teste chi-quadrado.

Os sintomas decorrentes da hipercalciúria são: dor abdominal, hematúria, infecção urinária e incontinência urinária; e a continuidade deste quadro pode evoluir para um cálculo renal e mesmo para o comprometimento da densidade óssea (*Penido*, 1995). Alguns fatores de risco urinários contribuem para a formação de cálculos renais, como o a concentrações de cálcio urinário (*Sargent et al.*, 1993). A relação entre a presença de cristais de oxalato de cálcio e a razão cálcio/creatinina, evidenciada pelo teste chi-quadrado para duas amostras, confirmou sua capacidade de apontar a possibilidade de surgimento de nefrolitíase.

A associação entre razão cálcio/creatinina e exposição ao chumbo foi evidenciada pelas correlações e regressões com indicadores biológicos de exposição

e de efeito. Os resultados das regressões não garantem, entretanto, uma relação de causalidade, mas sim uma associação no sentido de que o conhecimento do aumento nos níveis dos indicadores de exposição pode predizer um aumento na excreção de cálcio em urina. A relação causa/efeito pode ser parcialmente compreendida, entretanto, pela capacidade do chumbo de competir com o cálcio em reações enzimáticas, de alterar a regulação de seu metabolismo (interferindo na síntese da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$), de modificar a atividade dos receptores de cálcio e de inibir a transcrição das proteínas de ligação ao cálcio (calbindinas-D) (Mahaffey, 1995).

A razão cálcio/creatinina mostrou-se como um indicativo das alterações fisiológicas causadas pela exposição ao chumbo, revelando a perda de cálcio e o risco de desenvolvimento de nefrolitíase. Ainda que estudos mais aprofundados para determinação de aspectos específicos da utilização clínica da razão cálcio/creatinina sejam necessários, é plausível considerar que um aumento nesta razão pode significar a ação indireta do chumbo em outros mecanismos orgânicos. Desta forma, parece ser prudente e necessária a inclusão da razão cálcio/creatinina em métodos estratégicos de delineamento e prevenção da toxicidade do chumbo, especialmente em crianças, na tentativa de desenvolvimento e consolidação de ações eficazes em Saúde Pública.

VI – CONCLUSÕES

- ❖ Com relação aos aspectos sócio-econômicos e demográficos, a população estudada é caracterizada como desfavorecida, apresentando adultos com escolaridade baixa e instrução em nível funcional. A área de estudo foi identificada pela proximidade do tráfego e de potenciais fontes de emissão de chumbo, e pela escassez de vegetação.
 - ❖ Quanto à análise das variáveis nutricionais, foi observado que as crianças estudadas apresentam ingestão inferior à recomendada para os nutrientes: ferro, cálcio e vitamina D, caracterizando a inclusão da população em um grupo de risco nutricional. As correlações os nutrientes e suas diferenças por grupo de idade evidenciaram a validade do questionário de estimativa de consumo como metodologia para avaliação do *status* nutricional.
 - ❖ A observação dos valores dos indicadores de exposição ao chumbo mostrou que aproximadamente metade da população pode ser considerada como ambientalmente exposta, com base no ponto de corte de chumbo em sangue adotado e na validade nos indicadores de efeito utilizados. Foi evidenciada a vulnerabilidade das crianças mais novas à exposição ambiental ao chumbo.
 - ❖ A análise das matrizes ambientais revelou que a população está inserida em um ambiente com risco de exposição considerável, tendo em vista, por exemplo, o fator de risco neurológico calculado para ingestão, que superou em 13 vezes a dose de referência.
 - ❖ A análise da relação urinária cálcio/creatinina, considerando o valor de referência utilizado internacionalmente, permitiu observar que 12% das crianças têm
-

diagnóstico de hipercalciúria, que tem sido associada ao desenvolvimento de nefrolitíase e de osteoporose na idade adulta. Foi observada diferença entre as médias de Ca/Cr das crianças saudáveis e das crianças com hipercalciúria.

- ❖ A incidência de cristais de oxalato de cálcio em urina foi muito superior nas crianças com Ca/Cr superior ao valor de referência do que nas crianças saudáveis. A análise estatística mostrou a existência de uma associação entre a presença de cristais de oxalato de cálcio e a razão cálcio creatinina.
 - ❖ As proporções de crianças saudáveis e hipercalciúricas mostraram concordância com as proporções relatadas em outros estudos. Os valores da Ca/Cr e suas médias por grupo etário decresceram com o aumento da idade, evidenciando que esta variável apresentou dinâmica semelhante à descrita em estudos anteriores.
 - ❖ No estudo da interação da Ca/Cr com outras variáveis foram encontradas correlações positivas e significativas com os valores de Pb-U e com os valores de ALA-U. Os modelos de regressão linear, construídos para avaliar as relações entre as variáveis estudadas, demonstraram que a variável ALA-U foi capaz de prever em 19,6% e a variável LogPb-U em 10,8 % as alterações nos níveis de Ca/Cr. Há, portanto, uma relação direta, mas não necessariamente causal, entre a exposição ao chumbo e o aumento da excreção de cálcio, confirmando interferência do chumbo na homeostase do cálcio.
 - ❖ Embora o aprofundamento do estudo seja necessário para determinar características específicas de Ca/Cr e para estabelecer os mecanismos de interferência do chumbo na homeostase do cálcio, pode-se concluir que a análise da Ca/Cr é importante para a verificação de alterações estruturais no organismo, sobretudo aquelas relacionadas à saúde óssea e renal, e para a integralização,
-

como ferramenta clínica, de programas em Saúde Pública, direcionados à prevenção da exposição ao chumbo, buscando promoção de saúde e melhoria da qualidade de vida da população infantil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON, J.H.; ABRAMSON, Z.H. *Survey Methods in Community Medicine, 5ed.* London: Livingstone, 2000.

ACGIH. *Lead - Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices.* Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2004.

AGUILAR-GARDUÑO, C.; LACASAÑA, M.; TELLES-ROJO, M.M.; AGUILAR-MADRID, G.; SANIN-AGUIRRE, L.H.; ROMIEU, I. et al. Indirect Lead Exposure Among Children of Radiator Repair Workers. *American Journal of Industrial Medicine*, v.43, p.662-667, 2003.

AHAMED, M.; VERMA, S.; KUMAR, A.; SIDDIQUI, M.K.J. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Science of the Total Environment*, v.346, p.48-55, 2005.

AITIO, A.; KALLIO, A. Exposure and Effect Monitoring: A Critical Appraisal of their Practical Application. *Toxicology Letters*, v.108, p.137-147, 1999.

AKNESS, L. A simplified HPLC method for determination of vitamin D₃, 25-OHD₂ and 25OHD₃ in human serum. *Scand J Clin Lab Invest*, v.520, p.177-182, 1992.

ALBRIGHT, F.; HENNEMAN, P.; BENEDICT, P.; FORBES, A. Idiopathic hypercalciuria - A preliminary report. *Proc R Soc Med*, v.46, p.1077-1081, 1953.

ALCONCHER, L.F.; CASTRO, C.; QUINTANA, D.; ABT, N.; MORAN, L.; GONZALEZ, L.; CELLA, M.; TORELLI, M. Urinary calcium excretion in healthy school children. *Pediatr Nephrol*, v.11, p.186-188, 1997.

ALLGROVE, J. Disorders of calcium metabolism. *Current Pediatrics*, v.13, p.529-535, 2003.

ALON, U.; WARADY, B.A.; HELLERSTEIN, S. Hypercalciuria in the frequency-dysuria syndrome of childhood. *J Pediatr*, v.116, p.103-105, 1990.

AL-SALEH, I.; NESTER, M.; DEVOL, E. et al. Relationship between blood lead concentrations, intelligence, and academic achievement of Saudi Arabian schoolgirls. *Int J Hyg Environ Health*, v.204, p.165-174, 2001.

ANDERSON, J.M. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport. *News Physiol Sci*, v.16, p.126-130, 2001.

ANTTILA, A.; HEIKKILA, P.; PUKKALA, E.; NYKYRI, E.; KAUPPINEN, T.; HERNBERG, S.; HEMMINKI, K. Excess lung cancer among workers exposed to lead. *Scand J Work Environ Health*, v.21, p.460-469, 1995.

APOSTOLI, P.; KISS, P.; PORRU, S.; BONDE, J.P.; VANHOORNE, M. Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. *Occup Environ Med*, v.55, p.364-74, 1998.

- ASTRIN, K.H.; BISHOP, D.F.; WETMUR, J.G.; KAUL, B.; DAVIDOW, B.; DESNICK, R.J. δ -aminolevulinic acid dehydratase isozymes and lead toxicity. *Ann NY Acad Sci*, v.514, p.23–29, 1987.
- ATSDR. *Toxicological Profile for Lead*. U.S. Department of Health & Human Services, 1999.
- ATSDR. *Toxicological Profile for Lead*. U.S. Department of Health & Human Services, 2005.
- AU, W.W.; LEE, E.; CHRISTIANI, D C. Biomarker Research in Occupational Health. *JOEM*, v.47, no.2, p.145-151, 2005.
- AUDRAN, M.; LEGRAND, E. Hypercalciuria. *Joint Bone Spine*, v.67, p.509-515, 2000.
- BA, J.; BROWN, D.; FRIEDMAN, P.A. Calcium-sensing receptor regulation of PTH-inhibitable proximal tubule phosphate transport. *Am J Physiol Renal Physiol*, v.285, p.1233–1243, 2003.
- BELL, N.H.; YERGEY, A.L.; VIEIRA, N.E.; OEXMANN, M.J.; SHARY, J.R. Demonstration of a difference in urinary calcium, not calcium absorption, in black and white adolescents. *J Bone Miner Res*, v.8, p.1111–1115, 1993.
- BELLINGER, D. C. Lead. *Pediatrics*, v.113, no.4, p.1016-1021, 2004.
- BELLINGER, D.C. Effect modification in epidemiological studies of low-level neurotoxicante exposures and health outcomes. *Neurotoxicol Teratol*, v.22, p.133-140, 2000.
- BENKMANN, H.G.; BOGDANSKI, P.; GOEDDE, H.W. Polymorphism of delta-aminolevulinic acid ehydratase in various populations. *Hum Hered*, v.33, p.2–4, 1983.
- BERGLUND, M.B.L.; SÖRENSEN, S.; VAHTER, M. Impact of soil and dust lead on children's blood lead in contaminated areas of Sweden. *Archives of Environmental Health*, v.55, no.2, p.93-97, 2000.
- BERTAZZI, P. A.Occupational Medicine in Italy: 1906, 2006 and beyond. *Med. Lav*, v.91, no.5, p.501-505, 2000.
- BETTINELLI, A.; TEDESCHI, S. Ipotassiemia ed ipomagnesiemia di origine renale tubulare. Le sindromi di Bartter e di Gietelam. *Acta Bio Medica Ateneo Parmiesne*, v.74, p.163-167, 2003.
- BIANCHETTI, M.G.; EDEFONTI, A.; BETTINELLI, A. The biochemical diagnosis of Gitelman disease and the definition of "hypocalciuria". *Pediatr Nephrol*, v.18, p.409–411, 2003.
- BINDELS, R.J. Calcium handling by the mammalian kidney. *J Exp Biol*, v.184, p.89–104, 1993.
- BINDELS, R.J.; HARTOG, A.; ABRAHAMSE, S.L.; VAN OS, C.H. Effects of pH on apical calcium entry and active calcium transport in rabbit cortical collecting system. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol*, v.266, p.620–627, 1994.
-

BLAKE, K.C.H.; MANN, M. Effect of calcium and phosphorous on the absorption of 203 lead in man. *Environ Res*, v.30, p.188-194, 1983.

BLUMBERG, W.E.; EISINGER, J.; LAMOLA, A.A The hematofluorometer. *Clin Chem*, v.23, p.270–274, 1977.

BONASSI, S. Biomarkers in Molecular Epidemiology Studies for Health Risk Prediction. *Mutat. Res*, v.511, no.1, p.73-86, 2002.

BOUTON, C.M.; HOSSAIN, M.A.; FRELIN, L.P.; LATERRA, J.; PEVSNER, J. Microarray analysis of differential gene expression in lead-exposed astrocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*, v.176, p.34–53, 2001.

BRESSIER, J.; KIM, K.; CHAKRABORTI, T.; GOLDSTEIN, G. Molecular Mechanisms of Lead Neurotoxicity. *Neurochemical Research*, v.24, no. 4, p.595-600, 1999.

BRESSLER, J.; KIM, K.A.; CHAKRABORTI, T.; GOLDSTEIN, G. Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochem Res*, v.24, p.595-600, 1999.

BRODY, D.J.; PIRKLE, J.L.; KRAMER, R.A.; FLEGAL, K.M.; MATTE, T.D.; GUNTER, E.W. et al. Blood levels in the U.S. population. Phase 1 of the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III, 1988 to 1991). *JAMA*, v.272, p.277-283, 1994.

BRONNER, F.; PANSU, D. Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr*, v.129, p.9–12, 1999.

BRONNER, F.; PANSU, D.; STEIN, W.D. An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine. *Am J Physiol (Gastroint and Liver Physiol)*, v.250, p.561–569, 1986.

BUSHINSKY, D.A. Calcium, magnesium, and phosphorus: Renal handling and urinary excretion. In: FAVUS M.J. (ed.) *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 4ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

BUSHINSKY, D.A. Disorders of calcium and phosphorus homeostasis. In: GREENBERG A. *Primer on Kidney Diseases*. 3ed. San Diego: Academic Press, 2001.

BUTANI, L.; KALIA, A. Idiopathic hypercalciuria in children – how valid are the existing diagnostic criteria?. *Pediatr Nephrol*, v.19, p.577-582, 2004.

CANDELA, S.; FERRI, F.; OLMI, M.; Lead Exposure in the Ceramic Tile Industry: Time Trends and Current Exposure Level. *Ann. Inst. Super Sanita*, v.34, no.1, p.137-143, 1998.

CDC. Blood Lead Levels in Young Children – United States and Selected States: 1996-1999. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, v.49, no.50, p.1133-1137, 2000.

CDC. *Preventing Lead Poisoning in Young Children*. US Dept. of Health and Human Services, 1991.

CHEN, Y.H.; LEE, A.J.; CHEN, C.H.; CHESNEY, R.W.; STAPLETON, F.B.; ROY, S. Urinary mineral excretion among normal Taiwanese children. *Pediatr Nephrol*, v.8, p.36–39, 1994.

CHENG, Y.; WILLETT, W.C.; SCHWARTZ, J.; SPARROW, D.; WEISS, S.; HU, H. Relation of nutrition to bone lead and blood lead levels in middle-aged to elderly men. The Normative Aging Study. *Am J Epidemiol*, v.147, p.1162-1174, 1998.

CHISOLM, J.J. Medical management. In: PUESCHEL, S.M.; LINAKIS, J.G.; ANDERSON, A.C. (ed.). *Lead poisoning in childhood*. Baltimore: P.H. Brookes, 1996

COBAYASHI, F. Cálcio: seu papel na nutrição e saúde. *Compacta Nutrição*, v.5, no.2, p.01-18, 2004.

CORDEIRO, R. *Quando Começa o Saturnismo?*. Tese [Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas], 1995.

DE SANTO, N.G.; DI IORIO, B.; CAPASSO, G.; PADUANO, C.; STAMLER, R.; LANGMAN, C.B.; STAMLER, J. Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr Nephrol*, v.6, p.149-157, 1992.

DELLA ROSA, H.V.; SIQUEIRA, M.E.P.B.; FERNÍCULA, N.A.G.G. *Monitorização Biológica da Exposição Humana a Agentes Químicos*. São Paulo: Ed. Hucitec, 1991.

DIAMOND, G.L.; GOODRUM, P.E.; FELTER, S.P.; RUOFF, W.L. Gastrointestinal absorption of metals. *Drug Chem Toxicol*, v.21, p.223-251, 1998.

DÍAZ, J. A. C. *Hipocalciúria por inmovilización en el niño*. Tese [Doutorado em Pediatria, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona], 2003.

EBNET, K.; AURRAND-LIONS, M.; KUHN, A.; KIEFER, F.; BUTZ, S.; ZANDER, K.; MEYER ZU BRICKWEDDE, M.K.; SUZUKI, A.; IMHOF, B.A.; VESTWEBER, D. The junctional adhesion molecule (JAM) family members JAM-2 and JAM-3 associate with the cell polarity protein PAR-3: a possible role for JAMs in endothelial cell polarity. *J Cell Sci*, v.116, p.3879-3891, 2003.

ENGSTRON, E. M. (org.) *SISVAN – Instrumento para o Combate aos Distúrbios Nutricionais em Serviços de Saúde – O Diagnóstico Nutricional*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002.

EPA. Lead. *Protection Human Health*, 1989.

FERGUSON, C.; KERN, M.; AUDESIRK, G. Nanomolar concentrations of inorganic lead increase Ca²⁺ efflux and decrease intracellular free Ca²⁺ ion concentrations in cultured rat hippocampal neurons by a calmodulin-dependent mechanism. *Neurotoxicology*, v.21, p.365-378, 2000.

FEWTRELL, L.J.; PRÜSS-ÜSTÜN, A.; LANDRIGAN, P.; AYUSO-MATEOS, J.L. Estimating the Global Burden of Disease Retardation disease from Environmental Lead Exposure. *Environmental Research*, v.94, p.120-133, 2004.

FIVUSH, B. Irritability and dysuria in infants with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr Nephrol*, v.4, p.262-263, 1990.

FIXEMER, T.; WISSENBACH, U.; FLOCKERZI, V.; BONKHOF, H. Expression of the Ca²⁺-selective cation channel TRPV6 in human prostate cancer: a novel prognostic marker for tumor progression. *Oncogene*, v.22, p.7858–7861, 2003.

FLANNAGAN, P.R.; CHAMBERLAIN, M.J.; VALBERG, L.S. The relationship between iron and lead absorption in humans. *Am J Clin Nutr*, v.38, p.334-335, 1982.

FLEET, J.C.; BRADLEY, J.; REDDY, G.S.; RAY, R.; WOOD R.J. 1,25-(OH)₂-vitamin D₃ analogs with minimal in vivo calcemic activity can stimulate significant transepithelial calcium transport and mRNA expression in vitro. *Arch Biochem Biophys*, v.329, p.228–234, 1996.

FLEET, J.C.; EKSIR, F.; HANCE, K.W.; WOOD R.J. Vitamin D-inducible calcium transport and gene expression in three Caco-2 cell lines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, v.283, p.G618–G625, 2002.

FLEET, J.C.; WOOD R.J. Specific 1,25(OH)₂D₃-mediated regulation of transcellular calcium transport in Caco-2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, v.276, p.G958–G964, 1999.

FRIEDMAN, P.A.; COUTERMARSH, B.A.; KENNEDY, S.M.; GESEK, F.A. Parathyroid hormone stimulation of calcium transport is mediated by dual signaling mechanisms involving protein kinase A and protein kinase C. *Endocrinology* v.137, p.13–20, 1996.

FRIEDMAN, P.A.; GESEK, F.A. Calcium transport in renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol*, v.264, p.181–198, 1993.

FU H.; BOFFETTA, P. Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds: a meta-analysis of published data. *Occup Environ Med*, v.52, p.73–81, 1995.

FUKUI, Y.; MIKI, M.; UKAI, H.; OKAMOTO, S.; TAKADA, S.; HIGASHIKAWA, K.; IKEDA, M. Urinary lead as a possible surrogate of blood lead among workers occupationally exposed to lead. *Int Archives of Occupational and Environmental Health*, v.72, p.516-520, 1999.

GAMBA, G.; MIYANOSHITA, A.; LOMBARDI, M.; LYTTON, J.; LEE, W.S.; HEDIGER, M.A.; HEBERT, S.C. Molecular cloning, primary structure, and characterization of two members of the mammalian electroneutral sodium-(potassium)-chloride cotransporter family expressed in kidney. *J Biol Chem*, v.269, p.17713–17722, 1994.

GARCIA, N.H.; RAMSEY, C.R.; KNOX, F.G. Understanding the role of paracellular transport in the proximal tubule. *News Physiol Sci*, v.13, p.38–43, 1998.

GENNERO, I.; MOULIN, P.; EDOUARD, T.; CONTE-AURIOL, F.; TAUBER, M.T.; SALLES, J.P. Métabolisme minéral osseux : données récentes et perspectives relatives à l'ostéogénèse. *Archives de pédiatrie*, v.11, p.1473-1483, 2004.

GHAZALI, S.; BARRATT, T.M. Urinary excretion of calcium and magnesium in children. *Arch Dis Child*, v.49, p.97–101, 1974.

GIANNINI, S.; NOBILE, M.; SARTORI, L.; CALO, L.; TASCA, A.; DALLE CARBONARE, L.; CIUFFREDA, M.; D'ANGELO, A.; PAGANO, F.; CREPALDI, G. Bone

density and skeletal metabolism are altered in idiopathic hypercalciuria. *Clin Nephrol* v.50, p.94–100, 1998.

GIULIANO, A.R.; WOOD, R.J. Vitamin D-regulated calcium transport in Caco-2 cells: unique in vitro model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, v.260, p.207-212, 1991.

GOLDSBERG, M.; LEVIN, S.M.; DOUCETTE, J.T.; GRIFFIN, G.A. Task-based Approach to Assessing Lead Exposure Among Iron Workers Engaged in Bridge Rehabilitation. *Am. J. Ind. Med.*, v.32, no.3, p.310-318, 1997.

GONZALEZ-MARISCAL, L.; BETANZOS, A.; NAVA, P.; JARAMILLO, B.E. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol*, v.81, p.1–44, 2003.

GRESSENS, P.; MESPLES, B.; SAHIR, N.; MARRET, S.; SOLA, A. Environmental factors and disturbances of brain development. *Semin Neonatol*, v.6, p.185–94, 2001.

GULSON, B.L.; CAMERON, M.A.; SMITH, A.J. et al. Blood Lead-Urine Lead Relationships in Adults and Children. *Environ. Res.*, v.78, p.152-160, 1998.

GUTHRIE, D.; YUCHA, C. Renal homeostasis of calcium. *Nephrology Nursing Journal*, v.30, no.6, p.621-626, 2003.

HAAS, M.; FORBUSH, B. The Na-K-Cl cotransporters. *J Bioenerg Biomembr*, v.30, p.1-172, 1998.

HEILBERG, I.P. Update on dietary recommendations and medical treatment of renal stone disease. *Nephrol Dial Trasplant*, v.15, p.117-123, 2000.

HILGENFELD, M.S.; SIMON, S.; BLOWEY, D.; RICHMOND, W.; ALON, U.S. Lack of seasonal variations in urinary calcium/creatinine ratio in school-age children. *Pediatr Nephrol*, v.19, p.1153-1155, 2004.

HOENDEROP, J.G.; DE PONT, J.J.; BINDELS, R.J.; WILLEMS, P.H. Hormone-stimulated Ca₂₊ reabsorption in rabbit kidney cortical collecting system is cAMP-independent and involves a phorbol ester-insensitive PKC isotype. *Kidney Int*, v.55, p.225–233, 1999.

HOENDEROP, J.G.; NILIUS, B.; BINDELS, R.J. Molecular mechanism of active Ca₂₊ reabsorption in the distal nephron. *Annu Rev Physiol*, v.64, p.529–549, 2002.

HOENDEROP, J.G.; VAN DER KEMP, A.W.; HARTOG, A.; VAN DE GRAAF, S.F.; VAN OS, C.H.; WILLEMS, P.H.; BINDELS, R.J. Molecular identification of the apical Ca₂₊ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J Biol Chem*, v.274, p.8375–8378, 1999.

HOSODA, K.; SAKURAI, H.; OMAE, K.; KAMAKURA, M.; SATHO, T. Δ -aminolevulinic acid in blood as an indicator of early health effect of lead. *Jpn J Ind Health*, v.31, p.240–241, 1989.

HOUILLIER, P.; ELADARI, D.; MARUANI, G.; PAILLARD, M. Récepteur sensible au calcium : physiologie et pathologie. *Arch Pédiatr*, v.8, p.516-524, 2001.

IARC (International Agency for Research on Cancer). *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans – Volume 87: Lead*. Lyon: IARC, 2006.

IPCS. *Environmental Health Criteria for Inorganic Lead*. Geneva: WHO, 1999.

JAEGER, P.; LIPPUNER, K.; CASEZ, J.P.; HESS, B.; ACKERMAN, D.; HUG, C. Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Min Res*, v.9, p.1525–1532, 1994.

KALIA, A.; TRAVIS, L.B.; BROUHARD, B.H. The association of idiopathic hypercalciuria and asymptomatic gross hematuria in children. *J Pediatr*, v.99, p.716–719, 1981.

KANEKO, K.; CHIBA, M.; HASHIZUME, M.; KUNIL, O.; SASAKI, S.; SHIMODA, T.; YAMASHIRO, Y. Extremely high prevalence of hypercalciuria in children living in the Aral Sea region. *Acta Pediatr*, v.91, p.1116–1120, 2002.

KELADA, S.M.; SHELTON, E.; KAUFMANN, R.B. δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Genotype and Lead Toxicity: A huge review. *Am. J. Epidemiol*, v.154, no.1, p.1–13, 2001.

KELSEY, J.E.; WHITTEMORE, A.S.; EVANS, A.S.; THOMPSON, D. *Methods in Observational Epidemiology, 2nd edition*. New York: Oxford University Press, 1996.

KERPER, L.E.; HINKLE, P.M. Lead uptake in brain capillary endothelial cells: activation by calcium store depletion. *Toxicol Appl Pharmacol*, v.146, p.127–133, 1997.

KOSTER, H.P.; HARTOG, A.; VAN OS, C.H., BINDELS, R.J. Calbindin-D28K facilitates cytosolic calcium diffusion without interfering with calcium signaling. *Cell Calcium*, v.18, p.187–196, 1995.

LAJEUNESSE, D.; BOUHTIAUY, I.; BRUNETTE, M.G. Parathyroid hormone and hydrochlorothiazide increase calcium transport by the luminal membrane of rabbit distal nephron segments through different pathways. *Endocrinology*, v.134, p.35–41, 1994.

LAMOLA, A.A.; YAMANE, T. Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia. *Science*, v.186, p.936–938, 1974.

LANPHEAR, B.P.; DIETRICH, K.; AUINGER, P.; COX C. Cognitive deficits associated with blood lead concentrations <10mg/dl in US children and adolescents. *Public Health Rep*, v.115, p.521–529, 2000.

LARSSON, D.; NEMERE, I. Vectorial transcellular calcium transport in intestine: integration of current models. *J Biomed Biotechnol*, v.2, p.117–119, 2002.

LAUWERYS, R.R. Occupational Toxicology. In: *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons*. USA: Pergamon Press, 1991.

LEE, B.K.; AHN, K.D.; LEE, S.S. et al. A Comparison of Different Lead Biomarkers in their Associations with Lead Symptoms. *Int. Arch. Occup. Environ Health*, v.73, p.298–304, 2000.

LEÓN, P.; LUCILA, C.; LANZA, R.; ANTONIO, M. *Hipercalciuria idiopática en niños: Relación con la excreción urinaria de sodio e potasio*. Dissertação [Curso de Especialización en Pediatría e Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela], 1999.

- LEVY, F.L.; ADAMS-HUET, B.; PAK, C.Y. Ambulatory evaluation of nephrolithiasis: an update of a 1980 protocol. *Am J Med*, v.98, p.50–59, 1995.
- LIEBMAN, S.E.; TAYLOR, J.G.; BUSHINSKY, D.A. Idiopathic Hypercalciuria. *Current Rheumatology Reports*, v.8, p.70-75, 2006.
- LIN-FU J.S. Undue absorption of lead among children—A new look at an old problem. *New Engl J Med*, v.286, p.702-710, 1972.
- LIPPMANN, M. Lead and Human Health: Background and Recent Findings. *Environ. Res*, v.51, p.1-24, 1990.
- LIPS, P. Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v.89, p.611-614, 2004.
- LJUNGHALL, S. Incidence of upper urinary tract stones. *Miner Electrolyte Metab*, v.13, p.220–227, 1987.
- LOGHMAN-ADHAM, M. Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ Health Perspect*, v.105, p.928-939, 1997.
- LOPEZ, M.M.; CASTILLO, L.A.; CHAVEZ, J.B.; RAMONES, C. Hypercalciuria and recurrent urinary tract infection in Venezuelan children. *Pediatr Nephrol*, v.13, p.433–437, 1999.
- LU, H.; GUIZZETTI, M.; COSTA, L.G. Inorganic lead stimulates DNA synthesis in human astrocytoma cells: role of protein kinase C alpha. *J Neurochem*, v.78, p.590–599, 2001.
- LU, H.; GUIZZETTI, M.; COSTA, L.G.; Inorganic lead activates the mitogen-activated protein kinase kinase-mitogen-activated protein kinase-p90 (RSK) signaling pathway in human astrocytoma cells via a protein kinase C-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*, v.300, p.818–23, 2000.
- MAGYAR, C.E.; WHITE, K.E.; ROJAS, R.; APODACA, G.; FRIEDMAN, P.A. Plasma membrane Ca²⁺-ATPase and NCX1 Na⁺/Ca²⁺ exchanger expression in distal convoluted tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, v.283, p.29–40, 2002.
- MAHAFFEY, K.R. Nutrition and lead. Strategies for Public Health. *Environmental Health Perspective*, v.103, sup.6, p.191-196, 1995.
- MAKINO, S.; TSURUTA, H.; TAKATA, T. Relationship Between Blood Lead Level and Urinary ALA Level in Workers Exposed to Very Low Levels of Lead. *Industrial Health*, v.38, p.95–98, 2000.
- MANESH, F.K. et al. Experimental Model of Lead Nephropathy. *Environmental Research*, v.58, p.35-54, 1992.
- MANZ, F.; KEHRT, R.; LAUSEN, B.; MARKEL, A. Urinary calcium excretion in healthy children and adolescents. *Pediatr Nephrol*, v.13, p.894-899, 1999.
- MARTIN-PADURA, I.; LOSTAGLIO, S.; SCHNEEMANN, M.; WILLIAMS, L.; ROMANO, M.; FRUSCELLA, P.; PANZERI, C.; STOPPACCIARO, A.; RUCO, L.; VILLA,
-

A.; SIMMONS, D.; DEJANA, E. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol*, v.142, p.117–127, 1998.

MATOS, V.; MELLE, G.; BOULAT, O.; MARKERT, M.; BACHMANN, C.; GUIGNARD, J.P, Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J Pediatr*, v.131, p.252–257, 1997.

MATTOS, R. C. O. C. *Estratégias para a avaliação da exposição ao chumbo: Estudos comparativos dos indicadores biológicos e sintomas relacionados*. Tese [Doutorado em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz], 2001

MÉLIAN, J.S.; GARCIA-NIETO, V.; SOSA, A.M. Herencia y prevalencia de hipercalciuria en la población infantil de la isla de La Gomera. *Nefrologia*, v.20, no.6, p.510-516, 2000.

MIR, S.; SERDAROGLU, E. Quantification of hypercalciuria with the urine osmolality ratio in children. *Pediatr Nephrol*, v.20, p.1562-1565, 2005.

MISAEEL DA SILVA, A.M.; DOS REIS, L.M.; PEREIRA, R.C.; FUTATA, E.; BRANCO-MARTINS, C.T.; NORONHA, I.L.; WAJCHEMBERG, B.L.; JORGETTI, V. Bone involvement in idiopathic hypercalciuria. *Clin Nephrol*, v.57, p.183–191, 2002.

MITRI, S. *Padronização e Aplicação de uma Metodologia para Determinação do Polimorfismo da Enzima Ácido δ -Aminolevulínico Desidratase na Avaliação da Exposição ao Chumbo*. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública, subárea de Toxicologia. Escola Nacional de Saúde Pública/Fundação Oswaldo Cruz], 2003.

MIYASHIRO, K.; HAUACHE, O.M. Mutações no gene receptor sensível ao cálcio extracelular e suas doenças associadas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.46, no.4, p.412-418, 2002.

MORITA, K.; FURUSE, M.; FUJIMOTO, K.; TSUKITA, S. Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc Natl Acad Sci*, v.96, p.511–516, 1999.

MORITA, Y.; ARAKI, S.; SAKAI, T.; ARAKI, T.; MASUYAMA, Y. Determination of delta-aminolevulinic acid in plasma using high-performance liquid chromatography: a sensitive indicator of lead effects. *Ind Health*, v.32, p.85–96, 1994.

MORITA, Y.; SAKAI, T.; ARAKI, S.; ARAKI, T.; MASUYAMA, Y. Usefulness of δ -aminolevulinic acid in blood as an indicator of lead exposure. *Jpn J Ind Health*, v.35, p.112–118, 2003.

MUNDY, G.R. *Calcium homeostasis: hypercalcemia and hypocalcemia*. London: Martin Dunitz, 1990.

MUNDY, G.R.; GUISE, T.A. Hormonal Control of calcium Homeostasis. *Clinical Chemistry*, v.48, no.8, p.1347-1352, 1999.

MUSHAK, P. New directions in the toxicokinetics of human lead exposure. *Neurotoxicology*, v.14, p.29–42, 1993.

NASHASHIBI, N.; CARDAMAKIS, E.; BOLBOS, G.; TZINGOUNIS, V. Investigation of kinetic of lead during pregnancy and lactation. *Gynecol Obstet Invest*, v.48, p.158–62, 1999.

NIINUMA, Y.; SAKAI, T.; YANAGIHARA, S.; USHIO, K. Relationship between ZP levels by hematofluorometer and the other biological parameters of lead exposure. *Jpn J Traumatol Occup Med*, v.30, p.816–824, 1982.

NIJENHUIS, T.; HOENDEROP, J.G.; VAN DER KEMP, A.W.; BINDELS, R.J. Localization and regulation of the epithelial Ca²⁺ channel TRPV6 in the kidney. *J Am Soc Nephrol*, v.14, p.2731–2740, 2003.

NOLAN, C.V.; SHAIKH, Z.A. Lead nephrotoxicity and associated disorders: biochemical mechanisms. *Toxicology*, v.73, p.127-146, 1992.

NORDIN, B.E. Assessment of calcium excretion from the urinary calcium/creatinine ratio. *Lancet*, v.2, p.368–371, 1959.

OGATA, M.; TAGUCHI, T. HPLC procedure for quantitative determination of urinary delta-aminolevulinic acid as indices of lead exposure. *International Archives of Occ and Environ Health*, v.59, p.385-391, 1987.

OKAYAMA, A.; FUJII, S.; MIURA, R. Optimized fluorometric determination of urinary δ -aminolevulinic acid by using precolumn derivatization, and identification of the derivative. *Clin Chem*, v.36, p.1494-1497, 1980.

ÖKTEM, F.; ARSLAN, M.K.; DÜNDAR, B.; DELIBAS, N.; GÜLTEPE, M.; ILHAN, I.E. Renal effects and erythrocyte oxidative stress in long-term low-level lead-exposed adolescent workers in auto repair workshops. *Arch Toxicol*, v.78, p.681-687, 2004.

ONER, A.; ERDOGAN, O.; ÇAMURDANOGLU, D. Reference values for urinary calcium and uric acid excretion in healthy Turkish children. *Internat Pediatr*, v.16, no.3, p.154-157, 2004.

ORDÓÑEZ, F.A.; FERNANDÉZ, P.; MARTÍNEZ, V., SANTOS, F.; MÁLAGA, S. Hipercalcúria idiopática. *Prot diag terap pediatr*, v.12. p.149-153, 2002.

OSORIO, A.V.; ALON, U.S. The relationship between urinary calcium, sodium, and potassium excretion and the role of potassium in treating idiopathic hypercalciuria. *Pediatrics*, v.100, no.4, p.675-681, 1997.

PATOCKA, J.; CERNY, K. Inorganic Lead Toxicology. *Acta Medica*, v.46, no.2, p.65-72, 2003.

PEARCE, S.H. Straightening out the renal tubule: Advances in the molecular basis of the inherited tubulopathies. *Q J Med*, v.91, p.5–12, 1998.

PENG, J.B.; CHEN, X.Z.; BERGER, U.V.; VASSILEV, P.M.; TSUKAGUCHI, H.; BROWN, E.M.; HEDIGER, M.A. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J Biol Chem*, v.274, p.22739–22746, 1999.

PENIDO, M.G.M.G. *Estudo da excreção urinário de cálcio, ácido úrico, e citrato em pré-escolares, escolares e adolescentes, utilizando-se amostras colhidas em 24 horas, em tempo determinado e em micção matinal única com e sem jejum*. Dissertação [Mestrado em Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais], 1995.

PENIDO, M.G.M.G.; DINIZ, J.S.S.; MOREIRA, M.L.S.F.; TUPINAMBÁ, A.L.F.; FRANÇA, A.; ANDRADE, B.H.; SOUTO, M.F.O. Idiopathic hypercalciuria: presentation of 471 cases. *Jornal de Pediatria*, v.77, no.2, p.101-104, 2001.

PENIDO, M.G.M.G.; LIMA, E.M.; MARINO, V.S.P.; TUPINAMBA, A.L.F.; FRANÇA, A.; SOUTO, M.F.O. Bone alterations in children with idiopathic hypercalciuria at the time of the diagnosis. *Pediatr Nephrol*, v.18, p.133-139, 2003.

PIETSCHMANN, F.; BRESLAU, N.A.; PAK, C.Y.C. Reduced vertebral bone density in hypercalciuric nephrolithiasis. *J Bone Miner Res*, v.7, p.1383-1388, 1992.

POTLURI, V.R.; ASTRIN, K.H.; WETMUR, J.G.; BISHOP, D.F.; DESNICK, R.J.; Human δ -aminolevulinatase. Chromosomal localization to 9q34 by in situ hybridization. *Hum Genet* v.76, p.236-239, 1987.

PRONICKA, E.; ROWINSKA, E.; KULCZYCKA, H.; LUKASZKIEWIEZ, J.; LORENC, R.; JANAS, R. Persistent hypercalciuria and elevated 25-hydroxyvitamin D3 in children with infantile hypercalcaemia. *Pediatr Nephrol*, v.11, p.2-6, 1997.

PUESCHEL, S.M.; LINAKIS, J.G.; ANDERSON, A.C. Lead poisoning: a historical perspective. In: PUESCHEL, S.M.; LINAKIS, J.G.; ANDERSON, A.C. (ed.). *Lead poisoning in childhood*. Baltimore: P. H. Brookes, p.1-13, 1996.

RABINOWITZ, M.B.; KOPPLE, J.D.; WETHERILL, G.W. Effect of food intake and fasting on gastrointestinal lead absorption in humans. *Am J Clin Nutr*, v.33, p.1784-1788, 1980.

RDA (Recommended Dietary Allowances). 10ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989.

REILLY, R.F.; ELLISON, D.H. Mammalian distal tubule: physiology, pathophysiology, and molecular anatomy. *Physiol Rev*, v.80, p.277-313, 2000.

RODRIGUEZ FERNANDEZ, L.M.; ARMENTIA, S.L.L.; MIGUELSANZ, J.M.M. Manejo de la hipercalciuria idiopática. *Bol Soc Pediatr*, v.37, p. 207-210, 1997.

RODRIGUEZ, M.C.R.; BURGUILLO, P.M.; RODRIGUEZ, M.D.C.; ESTERAS, S.A.; PEREZ, M.G.; CAÑIZARES, R.M.M. Hipercalciuria idiopática en niños. *Rev Pediat de Atenc Prima*, v.1, n.2, p.73-80, 1999.

RODRIGUEZ-SORIANO, J.; VALLO, A.; QUINTELA, M.J.; NACLARES, G.P.; BILBAO, J.R.; CASTAÑO, L. Familial hypercalcemia and hypercalciuria: no mutations in the Ca^{2+} sensing receptor gene. *Pediatr Nephrol*, v.16, p.748-751, 2001.

ROELS, H.A.; KONINGS, J.; GREEN, S. et al.. Time-integrated blood lead concentration is a valid surrogate for estimating the cumulative lead dose assessed by tibial lead measurement. *Environ Res*, v.69, no.2, p.75-82, 1995.

- ROOT, A.W. Genetic Disorders of Calcium and Phosphorus Metabolism. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, v.37, no.3, p.217–260, 2000.
- ROSCOE, R.J.; GITTLEMAN, J.L.; DEDDENS, J.A.; PETERSEN, M.R.; HALPERIN, W.E. Blood lead levels among children of lead-exposed workers: a meta-analysis. *American Journal of Industrial Medicine*, v.36, p.475-481, 1999.
- ROSEN, J.F. The metabolism of lead in isolated bone cell populations: interactions between lead and calcium. *Toxicol and applied pharmacol*, v.71, p.101-112, 1983.
- ROY, S.; STAPLETON, F.B.; NOE, H.N.; JERKINS, G. Hematuria preceding renal calculus formation in children with hypercalciuria. *J Pediatr*, v.99, p.712–715, 1981.
- RUTTER, M. Low level lead exposure: sources effects and implications. In: RUTTER, M.; RUSSELL-JONES, R. (ed). *Lead versus health*. Chichester: John Wiley, 1983.
- SAFARINEJAD, M.R. Urinary mineral excretion in healthy Iranian children. *Pediatr Nephrol*, v.18, p.140–144, 2003.
- SAHOTA, O.; HOSKING, D. Update on calcium and vitamin D metabolism. *Current orthopaedics*, v.13, p.53-63, 1999.
- SAKAI, T. Biomarkers of lead exposure. *Ind Health*, v.38, p.127-42, 2000.
- SAKAI, T.; MORITA, Y. δ -Aminolevulinic in Plasma or Whole Blood as a Sensitive Indicator of Lead Effects, and its Relation to the other Heme - Related Parameters. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, v.68, no.2, p.126-132, 1996.
- SAKAI, T.; USHIO, K.; TAKEUCHI, Y.; IKEYA, Y.; NAKAHIRA, S.; ARAKI, T. The whole activity of ALA-D restored by Zn and DTT (dithiothreitol) and the percentage of remaining activity in workers exposed to lead at low levels. *Jpn J Traumatol Occup Med*, v.35, p.525–530, 1987.
- SAKAI, T.; YANAGHARA, S.; USHIO, K. Restoration of lead-inhibited δ -aminolevulinic dehydratase activity in whole blood by heat, zinc ion, and (or) dihydrothreitol. *Clin. Chem*, v.26, p.625-628, 1980.
- SAKAI, T.; YANAGIHARA, S.; USHIO, K. Erythrocyte factors concerned in the inhibition of ALA-D by lead. *Br J Ind Med*, v.38, p.268–74, 1981.
- SARGENT, J.; STUKEL, T.; KRESEL, J. Normal values of random urinary calcium to creatinine ratios in infancy. *J Pediatr*, v.123, p.393-396, 1993.
- SCHEINMAN, S.J.; GUAY-WOODFORD, L.M.; THAKKER, R.V.; WARNOCK, D.G. Genetic disorders of renal electrolyte transport. *N Eng J Med*, v.340, p.1177–1187, 1999.
- SCHRODER, B.; VOSSING, S.; BREVES, G. In vitro studies on active calcium absorption from ovine rumen. *J Comp Physiol*, v.169, p.487–494, 1999.
- SCHULTE, P.A. Contribution of Biological Markers to Occupational Health. *Am. J. Ind. Med*, v.20, p.435-446, 1991.
-

- SCHULTE, P.A. Opportunities for the development and use of biomarkers. *Toxicology Letters*, v.77, p.25-29, 1995.
- SCHULTE, P.A. The use of biomarkers in surveillance medical screening and intervention. *Mutation Research*, v.592, p.155-163, 2005.
- SCHULTE, P.A. Use for Biological Markers in Occupational Health Research and Practice. *J. Toxicol. Environ. Health*, v.40, p.359-366, 1993.
- SCHULZE, D.H.; POLUMURI, S.K.; GILLE, T.; RUKNUDIN, A. Functional regulation of alternatively spliced Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX1) isoforms. *Ann NY Acad Sci*, v.976, p.187-196, 2002.
- SCHWARTZ, B.S.; LEE, B.K.; STEWART, W.; AHN, K.D.; SPRINGER, K.; KELSEY, K. Association of δ -aminolvalulinic acid dehydratase genotypes with plant, exposure duration, and blood lead and zinc protoporphyrin levels in Korean lead workers. *Am J Epidemiol*, v.142, p.738-745, 1995.
- SCHWARTZ, B.S.; LEE, B.K.; STEWART, W.; SITHISASRANKUL, P.; STRICKLAND, P.T.; AHN, K.D.; SPRINGER, K. δ -aminolevulinic acid dehydratase genotype modifies four hour urinary lead excretion after oral administration of dimercaptosuccinic acid. *Occup Environ Med*, v.54, p.241-246, 1997.
- SCHWARTZ, B.S.; STEWART, W.F.; TODD, A.C. et al. Different Associations of Blood Lead, Meso 2,3-Dimercaptosuccinic acid (DMSA) – Chelatable Lead, and Tibial Lead Levels with Blood Pressure in 543 Former Organolead Manufacturing Workers. *Arch. Environ. Health*, v.55, no.2, p.85-92, 2000.
- SCHWARTZ, J. Low-level lead exposure and children's IQ: a meta analysis and search for a threshold. *Environ Res*, v.65, p.42-55, 1994.
- SHEETS, R.W. Release of heavy metals from European and Asian porcelain dinnerware. *Sci Total Environ*, v.212, p.107-113, 1998.
- SHIMBO, S.; ZHANG, Z.W.; MOON, C.S. et al. Correlation Between Urine and Blood Concentration, and Dietary Intake of Cadmium and Lead Among Women in the General Population of Japan. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, v.73, p.163-170, 2000.
- SHIMIZU, T.; YOSHITOMI, K.; NAKAMURA, M.; IMAI, M. Effects of PTH, calcitonin, and cAMP on calcium transport in rabbit distal nephron segments. *Am J Physiol*, v.259, p.F408-F414, 1990.
- SIMON, D.B.; LU, Y.; CHOATE, K.A.; VELAZQUEZ, H.; AL-SABBAN, E.; PRAGA, M.; CASARI, G.; BETTINELLI, A.; COLUSSI, G.; RODRIGUEZ-SORIANO, J.; MCCREDIE, D.; MILFORD, D.; SANJAD, S.; LIFTON, R.P. Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg²⁺ resorption. *Science*, v.285, p.103-106, 1999.
- SKERFVING, S.; NELSSON, U.; SCHÜTZ, A.J. et al. Biological Monitoring of Inorganic Lead. *Scand. J. Work Environ*, v.19, no.1, p.59-64, 1993.
- SO, N.P.; OSORIO, A.V.; SIMON, S.D.; ALON, U.S. Normal urinary calcium/creatinine ratios in African-American and Caucasian children. *Pediatr Nephrol*, v.16, p.133-139, 2001.
-

SOLDIN, O.P.; HANAK, B.; SOLDIN, S.J. Blood lead concentrations in children: new ranges. *Clinica Chimica Acta*, v.327, p.109-133, 2003.

SPARANO, D.; GONZALEZ, G., ROJAS, T.; CARDONA, G. La razón calcio/creatinina y proteínas/creatinina como expresión de calciuria y proteinuria cuantitativa en niños. *Arch Ven Puer Ped*, v.58, no.3, p.133-136, 1995.

STAPLETON, F.B.; MCKAY, C.P.; NOE, H.N. Urolithiasis in children: the role of hypercalciuria. *Pediatr Ann*, v.16, p.980-981, 1987.

SUKI, W.N. Calcium transport in the nephron. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol*, v.237, p.1-6, 1979.

SWEID, H.A.; BAGGA, A.; VASWANI, M.; VASUDEV, V.; AHUJA, R.K.; SRIVASTAVA, R.N. Urinary excretion of minerals, oxalate, and uric acid in north Indian children. *Pediatr Nephrol*, v.11, p.189-192, 1997.

TAKEBAYASHI, T.; OMAE, K.; HOSODA, K.; SATOH, T.; HAMAGUCHI, T.; SAKURAI, H. Evaluation of δ -aminolevulinic acid in blood of workers exposed to lead. *Br J Ind Med*, v.50, p.49-54, 1993.

TANG, V.W.; GOODENOUGH, D.A. Paracellular ion channel at the tight junction. *Biophys J*, v.84, p.1660-1673, 2003.

TASCA, A.; CACCIOLA, A.; FERRARESE, P.; IOVERNO, E.; VISONA, E.; BERNARDI, C.; NOBILE, M.; GIANNINI, S. Bone alterations in patients with idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Urology*, v.59, p.865-869, 2002.

TONG, S.; SCHIMDING, Y.; PRAPAMONTOL, T. Environmental Lead Exposure: a Public Health Problem of Global Dimensions. *Bulletin of World Health Organization*, v.78, no.9, p.1068-1077, 2000.

TOSCANO, C.D.; GUILARTE, T.R. Lead neurotoxicity: From exposure to molecular effects. *Brain Research Reviews*, v.49, p.529-554, 2005.

TSAIH, S.W.; SCHWARTZ, J.; LEE, M.L.T. et al. The Independent Contribution of Bone and Erythrocyte Lead to Urinary Lead among Middle - Aged and Elderly Men: The Normative Aging Study. *Environ. Health Perspect*, v.107, no.5, p.391-396, 1999.

TSUKITA, S.; FURUSE, M. Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. *J Cell Biol*, v.149, p.13-16, 2000.

VACHVANICHSANONG, P.; LEBEL, L.; MOORE, E.S. Urinary calcium excretion in healthy Thai children. *Pediatr Nephrol*, v.14, p.847-850, 2000.

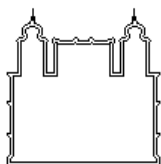
VEZZOLI, G.; TANINI, A.; FERRUCCI, L.; SOLDATI, L.; BIANCHIN, C.; FRANCESCHELLI, F. et al. Influence of calcium-sensing receptor gene on urinary calcium excretion in stone-forming patients. *J Am Soc Nephrol*, v.13, p.2517-2523, 2002.

VIG, P.J.; PENTYALA, S.N.; CHETTY, C.S.; RAJANNA, B.; DESAIAH, D. Lead alters inositol polyphosphate receptor activities: protection by ATP. *Pharmacol Toxicol*, v.75, p.17-22, 1994.

- VIVOLI, G.; FANTUZZI, G.; BERGOMI, M. et al. Relationship between low lead exposure and somatic growth in adolescents. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, v.3, sup.1, p.201–209, 1993.
- WARREN, C. *A Social History of Lead Poisoning*. Johns Hopkins Univ Press, 2001.
- WEINSTEIN, A.M.; WINDHAGER, E.E. The paracellular shunt of proximal tubule. *J Membr Biol*, v.184, p.241–245, 2001.
- WETMUR, J.G.; KAYA, A.H.; PLEWINSKA, M.; DESNICK, R.J. Molecular characterization of human δ -aminolevulinic acid dehydratase 2 (ALAD2) allele: Implication for molecular screening of individuals for genetic susceptibility to lead poisoning. *Am J Hum Genet*, v.49, p.757–763, 1991.
- WHO. Recommended healthbased limits in occupational exposure to heavy metals. *WHO Tech Rep Ser*, v.647, p.36–80, 1980.
- WINNEKE, G.; KRAEMER, U. Neuropsychological effects of lead in children: interactions with social background variables. *Neuropsychobiology*, v.11, p.195–202, 1984.
- WITCHER, D.R.; DE WAARD, M.; SAKAMOTO, J.; FRANZINI-ARMSTRONG, C.; PRAGNELL, M.; KAHL, S.D.; CAMPBELL, K.P. Subunit identification and reconstitution of the N-type Ca²⁺ channel complex purified from brain. *Science*, v.261, p.486–489, 1993.
- WONG, V.; GOODENOUGH, D.A. Paracellular channels. *Science*, v.285, p.62, 1999.
- YANES, M.I.L.; GARCIA NIETO, V.M.; MONGE ZAMORANO, M.; HERNANDEZ GONZALEZ, M.J. Hipercalciuria idiopatica: generalidades, diagnostico y seguimiento en atencion primaria. *BSCP Can Ped*, v.29, no.1, p.47–53, 2005.
- YU, A.S. Role of CIC-5 in the pathogenesis of hypercalciuria: recent insights from transgenic mouse models. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v.10, p.415–420, 2001.
- YU, A.S.; BOIM, M.; HEBERT, S.C.; CASTELLANO, A.; PEREZ-REYES, E.; LYTTON J. Molecular characterization of renal calcium channel beta-subunit transcripts. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol*, v.268, p.525–531, 1995.
- ZAMBRANO, E.; RODRIGUEZ, H.; COLMENARES, U. Calciuria y relación Calcio/Creatinina en orina de niños sanos. *Arch Ven Puer Ped*, v.57, no.3, p.118–124, 1994.
- ZHANG, J.; ICHIBA, M.; WANG, Y.; YUKITAKE, S.; TOMOKUNI, K. Relation between polymorphism of δ -aminolevulinic acid dehydratase and some parameters in lead workers. *J Occup Health*, v.40, p.77–78, 1998.
- ZHUANG, L.; PENG, J.B.; TOU, L.; TAKANAGA, H.; ADAM, R.M.; HEDIGER, M.A.; FREEMAN, M.R. Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies. *Lab Invest*, v.82, p.1755–1764, 2002.
- ZIEMSEN, B.; ANGERER, J.; LEHNERT, G.; BENKMANN, H.G.; GOEDDE, H.W.; Polymorphism of deltaaminolevulinic acid dehydratase in lead-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health*, v.58, p.245–247, 1986.
-

ANEXOS

ANEXO A – QUESTIONÁRIO DE DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS PARA AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AO CHUMBO



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
Escola Nacional de Saúde Pública
 Centro de Estudos Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana



1- Número: _____

2-CESTEH número: _____

Questionário de Avaliação de Exposição ao Chumbo de Crianças e Mulheres Grávidas das Comunidades de Manguinhos

A) Dados Gerais

1. Data de hoje: ___/___/___ Hora do início: _____
2. Nome do voluntário (criança ou grávida): _____
3. Nome do responsável (quando for o caso): _____
4. Endereço: _____
5. CEP: _____ -9-Faltando
6. Telefone de contato: _____ -9-Faltando
7. Sexo da criança: 1 - M 2 - F
8. Estado Civil (responsável/grávida):
1- Casado 2- Solteiro 3- União Livre 4- Separado 5- Viúvo
9. Data de nascimento da criança/grávida: ___/___/___
10. Idade da criança/grávida: _____anos
11. *Grávidas*: Há quanto tempo você está grávida (em semanas)? _____
12. *Grávidas*: Quantas vezes você ficou grávida? _____
13. Quantos filhos você (responsável/grávida) tem? _____
14. Você tem mais crianças na sua casa? 1- sim 2- não 9- Faltando
Quantas? _____
15. Deseja que as outras crianças participem desta avaliação? 1- sim 2- não 9- Faltando
16. Você (responsável/grávida) sabe ler e escrever? 1- sim 2- não 9- Faltando
17. Até que ano você (responsável/grávida) estudou na escola?
1- não foi à escola 2- ensino fundamental completo 3- ensino fundamental incompleto
4- ensino médio completo 5- ensino médio incompleto 6- mais que o ensino médio. Cite: _____
9- Faltando
18. A criança está na escola? 1- sim 2- não 9- Faltando
19. Em que período escolar a criança se encontra? 1- pré-escolar (creche) 2- fundamental 3- médio 9- Faltando
20. Há quanto tempo você mora nesta comunidade? _____ anos _____ meses 9-Faltando
21. Quantas pessoas moram permanentemente em sua residência? _____ pessoas

22. Quantos cômodos (quartos e salas) têm a sua casa ? _____ peças
23. Como é o piso da sua casa? 1- “vermelhão” 2- cimento 3- madeira (taco)
4- cerâmica 5- outros. Especifique: _____ 9- Faltando
24. Quantas vezes você precisa limpar a poeira da sua casa? 1- mais de uma vez por dia
 2- uma vez por dia 3- duas ou mais vezes por semana 4 - uma vez por semana 5- -Outras
 freqüências: _____ 9- *Faltando*
25. *Quando sua casa foi pintada pela última vez ? _____ anos _____ meses*
1- nunca foi pintada 9- Faltando
26. *Na ocasião da pintura foi usada lixa para o preparo das paredes?*
1- sim 2- não 9- Faltando
27. A sua casa possui água encanada? 1- sim 2- não 9- Faltando
28. Em caso positivo, os encanamentos da sua casa são de:
 1- plástico 2- metal 3- outros. Especifique: _____ 9- Faltando
29. Qual o destino do lixo da sua casa? 1- recolhido pelo lixeiro 2- colocado na caçamba 3- enterrado 4-
 queimado 5- deixado a céu aberto
 6- outros. Especifique: _____ 9- Faltando

B) Atividades do entrevistado ou de alguém que more em sua casa relacionadas ao metal estudado no projeto

30. Você ou alguém que more na sua casa **já trabalhou ou trabalha** em: (incluindo: atividade principal e outras atividades (“biscate”): 1- sim 2- não 9- Faltando

- | |
|--|
| <p>1- Indústria de produtos de borracha 2- Indústria de plásticos 3- Indústria de cerâmica
 4- Gráfica 5- Fábrica de tintas 6- Construção ou renovação de casas
 7- Jateamento de areia 8- Pintor 9- Concerto de radiadores 10- Soldagem
 11- Fábrica de bateria ou recarregadores 12- Atividade de derreter metal
 13- Incineração de Lixo 14- Atividade de contato com gasolina
 15- Outros. Especifique: _____</p> |
|--|

31. **OBS:** Se a resposta for **NÃO** pule para a pergunta número 40.
32. Há quanto tempo trabalha ou trabalhou nesta ocupação? _____ anos _____ meses. 9- Faltando
33. Qual é a sua carga horária semanal nessa ocupação? _____hs/semana. 9- Faltando
34. Há quanto tempo você ou alguém que more na sua casa saiu desse “emprego” (quando for o caso) ? _____ anos
 _____ meses 9- Faltando
35. Qual era a sua carga horária semanal nessa ocupação? _____hs/semana. 9- Faltando
36. Você tem uma nova ocupação? 1- sim. Especifique: _____ 2- não 9- Faltando
37. Há quanto tempo exerce esta outra atividade (“biscate”)? _____ anos _____ meses
38. Você ou alguém que more na sua casa usa equipamentos de proteção individual durante o seu trabalho tais como máscara e/ou luva e/ou avental ? 1- sempre- Especifique: _____ 2- não 3- raramente- Especifique: _____ 8-
 não se aplica 9- Faltando
39. Onde é lavada a sua roupa de trabalho e a das outras pessoas da sua casa? 1- em casa 2- a empresa manda lavar 3- em lavadeira 4- outros. Especifique: _____

C) Fontes de emissão e sua localização em relação a residência do entrevistado

40. Você mora ou morou em algum lugar que fosse próximo a:
 1- sim. Especifique: _____ 2- não 9- Faltando

- 1- Indústria de produtos de borracha 2- Indústria de plásticos 3- Indústria de cerâmica
 4- Gráfica 5- Fábrica de tintas 6- Construção ou renovação de casas
 7- Jateamento de areia 8- Pintor 9- Concerto de radiadores 10- Soldagem
11- Fábrica de bateria ou recarregadores 12- Atividade de derreter metal
13- Incineração de Lixo 14- Atividade de contato com gasolina
 15- Outros. Especifique: _____

D) Hábitos

41. Você ou alguma pessoa em sua casa fuma cigarro regularmente?

- 1- sim. Especifique quem: _____ 2- não 9- Faltando

42. Você ou esta pessoa fumam cigarro perto da criança?

- 1- sim 2- não. Especifique aonde fuma: _____ 9- Faltando

43. Quantos cigarros fuma por dia? ____ cigarros/dia _____ maços 9- Faltando

44. Há quanto tempo você ou esta pessoa fuma? ____ anos ____ meses 8- não se aplica (nunca fumou) 9- Faltando

45. Há quanto tempo você ou esta pessoa parou de fumar? ____ anos ____ meses
 8- não se aplica (nunca fumou ou ainda fuma) 9- Faltando

46. *Grávidas:* Você consome bebida alcoólica? 1- sim 2- não 9- Faltando

47. *Grávidas:* Com que frequência você toma bebidas alcoólicas? 1- 4 ou mais vezes por semana 2- até 3 vezes por semana 3- pelo menos 1 vez por mês 4- menos 1 vez por mês 5- parei de beber 6- não sabe 8- não se aplica (nunca bebeu) 9- Faltando

48. *Grávidas:* Durante a última semana, na última ocasião em que você tomou bebidas alcoólicas, o que bebeu e em que quantidade?

- 1- não bebeu 2- não sabe 8- não se aplica 9- Faltando

Quantidade					
Bebida	Copos	Latas	Cálices	Doses	Garrafas
1- Cerveja ou chopp	1 - <input type="checkbox"/>	2 - ____	3 - ____	4 - ____	5 - ____
2- Vinho	1 - <input type="checkbox"/>	2 - ____	3 - ____	4 - ____	5 - ____
3- Destilados (cachaça, rum, vodca, conhaque, batidas, uísque, etc).	1 - <input type="checkbox"/>	2 - ____	3 - ____	4 - ____	5 - ____
4- Licores	1 - <input type="checkbox"/>	2 - ____	3 - ____	4 - ____	5 - ____

49. *Responsável:* A criança chupa dedo ou chupeta?

- 1- sim. Especifique: _____ 2- não 9- Faltando

50. *Responsável:* A criança tem o hábito de comer:

- 1- reboco 2- terra 3- areia 4- lápis cera 5- massinha 6- borracha

- 7- plástico 8- lápis 9- papel 10- Outros. Especifique: _____

51. *Responsável:* Onde a criança brinca? _____

ATENÇÃO: ESTA PARTE DO QUESTIONÁRIO DEVE SER RESPONDIDA PELO ENTREVISTADOR

- Atenção do Entrevistado
- 1- Orientado e Atencioso
- 2- Pouco atencioso
- 3- Mal informado
- 4- Muito mal informado
- 5- Muito mal informado e confuso

- Veracidade e exatidão das respostas
- 1- Absolutamente franca e exatas
- 2- Provavelmente francas e exatas
- 3- Nem sempre francas e exatas
- 4- Poucas vezes francas e exatas
- 5- Não foram francas e exatas

- Hora do término da entrevista: _____ minutos
- Duração da entrevista: _____ minutos
- Observação: Este questionário possui 06 páginas.

ATENÇÃO: ESTA PARTE DO QUESTIONÁRIO DEVE SER RESPONDIDA PELO ENTREVISTADO. CASO O ENTREVISTADO NÃO SAIBA LER, O ENTREVISTADOR DEVE FAZER AS PERGUNTAS.

- O que achou do entrevistador?
 - 1- Seguro
 - 2- Distraído
 - 3- Confuso

 - Atitude do Entrevistador?
 - 1- Atencioso
 - 2- Indiferente
 - 3- Impaciente
-

ANEXO B – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR PARA ESTIMATIVA NUTRICIONAL

FREQUÊNCIA ALIMENTAR:

NOME: _____ DATA: __/__/__ D.N.: __/__/__

ALIMENTO	PORÇÃO POR VEZ	DIÁRIA	SEMANAL	15/15 DIAS	MENSAL	NÃO CONSUME
Leite						
Queijos						
Iogurtes						
Manteiga/Margarina						
Óleo						
Ovos/Gema						
Carne de Boi						
Miúdos						
Fígado						
Sardinha/Atum						
Frango						
Carne de porco						
Legumisonas						
Vegetais verdes						
Arroz						
Feijão						
Pães						
Macarrão						
Frutas						
Biscoitos						
Balas/Guloseimas						
Refrigerante						
Café						
Sucos						
Bebidas alcoólicas						
Enlatados/Embutidos						
Sopas						

- ALMOÇA E JANTA () ALMOÇA E LANCHA ()
- HÁ ALGUM ALIMENTO QUE VOCÊ CONSUMA COM FREQUÊNCIA E NÃO FOI PERGUNTADO?

FREQUÊNCIA ALIMENTAR (0-3 anos)

NOME: _____ **DATA:** ___/___/___ **D.N.:** ___/___/___
RESPONSÁVEL: _____

- Até que idade a criança mamou exclusivamente no peito? _____ meses
 Nunca mamou no peito Ainda está mamando no peito
- Por que a criança parou de mamar no peito / Porque nunca mamou no peito?
 pouco leite a criança não queria mãe não queria
 mãe ficou doente criança ficou doente problema no peito
 mãe trabalhava / estudava
- A criança recebeu outro tipo de alimento enquanto mamava exclusivamente peito?
 Sim Não Não sabe
- Qual(s) tipo(s) de alimento(s)?
 MINGAU ÁGUA CHÁ SUCOS OUTROS: _____
- Que tipo de leite? _____

Pós-ceia	Café	Colação	Almoço	Lanche	Jantar	Ceia

Anotações: _____

ANEXO C – PARÂMETROS PARA A DETERMINAÇÃO DE DOSE POTENCIAL E FATOR DE RISCO NEUROLÓGICO

Dose Potencial

A determinação da Dose Potencial é representada pelo produto de (1) concentração de chumbo na matriz ambiental ($[Pb^{2+}]$), (2) taxa de ingresso da matriz ambiental no organismo (T_I) e taxa de absorção de chumbo na matriz ambiental (T_A), dividido pelo peso corpóreo (PC) do indivíduo.

– *Para solo:*

$$\frac{[Pb^{2+}] \text{ (em mg/kg)} \times T_I \text{ (100mg/dia)} \times T_A \text{ (70\%)}}{PC \text{ (15kg)}}$$

– *Para água:*

$$\frac{[Pb^{2+}] \text{ (em mg/L)} \times T_I \text{ (1,7L/dia)} \times T_A \text{ (70\%)}}{PC \text{ (15kg)}}$$

– *Para poeira:*

$$\frac{[Pb^{2+}] \text{ (em mg/m}^2\text{)} \times T_I \text{ (10m}^2\text{/dia)} \times T_A \text{ (90\%)}}{PC \text{ (15kg)}}$$

– *Para ar:*

$$\frac{[Pb^{2+}] \text{ (em mg/m}^3\text{)} \times T_I \text{ (10m}^3\text{/dia)} \times T_A \text{ (90\%)}}{PC \text{ (15kg)}}$$

Fator de Risco Neurológico (FR_N)

A determinação do Fator de Risco Neurológico envolve o cálculo de quantas vezes a Dose Potencial (DPt) é maior do que a Dose de Referência (DRf), que representa a quantidade de absorção de chumbo segura quanto ao surgimento de um efeito neurológico.

$$\frac{DPt}{DRf \text{ (7,85} \times 10^{-5} \text{ mg/kg/dia)}}$$