

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**“Avaliação dos polimorfismos do Ácido Delta-aminolevulínico desidratase (ALAD) e Glutathione peroxidase (GPx) sobre estresse oxidativo em trabalhadores ocupacionalmente expostos ao chumbo”**

**Airton da Cunha Martins Junior**

**Ribeirão Preto**  
**2014**

## RESUMO

MARTINS JUNIOR, A. C. Avaliação dos polimorfismos do Ácido Delta-aminolevulínico desidratase (ALAD) e Glutathiona peroxidase (GPx) sobre estresse oxidativo em trabalhadores ocupacionalmente expostos ao chumbo. 2014. 61f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O chumbo (Pb) é um metal altamente tóxico no qual os sinais de intoxicação variam bastante ao considerar as diferenças interindividuais. Um dos principais mecanismos de toxicidade do Pb ocorre pela inibição da enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD) no sistema hematopoiético. O Pb também desempenha um importante papel no desbalanço do estado redox, pois sabe-se que ele tem o potencial de aumentar a concentração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e inibir enzimas antioxidantes, como por exemplo a glutathiona peroxidase (GPx). No entanto, poucos estudos avaliaram estes parâmetros em população ocupacionalmente exposta brasileira. Assim, o presente estudo, objetiva estudar a correlação entre as concentrações de Pb no sangue (Pb-S) de trabalhadores de fábricas de bateria e as atividades das enzimas ALAD e GPx associados com os polimorfismos genéticos da ALAD e GPx. Para tal, foram utilizadas 278 amostras de sangue de trabalhadores expostos ao Pb. As determinações de Pb foram realizadas por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ELAN DRCII Perkin- Elmer). As genotipagens dos polimorfismos genéticos da ALAD e da GPx foram realizadas pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real e as atividades das enzimas ALAD e GPx foram determinadas no sangue por espectrofotometria de UV/VIS. A média da concentração de Pb-S foi de  $22,8 \pm 14,7$   $\mu\text{g/dL}$ . Foram observadas correlações negativas entre Pb-S e atividade da ALAD ( $r_s -0,24$   $p < 0,01$ ) e Pb-S e atividade de GPx ( $r_s -0,27$   $p < 0,05$ ). Também foi verificada correlação negativa entre a porcentagem de inibição da ALAD e a atividade de GPx ( $r_s -0,21$   $p < 0,01$ ). Em relação aos polimorfismos genéticos, não observamos associação entre os genótipos do ALAD ( $\beta -0,19$   $P > 0,05$ ) e GPx (genótipo CT:  $\beta -1,37$   $P > 0,05$ ; genótipo TT:  $\beta -8,37$   $P > 0,05$ ) e a concentração de Pb-S. Não foram observadas associações entre o polimorfismo rs1800668 e a atividade de GPx (genótipo CT:  $\beta -0,016$   $P > 0,05$ ; genótipo TT:  $\beta -0,004$   $P > 0,05$ ). No entanto, foi constatada uma associação entre o genótipo ALAD 1-1 do polimorfismo rs1800435 e a atividade da enzima ALAD ( $\beta 3,5$   $P < 0,05$ ). Neste sentido, os resultados deste estudo mostram que o genótipo ALAD 1-1 do polimorfismo rs1800435 do gene ALAD está associado a uma maior atividade da enzima ALAD nos indivíduos expostos ao Pb. Além disso, o polimorfismo rs1800668, localizado no gene que codifica a enzima GPx, não modula a atividade desta enzima nos indivíduos expostos ao metal. Ambos os polimorfismos dos genes ALAD e GPx parecem não influenciar nas concentrações de Pb-S na população estudada.

**Palavras chaves:** chumbo; ácido delta-aminolevulínico desidratase; glutathiona peroxidase; toxicogenética.

# ***INTRODUÇÃO***

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 O chumbo e seus efeitos à saúde

O chumbo (Pb) é um metal abundante e amplamente distribuído na crosta terrestre, sendo encontrado livre e em associação com outros elementos. Seu número atômico é 82, sua massa atômica, 207,21 e seu ponto de fusão, 337°C. A partir de 550°C, há emissão de vapores, entrando em ebulição ao atingir cerca de 1,740°C. Em associação com outros elementos, o metal origina compostos tais como: sulfato de chumbo, arsenato de chumbo, dióxido de chumbo, chumbo-tetraetila, chumbo tetrametila, litargírio e zarcão (CORDEIRO; LIMA-FILHO, 1995).

Desde a antiguidade o Pb é fundido e utilizado na fabricação de armas e utensílios domésticos como copos, taças e recipientes para armazenamento de líquidos e alimentos, além de utilização em aquedutos e reservatórios para fermentação e acondicionamento de bebidas alcoólicas. Durante o Império Romano foi utilizado na forma de óxidos para a conservação e correção do sabor dos vinhos, sendo este um hábito mantido por pequenas vinícolas europeias até poucas décadas atrás. Além disso, no século III a.C., os romanos utilizavam o metal para a fabricação de canos e ainda hoje, esses canos de Pb continuam presentes em casas mais antigas e outras edificações erguidas antes de 1978. Atualmente, o Pb é usado como componente da manufatura da borracha, como ingrediente de tintas, constituinte de vitrificados, esmaltes, vidros e, particularmente, muito utilizado em fábricas de baterias (DE CAPITANI; PAOLIELLO; ALMEIDA, 2009).

O metal pode ser encontrado no ar, nos rios, lagos e oceanos, no solo e na cadeia alimentar, portanto a exposição ambiental ao Pb pode ocorrer tanto pela

ingestão de alimentos contaminados, seja pela produção agrícola ou diretamente da ingestão, os quais tendem a incorporar Pb em maior ou menor proporção dependendo de variáveis, como por exemplo, a forma química do metal, idade e sexo (ATSDR, 2007; [KELADA et al., 2001](#)).

O Pb não desempenha nenhum papel fisiológico conhecido no organismo e, desta maneira, a exposição ao metal pode causar efeitos adversos em vários sistemas, tais como nervoso, renal, gastrintestinal, reprodutor, endócrino e hematopoiético (FLORA; GUPTA; TIWARI., 2012). Os sinais e sintomas ocasionados nas intoxicações por Pb são inespecíficos. Ainda que incomuns, as intoxicações agudas podem apresentar náuseas, dores abdominais, vômitos, sensação adstringente pronunciada na boca e gosto metálico, as fezes podem apresentar coloração negra em virtude da reação do Pb com compostos sulfurados existentes nos gases intestinais. A intoxicação crônica, por outro lado, é mais comum e ocorre quando as concentrações do metal no sangue aproximam-se da faixa de 40-60 µg/dL, sendo caracterizada por vômito persistente, encefalopatia, letargia, delírio, convulsões e coma (FLORA et al., 2006; PEARCE, 2007). Esta intoxicação por Pb é denominada Saturnismo (Cordeiro, 1995).

## **1.2 Exposição ocupacional ao Pb no Brasil**

Embora esteja bem estabelecido que a exposição ao Pb cause os diversos efeitos adversos supracitados, a sua produção e consequente utilização na indústria vem aumentando. Em 2012, as reservas mundiais atingiram 89 Mt e as brasileiras 149 Mt, representando 0,17% da reserva global. A produção brasileira em 2012 de concentrado de chumbo, em metal contido, foi de 8,9 Mt, representando 0,2% da

produção mundial. O Brasil não tem produção primária de chumbo metálico refinado. Toda a produção deste metal é obtida a partir de reciclagem de material usado, especialmente de baterias automotivas, industriais e de telecomunicações. No Brasil, as usinas refinadoras estão nas regiões Nordeste (Pernambuco), Sul (Rio Grande do Sul e Paraná) e Sudeste (São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais), com uma capacidade instalada em torno de 160 Mt/ano. A produção secundária do chumbo metálico, em 2012, foi de 165,4 Mt, um crescimento de 19,39% em relação ao ano anterior, o que correspondeu a 17,05 milhões de novas baterias, em um universo de 14,60 milhões de baterias vendidas para o mercado de reposição (DNPM, 2013).

A exposição ao Pb é caracterizada como ocupacional quando decorre da utilização do metal em alguma etapa no processo de trabalho (PAOLIELLO; DE CAPITANI, 2007) Hipkins e colaboradores (1998) listaram mais de 200 atividades envolvendo a exposição de trabalhadores ao Pb. No Brasil, a principal fonte de exposição ocupacional ocorre nas fábricas de baterias automotivas, seguida das indústrias de pigmento e o setor eletro-eletrônico (soldas e ligas) (DE CAPITANI; PAOLIELLO; ALMEIDA, 2009).

Neste contexto, o Ministério do Trabalho e Emprego do Governo Federal do Brasil, estabeleceu diretrizes com o objetivo de minimizar os efeitos adversos causados pela exposição ao metal. A Norma Regulamentadora nº 15 (NR-15. Portaria MTb nº 3.,214, de 08 de junho de 1978) estabeleceu os limites de tolerância em relação à sua concentração máxima no ambiente de trabalho, fixado em 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de ar (para jornadas de 48 horas semanais). Ainda, de acordo com a NR-15, a exposição ao Pb em fábricas de baterias é classificada como “insalubridade de grau máximo”. Já a Norma Regulamentadora nº7 (NR-7. Portaria GM n,º 3.214, de 08 de

junho de 1978, modificada pela Portaria SSST n.º 24, de 29 de dezembro de 1994) estabeleceu os bioindicadores de exposição e efeito, para monitoramento biológico dos trabalhadores expostos e são eles: concentrações de Pb no sangue (Pb-S) e do ácido delta-aminolevulínico urinário (ALA-U), respectivamente. Alternativamente, a determinação da zincoprotoporfirina no sangue (ZPP) também pode ser utilizada como um indicador biológico de efeito. Além disso, a NR-7 estabeleceu os Índices Biológicos Máximos Permitidos (IBMP) em trabalhadores expostos ao metal, ou seja, as concentrações máximas permitidas de Pb-S, ALA-U e ZPP: 60 µg/dL, 10 mg/g de creatinina e 100 µg/dL, respectivamente. Ainda, a NR-7 apresenta os valores denominados de referência, levando em conta dados obtidos de populações não expostas ao Pb no ambiente de trabalho: até 40 µg/dL de Pb-S, até 4,5 mg de ALA-mg/g creatinina e até 40 µg/dL de ZPP.

Para efeitos de comparação, os valores permissíveis adotados nos Estados Unidos, sob regulamentação da Administração de Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA, EUA), determina que o ambiente de trabalho não deva exceder a concentração de 30 µg/m<sup>3</sup> de ar; já em relação ao bioindicador de exposição, Pb-S, as concentrações do metal não devem ultrapassar 40 µg/dL; valores estes utilizados como “referência” em populações brasileiras não expostas. A OSHA não estabelece limites para concentrações de ALA-U e ZPP, uma vez que a relação entre a exposição ao metal e as concentrações destes biomarcadores não estão muito bem estabelecidas e podem apresentar amplas variações. Comparando-se as legislações, um enorme contraste é observado em relação aos limites das concentrações de Pb no ambiente: como mencionado, no Brasil, a legislação estabelece a concentração de 100 µg de Pb/m<sup>3</sup>; esta mesma concentração, de acordo com o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH, EUA),

é caracterizada como “concentração imediatamente perigosa à vida ou à saúde”. A discrepância entre estes dados demonstra a necessidade de uma revisão da legislação brasileira, que se encontra defasada (a última atualização a respeito foi publicada em 1994).

Embora diversos estudos relacionados ao biomonitoramento e aos efeitos tóxicos induzidos pela exposição ao Pb tenham sido conduzidos (BERGDAHL ; SKERFVING, 2008; GARCIA-LESTON et al., 2012; GARCON et al., 2004), dados referentes à exposição e efeitos adversos em populações brasileiras são escassos, mas preocupantes, pois apontam para uma prevalência de exposição relativamente alta. Estudos realizados na cidade de Bauru, SP, entre 1985 e 1987 identificaram seiscentos casos de saturnismo entre trabalhadores de fábricas de baterias (CORDEIRO, 1988). O trabalho de Melo Mattos et al., (1994) estudou 1520 trabalhadores na região metropolitana de Belo Horizonte e observou que 70% tinham Pb acima de 40 µg/dL e destes, 38% estavam acima de 60 µg/dL. No estudo realizado por Araújo et al., (1999) com trabalhadores de fábricas de baterias do setor de montagem com mais de seis meses de exposição apresentaram concentrações de Pb-S na faixa de 38-60 µg/dL (média = 48 µg/dL). Este resultado é bastante semelhante ao encontrado por Menegotto e Paoliello (2001), onde a média de Pb-S foi de 45 µg/dL. Em um trabalho prévio do nosso grupo, Silva (2008) relatou uma média de 6,44 µg/dL em população exposta ambientalmente ao metal, próximos a uma fábrica de bateria na cidade de Bauru-SP.

Em 2012, o Programa Nacional de Toxicologia (NTP, DHHS, EUA), publicou uma série de monografias demonstrando que há evidências relacionadas aos efeitos adversos à saúde em adultos com concentrações sanguíneas de Pb menores que 10 µg/dL (tais como aumento da pressão arterial e tremor) e em crianças com



concentrações menores que 5,0 µg/dL (efeitos renais e de desenvolvimento), o que reforça ainda mais a necessidade de uma ampla e constante revisão das legislações vigentes.

### **1.3 Toxicodinâmica do Pb**

Muitos são os mecanismos bioquímicos pelos quais o Pb exerce a sua toxicidade em nível celular e molecular. Sabe-se, por exemplo, que este pode afetar um vasto conjunto de sistemas biológicos, devido à sua capacidade de mimetizar o cálcio nestes sistemas, devido à semelhança bioquímica e biofísica, o que permite o acesso do Pb a organelas críticas, como a mitocôndria (BERNARD, 1999; FLORA; 2012).

Além disso, o Pb possui grande afinidade pelos radicais COOH, NH<sub>2</sub> e SH (presentes em proteínas estruturais, enzimas, sistemas de transporte e receptores), com os quais forma ligações estáveis, podendo induzir alterações na estrutura proteica ou atividade enzimática, (BERNARD, 1999; FLORA; 2012). Neste contexto, o Pb interage com diversas enzimas, tais como as enzimas que participam da síntese do grupo heme e enzimas que atuam como antioxidantes, como a glutathione peroxidase (GURER et al., 2004; SUGAWARA et al., 1991 ONALAJA; CLAUDIO, 2000; KELADA et al., 2001)

#### **1.3.1 Inibição da síntese do grupo heme**

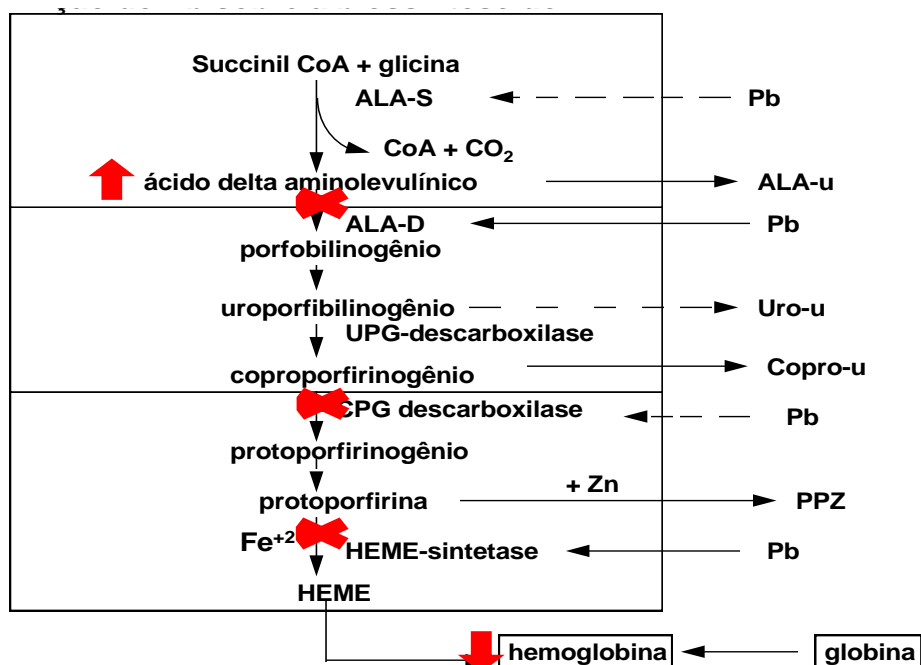
Um dos principais mecanismos de toxicidade do Pb ocorre pela inibição da síntese do grupo heme. O Pb interfere com a síntese do heme pela inibição de três

enzimas da síntese: a enzima ácido delta-aminolevulínico desidratase (ALAD), a coproporfirina oxidase e a ferroquelatase (WHO, 1995; OSHA, 2008; PAOLIELLO; DE CAPITANI, 2007). A série de reações que conduzem a síntese do grupo heme começa com a succinil coenzima A (CoA) e glicina, e termina com a inserção de um  $Fe^{2+}$  em uma molécula de protoporfirina. No primeiro passo da síntese do heme, a enzima ácido aminolevulínico sintase (ALA-S) catalisa a formação de ALA a partir de glicina e succinil CoA dentro da matriz mitocondrial (RABINOWITZ, 1977, WHO, 1995). Posteriormente, a ALAD catalisa a formação de porfobilinogênio a partir de duas moléculas de ALA. Por fim, no ciclo hematopoiético a enzima ferroquelatase introduz ferro dentro da molécula de protoporfirina para formar o grupo heme (WHO, 1995; OSHA, 2008; PAOLIELLO; DE CAPITANI, 2007).

O Pb apresenta uma grande afinidade ao grupamento -SH da enzima ALAD, inativando-a. Esta inibição resulta na redução da síntese do grupo heme e consequente acúmulo de ALA, o que pode causar diversos danos hematológicos (DUYDU et al., 2001; FARANT ; WIGFIELD, 1982; HOFFMAN et al., 2000). Além disso, está bem estabelecido que o ALA, em altas concentrações, atua como um pró-oxidante, causando também, distúrbios no status redox dos indivíduos (PATRICK, 2006). Vale ressaltar, finalmente, que a inibição da ALAD pelo Pb resulta em uma relação exponencial negativa entre ALAD e Pb no sangue periférico (ONALAJA; CLAUDIO, 2000).

Outra enzima que pode ser inibida é a coproporfirina oxidase, que se utilizando do coproporfirinogênio III formado, gera o protoporfirinogênio, através de reações onde dois grupos propiônicos são descarboxilados em grupos vinílicos. A inibição desta enzima resulta num aumento dos níveis coproporfirina na urina. (FLORA , 2012; WHO, 1995).

Por fim, o Pb interfere na enzima mitocondrialferroquelatase, ao inibir a incorporação de ferro (Fe), já que a ferroquelatase catalisa a inserção de Fe na protoporfirina para formar o grupo heme, componente de hemoglobina (WHO, 1995; OSHA, 2008; PAOLIELLO; DE CAPITANI, 2007), levando aos danos anteriormente citados. A figura 1 sintetiza a formação e a inibição das enzimas da síntese do grupo heme pelo chumbo.



**Figura 1** - Desenho esquemático da biossíntese do heme, indicando as enzimas inibidas pelo Pb (Adaptado de ONALAJA; CLAUDIO, 2000)

### 1.3.2 Pb e estresse oxidativo: papel da glutatona peroxidase

Está bem estabelecido que o Pb forma complexos estáveis com ligantes contendo enxofre, fósforo, nitrogênio ou oxigênio, como por exemplo, grupamentos –SH, –H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>, –NH<sub>2</sub>, –OH (ATSDR, 2007; SARYAN ; ZENZ, 1994).

As interações bioquímicas do Pb com grupamentos –SH são consideradas de grande significado toxicológico, visto que, o metal pode se ligar a diversos antioxidantes endógenos, ocasionando um desequilíbrio do estado redox celular e, desta maneira, elevar as concentrações de espécies reativas do oxigênio (EROs) e radicais livres, tais como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (HALLIWEL ; GUTTERIDGE, 1989; GURER et al., 2004; SUGAWARA et al., 1991). Este desequilíbrio entre as defesas antioxidantes celulares e as espécies oxidantes gera um estado pró-oxidante também conhecido como estresse oxidativo, levando a danos em proteínas, lipídeos e DNA (JOMOVA ; VALKO, 2011; VALKO et al., 2005).

Dentre os antioxidantes endógenos aos quais o Pb pode se ligar, destacam-se o tripeptídeo glutatona (GSH) e as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). Esta última, particularmente, é uma selenoproteína que contém um resíduo essencial de selenocisteína no seu sítio ativo. Como proposto na literatura, o sítio catalítico da GPx envolve esta enzima, no estado reduzido, reagindo como selenolato (Ez-Se-) com o hidroperóxido, resultando em um derivado do ácido selênico. O hidroperóxido é reduzido ao álcool correspondente (Ez-SeOH) e em uma reação de duas etapas com GSH e através da forma selenossulfeto (Ez-SeSG), o selenol reduzido é regenerado, desta maneira ocorre inibição da formação de espécies reativas de oxigênio, tais como peróxido de hidrogênio e peroxinitrito (HARRIES et al., 1997; GRANDO, 2009).

Estudos tem demonstrado um aumento na atividade e expressão de GPx em indivíduos expostos ao Pb (SOLLIWAY et al., 1996; OKTEM et al., 2004; ERGURHAN-ILHAN et al., 2008; KASPERCZYK et al., 2009; KASPERCZYK et al., 2012). Este aumento da enzima seria um mecanismo de defesa contra os danos

oxidativos causados no eritrócito pela exposição ao metal (ERGURHAN-ILHAN et al., 2008; OKTEM et al., 2004). Kasperczyk et al. (2004), por sua vez, avaliaram a atividade de GPx em dois grupos de indivíduos expostos ao Pb: um grupo composto por indivíduos com concentração de Pb-S de até 40 ug/dL e outro grupo formado por indivíduos cuja concentração de Pb-S era superior a 40 ug/dL. De maneira interessante, constatou-se que a atividade de GPx estava aumentada no primeiro grupo e reduzida no segundo. Adicionalmente, Sugawara et al. 1991 observaram que a incubação de sangue com Pb na concentração de 100 ug/dL reduziu significativamente a atividade de GPx. Estes dados sugerem que em altas concentrações de Pb há uma redução da atividade desta enzima, possivelmente relacionada à elevada formação de radicais livres, levando a depleção de enzimas antioxidantes, como a GPx (GROVER et al., 2010).

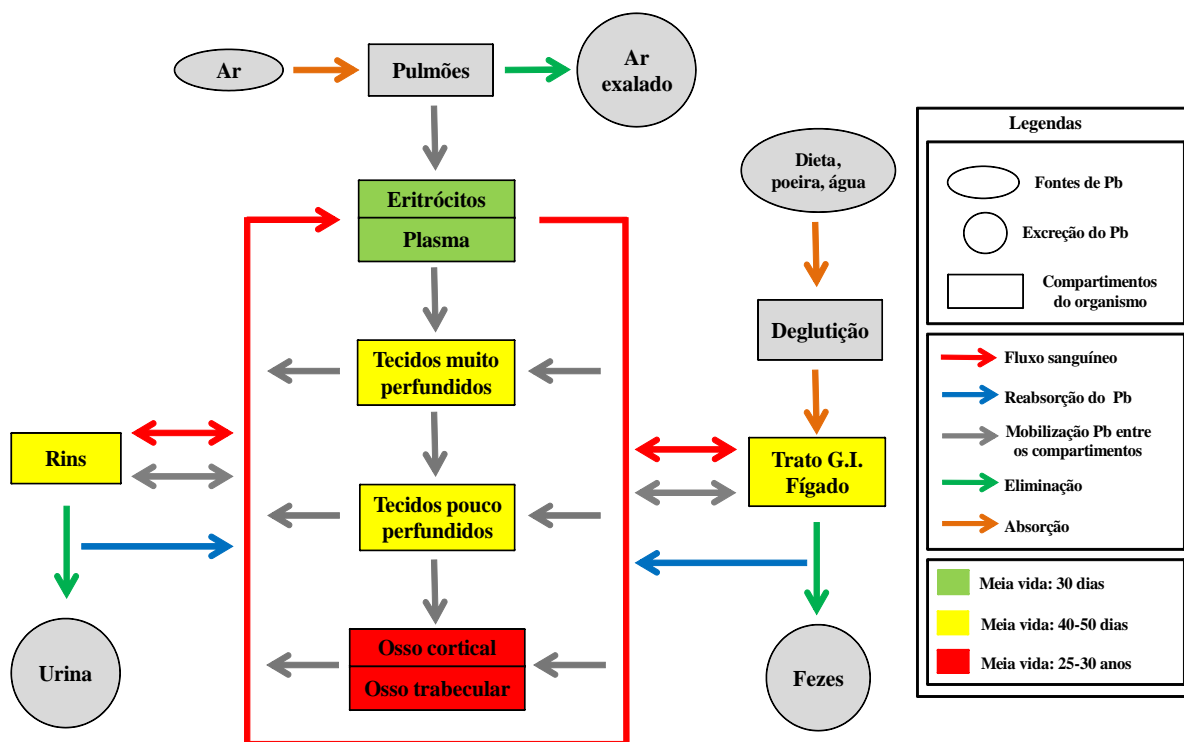
### **1.3 Toxicocinética do Pb**

O Pb é absorvido principalmente através dos tratos respiratório e gastrointestinal; no caso das exposições ocupacionais a via respiratória constitui-se na mais importante (ATSDR, 2007; BAIRD, 2002; MOREIRA; MOREIRA, 2004) e cerca de 95% do Pb inalado atinge a corrente sanguínea (ATSDR, 2007). Uma vez absorvido, 99% de todo o Pb-S fica ligado aos eritrócitos e sua meia vida biológica no sangue é de aproximadamente 30-40 dias. O metal livre no plasma (1%) é então distribuído para os tecidos moles, como por exemplo, fígado, rins, cérebro, pulmões e baço com meia vida biológica de 40 dias. Embora apenas 1% do Pb esteja no plasma (Pb-P), é nesta fração do sangue em que o metal está mais biodisponível, aumentando sua toxicidade (POUNDS; LONG. 1991; RABINOWITZ 1991; SCHUTZ,1996).

O Pb também é distribuído para os tecidos calcificados, onde a meia vida biológica é de cerca de 30 anos (LIU et al., 2010). Este fenômeno se deve ao fato de que os ossos são compostos basicamente por cálcio (Ca); o Pb e o Ca apresentam raios atômicos semelhantes; deste modo o Pb compete com o Ca e pode então, ser incorporado aos ossos (BRONNER, 1992; RABINOWITZ, 1991). Portanto, os ossos (e em menor escala, os dentes) são os principais sítios de armazenamento do metal, chegando a constituir 90% de todo o metal presente no organismo (POUNDS et al., 1991; RABINOWITZ, 1991). Sendo assim, mesmo após anos do término da exposição do indivíduo ao metal, o Pb pode ser deslocado do tecido ósseo para a corrente sanguínea, tanto por mecanismos fisiológicos, tais como a gravidez e a menopausa, quanto por patologias, como por exemplo, a osteoporose (GULSON et al.; 2003; LAMKE et al., 1977; MANTON et al., 2003; PITKIN et al., 1979; SCHNAAS et al., 2006).

Em relação ao seu metabolismo e excreção, cerca de 2/3 do Pb absorvido é eliminado pela urina e o restante pelas fezes. Em ambas as vias de eliminação, o metal pode sofrer reabsorção nos túbulos renais distais e através do sistema entero-hepático. O Pb também é eliminado através do cabelo, suor, saliva e unhas, mas a taxa de eliminação destes sistemas é virtualmente nula, quando comparada aos sistemas renal e hepático (GOYER ; CLARKSON, 2010).

A Figura 2 ilustra a cinética do metal no organismo. Com base no esquema desta figura pode-se presumir que alterações em um ou mais eventos relacionados à absorção, distribuição, metabolismo e excreção do Pb podem alterar a relação entre a exposição e as concentrações do metal no sangue, plasma, urina e/ou fezes e, conseqüentemente, modular os efeitos adversos causados pela exposição ao Pb.



**Figura 2:** Esquema da toxicocinética do Pb. Modificado de O'Flaherty, 1998.

#### 1.4 Efeito de polimorfismos genéticos sobre a toxicocinética do Pb

Estudos demonstram que alterações genéticas podem exercer influência sobre o metabolismo e sobre a toxicidade induzida pelo metal (ONALAJA; CLAUDIO, 2000; FLORA, 2012). De maneira diferente ao que se refere a estudos sobre os efeitos genéticos e toxicidade de outros elementos tóxicos como arsênio (As), cádmio (Cd) e mercúrio (Hg) (ËNGSTROM, et al., 2008; MIURA, 2009; VAHTER, 2000), muito pouco se sabe a respeito do impacto de alterações genéticas que possam modular a cinética e os efeitos adversos induzidos pelo Pb. ( ONALAJA; CLAUDIO, 2000; GUNDACKER, 2010)

Em uma revisão recente, Gundacker e colaboradores (2010) alertaram sobre necessidade de estudos que visem avaliar os efeitos genéticos na cinética do Pb,

uma vez que o *background* genético é muito mais conhecido para a toxicocinética do mercúrio que para o chumbo. Afirmam ainda que as variantes genéticas do ácido delta-aminolevulínico desidratase (*ALAD*), do receptor da vitamina D (*VDR*) e da hemocromatose (*HFE*) são os únicos marcadores de suscetibilidade da toxicidade do chumbo em humanos, muitas lacunas permanecem no nosso conhecimento a respeito da genômica funcional nesta questão.

Neste contexto, os polimorfismos genéticos são importantes variantes genéticas, caracterizadas por variações específicas na sequência de bases do gene e são encontradas com frequência mínima de 1% em uma população (COLLINS; MCKUSICK, 2001). Os polimorfismos mais comuns são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), caracterizados pela substituição de um único nucleotídeo na sequência de bases, podendo deste modo alterar a estrutura e/ou função da proteína correspondente (CRAWFORD; AKEY ; NICKERSON, 2005).

#### **1.4.1 Polimorfismos genéticos da ALAD**

O gene da ALAD está localizado no cromossomo 9q34 e foi primeiramente descrito por Battistuzzi et al, (1981). Ele é um exemplo de polimorfismo que pode alterar a concentração do Pb no organismo. Wetmur et al. (1991) mostraram que este polimorfismo resulta de uma transversão G para C na posição 177 (SNP rs1800435), levando a uma mudança não-conservadora no resíduo de aminoácido 59 de lisina (Lys) para asparagina (Asn) e conduzindo assim a dois alelos (ALAD1 e ALAD2) e três isoenzimas, designado ALAD 1-1, ALAD 1-2 e ALAD2-2, (BATTISTUZZI et al., 1981).



Estudos demonstram que o alelo ALAD 2 é menos comum nas populações, sendo encontrado em 20% em populações caucasianas, aproximadamente em 10% em asiáticos e raramente em africanos (SUZEN et al., 2004; KELADA et al., 2001; MIYAKI et al., 2009; FUJIHARA et al., 2009).

Mesmo sendo menos comum, alguns estudos demonstraram que portadores do alelo ALAD 2 possuem alta afinidade por Pb e conseqüentemente maiores concentrações de Pb no sangue (ZIEMSEN et al., 1986; ONALAJA; CLAUDIO, 2000), já que a enzima produzida pelo gene polimórfico é mais eletronegativa que a enzima produzida pelo heterozigoto e homozigoto ALAD 1 (BATTISTUZZI et al., 1981; WETMUR et al., 1991). Um estudo com 202 trabalhadores ocupacionalmente expostos ao Pb mostrou que os indivíduos que carregavam uma ou duas cópias do alelo ALAD 2 apresentaram concentrações mais elevadas do metal no sangue do que os indivíduos com ALAD 1 no gene (ZIEMSEN et al., 1986). Astrin et al., 1987 determinaram o genótipo em mais de 1000 amostras de sangue submetidas a um programa de rastreio de exposição ao chumbo (*"New York Lead Scree-ning"*) e detectaram que portadores do alelo ALAD 2 nos trabalhadores expostos, para níveis de exposição mais elevados, tinham valores de plumbemia (concentrações de Pb no sangue) até 4 vezes mais elevados do que os indivíduos ALAD 1-1 (só 8% dos que possuíam o alelo ALAD 2 tinham níveis de plumbemia abaixo dos 30µg/dl), mostrando que a presença do ALAD 2 está relacionada com o aumento do teor de Pb no sangue dos indivíduos expostos.

Miyaki et al (2009) também demonstraram, em um estudo com 101 trabalhadores de indústria química japonesa que indivíduos com genótipo ALAD 2 apresentavam concentrações de Pb significativamente maiores que indivíduos portadores do genótipo ALAD 1. No entanto, estudos realizados por Schwartz et al.,

1995; Sakai et al., 2000; Pawlas et al., (2012) não encontraram diferença para as concentrações de Pb em sangue entre portadores dos alelos ALAD 1 e ALAD 2.

Para avaliar a biodisponibilidade do metal entre os diferentes genótipos, Schwartz et al., (1997) administraram um quelante (Ácido dimercaptosuccínico - DMSA) em 57 indivíduos de uma fábrica de baterias. Nas 4 horas seguintes, os pesquisadores registraram uma excreção urinária de Pb mais elevada nos indivíduos *ALAD 1-1* do que nos portadores dos genótipos *ALAD 1-2/2-2*. Neste sentido, os autores concluíram que, como os portadores do alelo *ALAD 2* têm menos Pb biodisponível, estão sob menor risco do que os homocigóticos *ALAD 1-1*. No entanto, o fato de os indivíduos *ALAD 1-2/2-2* excretarem menos Pb, também pode indicar maior dano renal (SCHWARTZ et al., 1995). Estudos realizados em que se compararam os indicadores de função renal em indivíduos expostos ocupacionalmente concluem que os portadores do alelo *ALAD 2* parecem ser mais susceptíveis aos efeitos nefrotóxicos, especialmente a níveis de exposição mais elevados (BERGDAHL et al., 1997; SMITH et al., 1995).

Montenegro et al. (2006), que avaliaram indivíduos ambientalmente expostos ao Pb, encontraram maior concentração de Pb em plasma dos sujeitos *ALAD 1-2/ALAD 2-2* e maiores proporções na taxa de relação Pb plasma/Pb sangue desses genótipos em relação a indivíduos *ALAD 1-1*. Os índices mais elevados das taxas de Pb plasma/Pb sangue em portadores de alelo *ALAD 2* comparados com não portadores, indicam que *ALAD 1-2 / 2-2* estão provavelmente associados ao aumento do risco à saúde na exposição ao metal.

Por outro lado, estudos sugerem um papel protetor da *ALAD 2*. Em um estudo realizado com 65 trabalhadores expostos ao Pb, a presença de ALA no plasma foi cerca de 30% maior em indivíduos portadores do genótipo *ALAD 1-1* do que em

indivíduos *ALAD1-2* heterozigoto, isto é significativo uma vez que tem sido argumentado que efeitos neurológicos do Pb são devidos em parte a neurotoxicidade do ALA (SITHISARANKUL et al., 1997). Num estudo com adolescentes expostos ambientalmente, os que tinham o alelo *ALAD 2* obtiveram melhores resultados nos testes neurocomportamentais do que os homozigóticos *ALAD 1-1* (BELLINGER et al., 1994). Do mesmo modo, trabalhadores *ALAD 1-1* expostos a níveis elevados obtiveram piores resultados nos testes de rapidez e percepção motora, sugerindo que o alelo *ALAD 2* parece ter algum papel protetor contra a neurotoxicidade (CHIA;YAP; CHIA,2004 ).

Mesmo que a associação entre os genes da *ALAD* e a exposição ao metal já tenham sido avaliadas em várias populações, poucos trabalhos foram conduzidos com o intuito de avaliar populações expostas no Brasil (MONTENEGRO et al., 2006). Já é conhecido que diferenças nos processos de detoxificação de xenobióticos estão associados com variações genéticas populações-específicas (POLIMANTI et al., 2011; 2013). Além disso, evidências sugerem que a *ALAD* desempenha um importante papel na bioacumulação do Pb, exatamente como *ALAD* e polimorfismos da *ALAD* influenciam a distribuição do metal para órgãos alvos é ainda uma questão aberta para pesquisas.

#### **1.4.2 Polimorfismos genéticos da GPx**

O gene que codifica a GPx está localizado no cromossomo 3p21,3 e também é um gene polimórfico. Neste sentido, o polimorfismo a ser estudado (C →T; rs1800668) apresenta diferentes frequências nas populações, enquanto a frequência do alelo polimórfico na população caucasiana e africana é de

aproximadamente 25%, em populações asiáticas sua frequência é baixa (7%) (KISS et,al, 1997).

Estudos com polimorfismo da *GPx* descrevem aumento do risco de câncer de pulmão e de mama, aumento do risco de doenças cardiovasculares e doença vascular periférica em pacientes diabéticos (VALKO et al., 2006; AMORIM et al.,2000). No trabalho de Hamanishi et al. (2004) foi observado que os polimorfismos no gene da *GPx* podem afetar eventos inflamatórios. Já o trabalho de Najafi (2012) sugere que indivíduos portadores do alelo variante possuíam menor atividade da enzima quando comparados com indivíduos homozigotos e pode estar relacionado com desenvolvimento de eventos inflamatórios.

No estudo feito por Silva (2008) não foi observado nenhum efeito do genótipo sobre o estresse oxidativo em população exposta ambientalmente a baixas concentrações de Pb. No entanto, ainda faltam estudos na literatura relacionando os polimorfismos da *GPx* à atividade da enzima codificada por este gene, bem como à concentração de Pb-S, já que a enzima *GPx* como descrita anteriormente, desempenha um papel extremamente importante na detoxificação das espécies reativas de oxigênio produzidas pelo metal.

---

# **CONCLUSÃO**

---

## 6 CONCLUSÃO

No presente trabalho, constatamos que os trabalhadores de fábricas de bateria apresentaram uma concentração média de Pb-S de  $22,8 \pm 14,7 \mu\text{g/dL}$ . Constatamos também que a concentração de Pb-S se correlaciona negativamente com a atividade de ALAD e com a atividade de GPx. Além disso, verificamos uma correlação negativa entre atividade de ALAD e atividade de GPx.

Concluíamos ainda que o genótipo ALAD 1-1 do polimorfismo rs1800435 do gene *ALAD* está associado a uma maior atividade da enzima ALAD nos indivíduos expostos ao Pb. Por sua vez, o polimorfismo rs1800668, localizado no gene que codifica a enzima GPx, não modula a atividade desta enzima nos indivíduos expostos ao metal. Ambos os polimorfismos dos genes *ALAD* e *GPx* parecem não influenciar nas concentrações de Pb-S na população estudada.

# ***REFERÊNCIAS***

---

---

## REFERÊNCIAS

AHAMED, M. et al. Oxidative stress and neurological disorders in relation to blood lead levels in children. **Redox Rep**, v. 13, n. 3, p. 117-122, 2008.

AMORIM, M.I.; et al. Cytogenetic damage related to low levels of methyl mercury contamination in the Brazilian Amazon. **Anais de Academia Brasileira de Ciências**, v. 72, p. 497-507, 2000

ARAÚJO, U. et al. Avaliação da exposição ocupacional ao chumbo: proposta de uma estratégia de monitorização para a prevenção de efeitos clínicos e sub-clínicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v.15, p.123-131, 1999.

ASTRIN, K.H.. BISHOP. D.F.. WETMUR. J.G.. *et al.* *Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase Isozymes and Lead Toxicity*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 514, p. 23-29, 1987

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for lead. U.S. **Department of Health and Human Services. Public Health Service**. 2007.

BAIRD, C. Metais pesados tóxicos. In: **Química Ambiental 2<sup>a</sup>**. ed. São Paulo: Bookman: 403-439, 2002

BATISTA, B.L. et.al. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 639, p. 13-18, 2009

BATTISTUZZI, G.; PETRUCCI. R.; SILVAGNI.L.; URBANI. F.R.; CAIOLA .S. Delta-Aminolevulinic acid dehydratase: a new genetic polymorphism in man. **Annals of Human Genetics**, v.45, p.223–229, 1981

BHATTI, P. et al. Lead exposure, polymorphisms in genes related to oxidative stress, and risk of adult brain tumors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 18, n. 6, p. 1841-1848, 2009.

BERNARD, A., *Mechanisms of Lead Toxicity and Carcinogenicity*, in, International Conference: Lead exposure, reproductive toxicity and



carcinogenicity, Abstract Book. Milan: Studio AES – Servizi Congressuali, Gargnano, Italy, 1999

BERGDAHL, I.A. et al. Lead concentrations in human plasma, urine and whole blood. *Scand. Journal Work Environmental Health*, v.23, p. 359-363, 1997.

BELLINGER, D.. HU. H.. TITLEBAUM. L.. *et al.. Attentional Correlates of Dentin and Bone Lead Levels in Adolescents. Archives of Environmental Health*, v. 49, p. 98-105, 1994

BERGDAHL, I.A.. SKERFVING S. Biomonitoring of lead exposure-alternatives to blood. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, v. 71, p. 1235-1243, 2008.

BOKARA, K.K. et al. Influence of lead acetate on glutathione and its related enzymes in different regions of rat brain. *Journal of Applied Toxicology*, v. 29, p. 452–458, 2009.

BRONNER, F. Bone and calcium homeostasis. *Neurotoxicology*, v.13 p. 775-782, 1992.

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

COLLINS, F. S.; MCKUSICK, V. A. Implications of the Human Genome Project for medical science. *JAMA*, v. 285, p. 540-544, 2001

CONTERATO, G. M. et al. Blood thioredoxin reductase activity, oxidative stress and hematological parameters in painters and battery workers: relationship with lead and cadmium levels in blood. *J Appl Toxicol*, v. 33, n. 2, p. 142-150, 2013.

CORDEIRO, R. O saturnismo em Bauru. In: Pimenta A.L.. Costa Filho D.C. (Org.). *Saúde do trabalhador*. São Paulo. Hucitec. 47-83. 1988

CORDEIRO, R.. LIMA-FILHO. E.C. A inadequação dos valores dos limites de tolerância biológica para a prevenção da intoxicação profissional pelo chumbo no Brasil. *Cadernos. de Saúde Pública*, v.11, p. 177-186, 1995.

CRAWFORD, D. C.; AKEY. D.T.; NICKERSON. D. A. The patterns of natural variation in human genes. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v.6, p. 287-312, 2005

DE CAPITANI, E.M., PAOLIELLO, M. M. B., ALMEIDA, G.R. C. Fontes de exposição humana a chumbo no Brasil. **Medicina**, v.42, p. 311-318, 2009.

DNPM. Departamento Nacional de Produção Mineral. Sumário Mineral 2012. Disponível em: [https://sistemas.dnpm.gov.br/publicacao/mostra\\_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=7379](https://sistemas.dnpm.gov.br/publicacao/mostra_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=7379) acessado em 10/01/2013.

DUYDU, Y. et al. Correlation between lead exposure indicators and sister chromatid exchange (sce) frequencies in lymphocytes from inorganic lead exposed workers. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 41, p. 241- 246, 2001.

ENGSTRÖM, K.S. et al. Genetic variation in glutathione-related genes and body burden of methylmercury. **Environmental Health Perspectives**, v.116, p. 734-739, 2008.

ENGSTRÖM, K.S. et al. Evaluation of the impact of genetic polymorphisms in glutathione-related genes on the association between methylmercury or n-3 polyunsaturated long chain fatty acids and risk of myocardial infarction: a case-control study, **Environmental Health**. v. 19, p. 10-33, 2011.

ERGURHAN-ILHAN, I. et al. Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead. **Pediatrics International**, v. 50, p. 45–50, 2008

FARANT, J.P.. WIGFIELD. D.C. Biomonitoring lead exposure with delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activity ratios. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 51, p. 15-24, 1982.

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

FLORA, S.J.S. et al. Environmental occurrence. health effects and management of lead poisoning. In: José SC. José S. eds. **Lead**. Amsterdam. Elsevier Science: 158-228. 2006.

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

GARCIA-LESTON, J. et al. Assessment of immunotoxicity parameters in individuals occupationally exposed to lead. **Journal of Toxicology and Environmental Health part A**, v. 75, p. 807-818, 2012.

GARCON, G. et al. Biologic markers of oxidative stress and nephrotoxicity as studied in biomonitoring of adverse effects of occupational exposure to lead and cadmium. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 46, p. 1180-1186, 2004.

GRANDO, J.P.; KUASNE, H.; LOSI-GUEMBAROVSKI, R.; et al. Association between polymorphisms in the biometabolism genes CYP1A1. GSTM1. GSTT1 and GSTP1 in bladder cancer. **Clinical Experimental Medicine**, v. 9, p. 21-28, 2009

GULSON, B.L. et al. Mobilization of lead from human bone tissue during pregnancy and lactation - a summary of long-term research. **Science of the Total Environment**, v. 303, p. 79-104, 2003.

GROVER, P. et al. Genotoxicity evaluation in workers occupationally exposed to lead. **Int J Hyg Environ Health**, v. 213, n. 2, p. 99-106, 2010

GUNDACKER, C. et al. The relevance of the individual genetic background for the toxicokinetics of two significant neurodevelopmental toxicants: mercury and lead. **Reviews in Mutation Research**, v. 705, p. 130-140, 2010.

GURER, H. et al. Correlation between clinical indicators of lead poisoning and oxidative stress parameters in controls and lead-exposed workers. **Toxicology**, v. 195, p. 147-154, 2004

HALLIWELL, B.. GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. Oxford. Clarendon Press, p. 86–123, 1989.

HAMANISHI, T.; FURUTA, H.; KATO, H.; et al. Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular diseases in japanese type 2 diabetic patients. **Diabetes**, v.53, p. 2455–2460, 2004.

HARRIES, L. W.; STUBBINS, M. J.; FORMAN, D.; HOWARD, G. C. W.; WOLF, C.R. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder. testicular and prostate cancer. **Carcinogenesis**, v. 18 ,p. 641-644,1997

HIPKINS, K.L. et al. Medical surveillance of the lead exposed worker. **Current Guidelines. AAOHN**, v. 46, p.330-339, 1998.

HOFFMAN, D.J. et al. Developmental toxicity of lead-contaminated sediment to mallard ducklings. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, p. 221-32, 2000.

HU, Y. J.; DIAMOND, A. M. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. **Cancer Res**, v. 63, n. 12, p. 3347-3351, 2003.

[ICHIMURA Y](#), [HABUCHI T](#), [TSUCHIYA N](#), [WANG L](#), [OYAMA C](#), [SATO K](#), [NISHIYAMA H](#), [OGAWA O](#), [KATO T](#). Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. **Journal Urology**; v.172, p. 728-32, 2004.

JANGID, A. P. et al. Impact of chronic lead exposure on selected biological markers. **Indian J Clin Biochem**, v. 27, n. 1, p. 83-89, 2012.

JIN, Y. et al. Health effects in children aged 3-6 years induced by environmental lead exposure. **Ecotoxicol Environ Saf**, v. 63, n. 2, p. 313-317, 2006.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, v. 283, p. 65-87, 2011.

KASPERCZYK, S.. et al. Activity of glutathione peroxidase. glutathione reductase. and lipid peroxidation in erythrocytes in workers exposed to lead. **Biological Trace Elements Research**, v.102. p. 61–72, 2004.

KASPERCZYK, S. et al. The role of the antioxidant enzymes in erythrocytes in the development of arterial hypertension among humans exposed to lead. **Biol Trace Elem Res**, v. 130, n. 2, p. 95-106, 2009.

KASPERCZYK, A. et al. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in the blood cells of workers who were occupationally exposed to lead. **Toxicology**, v. 301, n. 1-3, p. 79-84, 2012.

KELADA, S.N. et al. Aminolevulinic acid dehydratase genotype and lead toxicity: A HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, p. 1-13, 2001.

KHAN, D.A. et al. Lead-induced oxidative stress adversely affects health of the occupational workers. **Toxicology and Industrial Health**, v. 24, p. 611-618, 2008.

KISS, C. et al. Assignment of the ARHA and GPX1 genes to human chromosome bands 3p21.3 by in situ hybridization and with somatic cell hybrids. **Cytogenetic and Genome Research**, v.79, p. 228–230, 1997

LAMKE, B. et al. Changes of bone mineral content during pregnancy and lactation. **Acta Obstetrician et Gynecologica Scandinávica**, v. 56, p. 217-219, 1977.

LIU, J. et al. n. In: Klassen. C.D. **Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**. McGraw-Hill: 1309, 2010.

MANTON, W.I. et al. Release of lead from bone in pregnancy and lactation. **Environmental Research**, v. 92, p. 139–151, 2003.

MELO MATTOS, S.V. et al. Evaluation of exposure to lead inorganic compounds in workers of metroplitan Belo Horizonte - 1998 to 1993. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 2,. p. 7–16, 1994.

MENDES, R. Efeitos da exposição profissional ao chumbo em trabalhadores de duas regiões do estado da Bahia [Effects of lead occupational exposure in woekers from two regions of the state of Bahia]. **Rev. Bras. Saúde Ocup.** v.2, p. 37–45, 1974.

MENDES, R. Effects of lead on workers living in areas with highly endemic intestinal helminthiasis. **J. Occup. Med.** v.19, p. 498–499, 1977.

MENEGOTTO, R.M. ; PAOLIELLO, M.M.B. Exposição Ocupacional ao Chumbo e Influência nos Índices Hematológicos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.14, p. 31-34, 2001.

Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978. **Norma Reguladora 15 (NR-15)**: Atividades e Operações Insalubres.

Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978. **Norma Reguladora 7 (NR-7)**: Programa de Controle Médico em Saúde Ocupacional. Modificada pela Portaria SSST n.º 24. de 29 de dezembro de 1994.

MIURA, N. Individual susceptibility to cadmium toxicity and metallothionein gene polymorphisms: with references to current status of occupational cadmium exposure. **Industrial Health**, v. 47, p. 487-494, 2009.

MIYAKI, K. et al.. Association between a polymorphism of aminolevulinate dehydrogenase (ALAD) gene and blood levels in Japanese subjects. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.6, p. 999-1009, 2009

MONTEIRO, H. P. et al. Oxygen toxicity related to exposure to lead. **Clin Chem**, v. 31, n. 10, p. 1673-1676, 1985.

MONTENEGRO, M. F.; BARBOSA, F. JR.. SANDRIM, V.C. et al. A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene modifies plasma/whole blood lead ratio. **Archives of Toxicology**, v. 80, p. 394–398, 2005

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C.A. Cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência e Saúde Coletiva** , v. 1, p. 167-181, 2004.

MOREIRA. M.F.R.. Neves. E.B. Use of urine lead level as an exposure indicator and its relationship to blood lead. **Cadernos de Saude Publica**, v.24, p. 2151-2159, 2008.

NAJAFI, M. et al. Phenotype and genotype relationship of glutathione peroxidase1 (GPx1) and rs 1800668 variant: the homozygote effect on kinetic parameters. **Gene**, v. 505, n. 1, p. 19-22, 2012.

NAVAS-ACIEN, A. et al. Lead exposure and cardiovascular disease--a systematic review. **Environ Health Perspect**, v. 115, n. 3, p. 472-482, 2007.

NIOSH. The National Institute for Occupational Safety and Health. Chemical Listing and Documentation of Revised IDLH Values (as of 3/1/95).

NTP. National Toxicology Program: NTP Monograph on health effects of low-level lead. Junho de 2013.

O'FLAHERTY, E.J. Physiologically based models of metal kinetics. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 28, p. 271-317, 1998.

OKTEM, F. et al. Renal effects and erythrocyte oxidative stress in long-term low-level lead-exposed adolescent workers in auto repair workshops. **Arch Toxicol**, v. 78, n. 12, p. 681-687, 2004.

ONALAJA, A. O.; CLAUDIO, L. Genetic susceptibility to lead poisoning. **Environ Health Perspect**, v. 108 Suppl 1, p. 23-28, 2000

OSHA. Occupational Safety and Health Administration. Occupational Safety and Health Standards. Subpart Title: Toxic and Hazardous Substances. Standard Number: 1910.1025. Title: Lead.

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of . Laboratory and Clinical Medicine**, v. 70, p. 158-169, 1967.

PAOLIELLO, M.M.B.; DE CAPITANI, .E.M. Chumbo. In: **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo. Atheneu: 353-398, 2003.

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

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

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

PEARCE, J.M. Burton's line in lead poisoning. **European neurology**, v.57, p. 118-119, 2007

PEIXE, T. S. et al. Occupational exposure profile of Pb, Mn, and Cd in nonferrous Brazilian sanitary alloy foundries. **Toxicol Ind Health**, 2012.

PITKIN, R.M. et al. Calcium metabolism in normal pregnancy: a longitudinal study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 133, p. 781-790, 1979.

POLIMANTI, R. et al. HapMap-based study of human soluble glutathione S-transferase enzymes: the role of natural selection in shaping the single nucleotide polymorphism diversity of xenobiotic-metabolizing genes. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 21, p. 665-672, 2011.

POLIMANTI, R. et al. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations: functional inter-ethnic differences in detoxification systems. **Gene**, v. 512, p. 102-107, 2013.

POUNDS, J.G. et al. Cellular and molecular toxicity of lead in bone. **Environ Health Perspect**, v. 91, p. 17-32, 1991.

RABINOWITZ, M. B.; WETHERILL, G. W.; KOPPLE, J. D. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. **J Clin Invest**, v. 58, n. 2, p. 260-270, 1976.

RABINOWITZ, M.B. et al. Dentine lead and child intelligence in Taiwan. **Archives of Environmental Health**, v. 46, p. 351-360, 1991.

RATNASINGHE, D. et al. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increase lung cancer risk. **Cancer research**, v.60, p.6381-6383, 2000

SAKAI, T.; MORITA, Y. delta-Aminolevulinic acid in plasma or whole blood as a sensitive indicator of lead effects, and its relation to the other heme-related parameters. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 68, n. 2, p. 126-132, 1996

SAKAI, T. Biomarkers of Lead Exposure. **Industrial Health**, v. 38, p.127-142, 2000



SARYAN, L.A.. ZENZ.C. Lead and its compounds. In: Zenz O.C. et al. (Eds). **Occupational medicine**, 3ª ed. St. Louis. Mosby-Year Book: 506–541, 1994.

SASSA, S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. **Enzyme**, v. 28, n. 2-3, p. 133-145, 1982

SCHNAAS, L. et al. Reduced intellectual development in children with prenatal lead exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, p. 791-799, 2006.

SCHUTZ, A. et al. Measurement by ICP-MS of lead in plasma and whole blood of lead workers and controls. **Occup Environ Med**, v. 53, n. 11, p. 736-740, 1996.

SCHWARTZ, B. S. et al. Associations of Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase Genotype with Plant. Exposure Duration. and Blood Lead and Zinc Protoporphyrin Levels in Korean Lead Workers. **American Journal of Epidemiology**, v.142, p. 738-745,1995

SCHWARTZ, B. S. et al. delta-Aminolevulinic acid dehydratase genotype modifies four hour urinary lead excretion after oral administration of dimercaptosuccinic acid. **Occup Environ Med**, v. 54, n. 4, p. 241-246, 1997.

SCHWARTZ, B.S. et al. Associations of blood lead. dimercaptosuccinic acid chelatable lead. and tibia lead with polymorphisms in the vitamin D receptor and [delta]-aminolevulinic acid dehydratase genes. **Environmental Health Perspectives**. v. 108. p. 949–954. 2000.

SMITH, C.M.; WANG. X; HU, H.; KELSEY, K.T. A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene may modify the pharmacokinetics and toxicity of lead. **Environ Health Perspectives**, v. 103, p. 248–253, 1995

SITHISARANKUL, P.; SCHWARTZ .B.S; LEE .B.K.; KELSEY. K.T.; STRICKLAND. P. T. Aminolevulinic acid dehydratase genotype mediates plasma levels of the neurotoxin. 5-aminolevulinic acid. in lead-exposed workers. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 32, p. 15-20,1997

SILVA, F. V. Avaliação da influência do polimorfismo Pro198Leu da glutationa peroxidase sobre o estresse oxidativo em população exposta ao chumbo. Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008.

SOLLIWAY, B. M. et al. Effects of exposure to lead on selected biochemical and haematological variables. **Pharmacol Toxicol**, v. 78, n. 1, p. 18-22, 1996.

SUGAWARA, E. et al. Lipid peroxidation and concentration of glutathione in erythrocytes from workers exposed to lead. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 48, p. 239-42, 1991.

SUZEN, H.S. et al. Influence of the delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism on biomarkers of lead exposure in turkish storage battery manufacturing workers. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 43, p. 165–171, 2004.

VAHTER, M. Genetic polymorphism in the biotransformation of inorganic arsenic and its role in toxicity. **Toxicology Letters**, v. 15, p. 209-217, 2000.

VALKO, M. et al. Metals. toxicity and oxidative stress. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 1161-1208, 2005.

VALKO, M.; et al.. Free radicals.metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico - Biological Interactions**, v. 160. p. 1-40. 2006

[VAZIRI, N.D.](#); [KHAN, M.](#) Interplay of reactive oxygen species and nitric oxide in the pathogenesis of experimental lead-induced hypertension. V. 34, p. 920-925, 2007

WETMUR , J. G.; KAYA , A. H.; PLEWINSKA. M.; DESNICK, R.J. Molecular characterization of the human 8-aminolevulinic acid dehydratase 2 (ALAD2) allele: implications for molecular screening of individuals for genetic susceptibility to lead. **American Journal of Human Genetic**, v. 49, p.757-763, 1991

WHO IPCS Environmental Health Criteria, Lead. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Willams PL, James RC and Roberts SM (2000) Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications. 2nd ed. New York, NY: John Wiley & Sons, pp. 384–395, 1995

ZIEMSEN, B.; ANGERER.,J.; LEHNERT .G.; BENKMAN. H. G.; GOEDDE. H. W. Polymorphism of 8-aminolevulinic acid dehydratase in lead exposed workers. **International Archives of Occupational and Environmental**, v.58, p. 245-247, 1986

ZHAO, Y., Wang, L., Shen, H. B., Wang, Z. X., Wei, Q. Y., Chen, F. Association between delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and blood lead levels: a meta-regression analysis. *J. Toxicol. Environ. Health A* 70: 1986–1994, 2007.

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