Liberación de delta-ala en orina de niños: un indicador de contaminación por plomo en Santiago

(Urine concentration of delta ALA in children: an indicator of lead contamination in Santiago)

Dr. Rubén Cisternas Y., Srta. Mónica Sáez F.

ABSTRACT

The urine concentration of the delta aminolevulinic acid (ALA-U) was measured in the urine of children 2 to 5 years old in child-care centers in central Santiago, in the suburban of Santiago, and also in Rengo. The ALA-U concentration was determined spectro-photometrically at 553 mm, following the method of Wolff. The results show that the highest urine ALA-U concentration were in central Santiago and in San Bernardo.

The rest of the periferal suburbs showed lower ALA-U concentration, and differences between these suburbs were not significant. The concentration in Rengo, however, were significantly lower than in the suburbs. The rate of release of ALA-U is excessively high in central Santiago and San Bernardo. We therefore suggest stricter controls over lead emissions by motor vehicles, as well as from industrial sources.

Bajo el término de "smog", se esconde una gran variedad de sustancias, unas más dañinas que otras. Existen gases, líquidos y partículas sólidas. Los gases más comunes son el SO_2, CO y algunos oxidantes, el resto sólo se estudia, en nuestro medio, como polvo en suspensión y contiene tóxicos que presentan un riesgo para la población, tales como los metales pesados y entre ellos es particularmente tóxico el plomo.

El plomo es agregado como antidetonante a la bencina de los automóviles, a razón de 0,5 gr., por litro de carburante en forma de tetra y trietilo de plomo. Las fundiciones y fábricas de baterías liberan a la atmósfera grandes cantidades de este metal en forma de aerosol.[1,2]

Su efecto tóxico sobre los mamíferos se debe a la inhibición de varias enzimas que participan en la síntesis del hem en los eritroblastos de la médula ósea. Una de ellas es la delta-ALA dehidrogenasa, su inhibición trae como consecuencia una acumulación del ácido delta amino levulínico en la sangre y su consiguiente eliminación en la orina (ALA-U), donde puede ser determinado. Su eliminación aumenta de manera exponencial con respecto al alza de concentración de plomo en la sangre.[3]

Laboratorio de Ecología, Instituto de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El ALA-U, es utilizado corrientemente en medicina ocupacional como un test de exposición precoz en la intoxicación por plomo.[4, 5, 6, 7, 8, 9]

Roels y col.[10, 11], encuentran que los niños son más sensibles a la intoxicación por plomo eliminado más ALA-U que los adultos.

La sensibilidad de este test de exposición a plomo nos ha llevado a utilizarlo como un indicador biológico de la contaminación por plomo en la ciudad de Santiago, comparando áreas periféricas con el centro de la gran ciudad, midiendo el ALA-U en niños cuyas edades fluctúan entre 2 y 5 años. Las mediciones en ellos no se enmascaran por el consumo del cigarrillo, el cuál hace subir los niveles de ALA-U.[12]

SITIO DE EXPERIMENTACION

Santiago se ubica en un valle rodeado por cordones montañosos que confinan el aire en su interior. Los escasos vientos soplan en dirección S., SW y existe una inversión de temperatura casi constante entre 600 y 1.500 m., notoria sobre todo en invierno.

Los vehículos de combustión interna constituyen la principal fuente contaminante para el centro de la ciudad, en donde la edificación en altura inmobiliza las capas de aire. Una fuente adicional de

metal proviene de industrias, ubicadas la mayor parte al S. y W. del valle.

Nuestros sectores de muestreo se localizan en las áreas más densamente pobladas y en los cuatro puntos cardinales a unos 10 km. del centro. ellos son:

- Santiago centro.
- Norte. Comuna de Conchalí.
- Oeste. Comuna de Pudahuel.
- Este. Comuna de Las Condes.
- Sur. Comuna de La Cisterna.

Estos puntos aparecen indicados en la figura 2.

Además de estos puntos, hemos medido en San Bernardo a 20 km. del centro hacia el Sur, pero aún al interior del valle y finalmente escogimos otro punto fuera de los cordones montañosos, por lo tanto, fuera de la capa de inversión que allí se genera y se sitúa a 120 km. al Sur en una pequeña ciudad rural, Rengo.

Las mediciones se realizaron todas ellas en los meses de julio y agosto, meses durante los cuales la contaminación atmosférica general es elevada. [13]

METODO

El método que hemos utilizado fue descrito primeramente por Wolff[14], y luego por Kunh.[15] La determinación no necesita de una purificación previa, eliminando así los largos pasos de cromatografía.

El método, posee una buena repetibilidad y es fácil de realizar en el laboratorio.

Las muestras de orina fueron tomadas en niños que viven y asisten a jardines infantiles, en el lugar de muestreo, todas ellas se tomaron entre las 10:00 y las 12:00 horas. En la tabla 1 se muestra el número de jardines muestreados en cada sector. Una vez en el laboratorio, se les midió su densidad y se prepararon con los reactivos para ser medidas en el espectrofotómetro al día siguiente, debido a la lentitud de la reacción de coloración.

RESULTADOS

Los resultados vienen expresados en ug ALA-U/ml. orina. En la tabla 1, se muestran los

Tabla N.° 1

Valores promedios (x), error standard (S) y número de mediciones (n) de ALA-U de orina de niños en los lugares muestreados y por jardines.

LUGARES	CONCHALI			LAS CONDES			CENTRO			LA CISTERNA		LAS REJAS			SAN BDO.	RENGO
JARDINES	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2	3	1	1
$\bar{x}$	6.0	7.6	9.2	6.6	7.0	8.0	13.5	11.9	16.2	5.3	8.3	6.4	5.9	5.4	14.9	4.5
$S_{\bar{x}}$	1.0	.7	1.3	.7	1.2	.7	1.0	1.1	1.7	.4	.4	.6	.9	.5	2.1	.3
n	15	14	14	11	15	14	14	14	15	14	27	15	15	15	12	15
$\bar{\bar{x}}$	7.5			7.3			13.9			7.3		5.9			14.9	4.5

valores promedios provenientes de cada jardín infantil y por área, se incluye además el error estándar (S x) y el número de mediciones realizadas (n).

En la figura 1, se muestra el promedio de la concentración de ALA-U por lugar en un plano esquemático de Santiago. El tamaño de los círculos es proporcional al ALA-U medido.

Se puede observar que la orina de niños del centro de Santiago presenta valores de ALA-U mayores que el resto de los lugares medidos, excepto comparado con San Bernardo, el cual presenta también valores muy altos. Para poder determinar si las diferencias observadas en el gráfico eran estadísticamente significativas, se procedió a realizar un análisis de la varianza, utilizando todos los datos obtenidos, se demuestra así que existen diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre los lugares muestreados. Comparando los lugares por pares entre sí, mediante el test de Scheffé resultó que el centro presentaba concentraciones significativamente mayores al resto de las estaciones, excepto con San Bernardo, con el cual resultó no ser significativamente distinto. El resto de

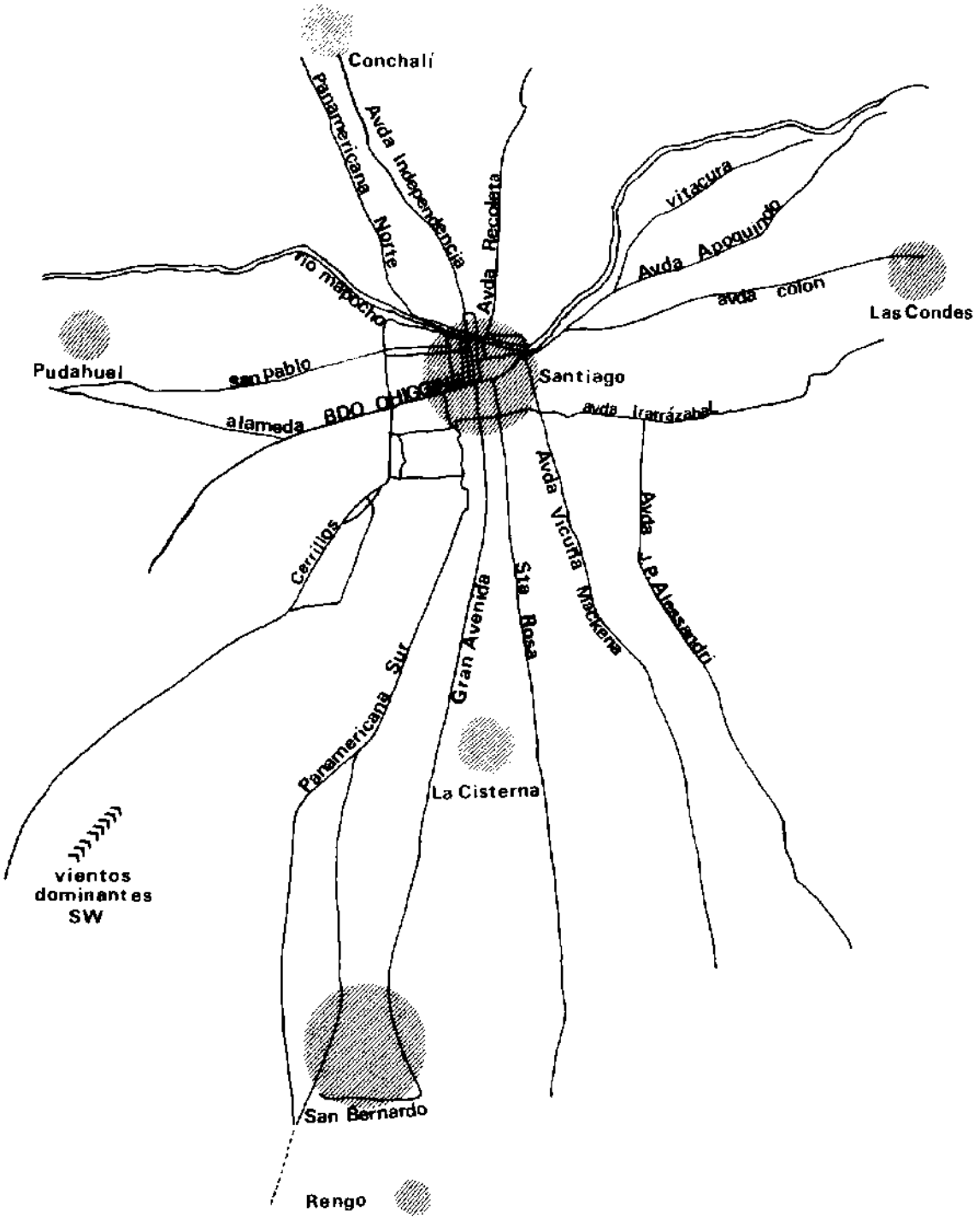

FIG. 1: Ubicación de los lugares muestreados y concentración de ALA-U. El diámetro de los círculos es proporcional a la concentración (2mm = 1ug ALA-U/ml orina).

los lugares no muestran diferencias significativas. Debemos aclarar que el test de Scheffé es muy poco sensible y por lo tanto es muy fácil cometer un error estadístico del tipo II, o sea, aceptar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera. Esto nos llevó a utilizar el test de los contrastes ortogonales más discriminatorio, el cual exige el mismo número de medidas para cada estación de muestreo. Escogimos para ello, 11 mediciones al azar por lugar y realizamos los contrastes correspondientes. En el primero de ellos, comparamos San Bernardo con Santiago centro, según el test empleado estos 2 lugares entre sí no presentan una diferencia significativa ($p > 0.05$). Esta diferencia es significativa cuando se comparan estos 2 lugares con el resto ($p < 0.05$). Las distintas comunas del Gran Santiago no muestran diferencias entre ellas ($p > 0.05$), pero sí son significativamente distintas ($p < 0.05$) a las muestras de Rengo.

DISCUSION

El método

Como ya dijéramos en la introducción, el ALA-U ha sido utilizado como test precoz de contaminación por plomo. Una de las mayores dificultades de este tipo de estudio se refieren, a la determinación del ALA-U, para ello se han utilizado hasta ahora, técnicas complicadas que incluyen paso por resina[16] y mediciones espectrofotométricas. El método que nosotros hemos utilizado, logra medir el ALA-U de manera precisa, rápida y simple, eliminando las interferencias gracias a una doble determinación con y sin acetil-acetona. Con este método, se puede trabajar hasta 20 muestras en una sola tarde.

Otra de las dificultades en la medición de ALA-U, la presenta la variación en la concentración misma de la orina, que varía a lo largo del día y depende de los alimentos líquidos consumidos. Para obviar este problema, muchos autores han medido,[10, 11] junto con el d-ALA, la cantidad de creatinina cuya liberación, es muy constante para expresar luego la concentración de d-ALA con respecto a creatinina. Para nosotros esta manera de proceder presenta serias dudas, ya que la liberación de d-ALA también es muy constante y nada permite asegurar que la eliminación de las dos sustancias se realice en la misma o distinta forma, llegando a enmascararse sus variaciones. La literatura consultada asevera nuestra afirmación. Es así como Cramer & Selander[17] encuentran una correlación altamente significativa entre las concentraciones de ALA-U y creatinina, por lo cual recomiendan la expresión ug ALA-U/ml de orina.

Todo ello, hizo que nosotros tomásemos sólo la concentración de d-ALA, muestreando la orina siempre a la misma hora y aportando un factor de corrección proporcionado por la densidad de la orina.[18]

En las muestras medidas, a pesar del factor de corrección, se observa una gran variación individual que se puede apreciar en el error estándar de cada medición, ello hizo que tomásemos un gran número de muestras; de esta manera, la variabilidad intergrupo sería testada contra la varianza residual que incluye las variaciones individuales, con un alto número de grados de libertad.

A la luz de los análisis estadísticos realizados, podemos inferir que existirían 2 focos de contaminación por plomo de los puntos medidos por nosotros, éstos aparecen claramente representados en la Fig. 1 y corresponden al centro de Santiago y San Bernardo. Las fuentes emisoras en ambos puntos son distintas: mientras en el centro de Santiago el plomo liberado proviene principalmente del gas de escape de los automóviles, en San Bernardo serían las industrias las responsables de las altas concentraciones de Pb atmosférico. Entre las industrias que liberan en gran cantidad este metal, existen en San Bernardo: una fábrica de baterías y una fundición de aceros, una fábrica de carburos y la maestranza de Ferrocarriles.

El resto de las estaciones, exceptuando a Rengo, presenta concentraciones comparables entre sí y no significativamente distintas. Podríamos afirmar que en estos puntos no existen fuentes locales importantes que los contaminen y por lo tanto, su concentración depende de los aportes que realicen los focos antes mencionados. Si a ello sumamos la influencia de los vientos dominantes, encontramos explicable que en Pudahuel existan las concentraciones más bajas (5.9 hg/ml) y que le siga La Cisterna, ya que esta comuna se encuentra alimentada por Pb proveniente de San Bernardo. En cuanto a Las Condes y Conchalí, reciben la influencia directa de Santiago centro por los vientos y presentan entonces, concentraciones comparables entre sí.

Si comparamos entre sí los jardines infantiles medidos al interior de cada uno de los lugares, encontramos que sólo con excepción de La Cisterna no existe una diferencia significativa al interior de cada grupo. Esto nos estaría indicando que la concentración de plomo en esos lugares es similar para un área de algunos kilómetros cuadrados (30-60

km^2). Este comportamiento podrá variar debido a la existencia de fuentes industriales muy localizadas, a partir de las cuales la contaminación por metales pesados decrece en forma exponencial con la distancia.[1] Las dos muestras medidas en La Cisterna difieren significativamente entre sí, ya que una de ellas recibe el aporte de una fuente de tipo industrial, este fenómeno explicaría la gran variabilidad individual detectada en San Bernardo, cuyos valores presentan una amplitud de 23,6 ug/gr ALA-U.

Rengo se ubica fuera del valle de Santiago y sus concentraciones son significativamente menores al resto. Esta diferencia no es elevada ($p < 0.05$) debido seguramente a la influencia que puede presentar sobre esta ciudad la fundición de Caletones que, como toda fundición, libera grandes cantidades de metales pesados.[11]

Según Lauwerys[19], en un sujeto normal la excreción de ALA-U no debiera sobrepasar 4,5 ug/ml. Una concentración de 20 ug/ml. es un índice de absorción excesiva de plomo. Si calculamos la frecuencia relativa de nuestras mediciones en porcentaje, podemos observar que el mayor porcentaje de valores (80-90%) se ubica entre 0 - 10 ug/ml., para los lugares poco contaminados, no así para Santiago centro en donde las mediciones en su mayoría (70%) se sitúan entre 10 y 20 ug/ml., habiendo un 14% de ellas sobre 20 ug/ml., o sea que presentan una absorción excesiva de plomo, algo similar ocurre en San Bernardo con el 58% de valores entre 10 y 20 ug/ml y un 16% sobre 20 g/ml. En Rengo, en cambio, es un área poco contaminada y el 100% de los niños medidos tiene valores bajos 10 ug/ml. Esto nos está indicando que muchos niños están absorbiendo en forma excesiva el Pb en el Gran Santiago y sobrepasan las dosis consideradas como normales.

La concentración de ALA-U la hemos utilizado como un indicador biológico de la contaminación por plomo, llegado a los niños por vía aérea. La concentración de plomo que contiene el agua potable es muy baja y la diferencia que presentan entre sí las distintas plantas de tratamiento, son aún menores.

En cuanto a la alimentación que constituye otra vía de llegada de plomo a los niños, no existiría ninguna razón para pensar que determinado sector estaría recibiendo más plomo que otro (sobre todo en frutas y verduras) a través de esta vía. Todo ello, nos hace pensar que las variaciones que se observen en la eliminación de ALA-U dependerán del plomo absorbido por vía pulmonar, o sea, el metal presente como contaminante atmosférico. Para Bryce-Smith y col.[20], la absorción directa de partículas con plomo por inhalación, representa la mayor fuente de contaminación en las ciudades.

Una gran interrogante nos asalta ¿cuáles podrán ser las consecuencias de esta absorción excesiva que hemos detectado? Landrigan y col.[21], han comprobado la disminución en el CI de 9 puntos de promedio, en niños expuestos a mayores concentraciones de plomo atmosférico, encontrando incluso que los niños presentaban mayor torpeza, comparado con un grupo no contaminado, en trabajos motrices finos.

Las investigaciones de Bryce-Smith y col.[20] aportan otros datos aún más alarmantes, ya que según estos autores, los niveles llamados actualmente "normales" están asociados con problemas de inteligencia, velocidad de aprendizaje, hiperactividad. Si a esto le sumamos el plomo que puede atravesar la placenta y afectar el SNC del feto, nosotros al igual que estos autores, proponemos que se legisle rápidamente para evitar la adición de Pb al carburante de los vehículos.

RESUMEN

Se midió el contenido en ácido delta amino levulínico (ALA-U) en orina de niños de 2 a 5 años de edad, en jardines infantiles del centro y periferia de Santiago y en Rengo. La concentración de ALA-U, se determinó por espectrofotometría a 553 nm, según la técnica de Wolff. Los resultados muestran que las áreas más contaminadas son el centro de Santiago y San Bernardo, las comunas medidas no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí, pero sus valores son superiores a los que muestra el lugar menos contaminado, Rengo. La liberación de ALA-U es excesiva en el centro de Santiago y San Bernardo, lo que nos hace sugerir un mayor control sobre las emisiones de plomo, tanto por parte de los vehículos, como por fábricas y fundiciones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo dado por la Dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Proyecto DIUC 94/78.

REFERENCIAS

[1] *Denaeyer de Smet, S. & Duvigneaud, P.* "Accumulation de métaux lourds toxiques dans divers ecosystemes terrestres pollues pas des retombées d'origine industrielle". Bull. Soc. Roy. Bot. Bel. *107*: 147, 1974.

[2] *Djuric, D.; Gravovac-Leposavic, L. & Milic, S.* "Evaluation of lead smelter filter system by a bioassay on exposed population". Int. Arch. Occup. Environ. Health *35*: 291. 1975.

[3] *Selander, S.* "Interrelationship Between Lead in Blood, Lead in Urine, and ALA in Urine During Lead Work". Brit. J. Ind. Med. *27*: 28. 1970.

[4] *Danieli, G.; Gajdos-Torok, M. & Gajdos, A.* "Un nouveau test biologique du saturnisme. Augmentation du taux urinaire et plasmatique de l'acide delta aminolévulinique". Path. Biol. 9: 1481. 1961.

[5] *Basin, B.* "Le dosage de l'acide delta-aminolevulinique dans le saturnisme". Arch. Mal. Prof. *24*: 638, 1963.

[6] *Cramer, K. & Selander, S.* "Studies in Lead Poisoning, Comparison Between Different Laboratory Tests. Brit. J. Ind. Med. *22*: 311. 1965.

[7] *Robinson, T. R.* "Delta Aminolevulinic Acid and Lead in Urine of Lead Antiknock Workers". Arch. Environ. Health *28*: 133. 1974.

[8] *Tomokuni, K.* "Delta Aminolvulinic Acid Dehydratase Test for Lead Exposure". Arch. Environ. Health *29*: 274. 1974.

[9] *Layahe, D.; Roosels, D.; Bossiroy, J. M. & van Assche, F.* "The Use of the Urinary Excretion of Delta Aminolevulinic Acid as a Criterion for Lead Absortion in Industrial Medicine and Insurance Medicine". Int. Arch. Occup. Environ. Health *39*: 191. 1977.

[10] *Roels, H. A.; Lauwerys, R. R ; Buchet, J. P. y cols.* "Response of Free Arythrocyte Porphyrin and Urinary Delta-aminolevulinic Acid in Men and Women Moderately Exposed to Lead". Int. Arch. Arbeitsmed *34*: 97. 1975.

[11] *Roels, H. A.; Buchet, J. P.; Lauwerys, R. R. y cols.* "Impact of Air Pollution by Lead on the Heme Biosynthetic Path-way in School-age Children". Arch. Environ. Health *31*: 310. 1976.

[12] *Salle, H. J. & Zielhuis, R. L.* "Influence of Smoking on Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity, Haematocrit and Lead in Blood in Adult Urban Women". Int. Arch. Occup. Environ. Health *40*: 111, 1977.

[13] Programa para el Control de la Contaminación Atmosférica en el Area Metropolitana de Santiago. INTEC-CORFO, SNS. Santiago, Chile. 164 pp.

[14] *Wolff, F. C.* Método simplificado para la determinación del ácido delta amino levulínico como indicador biológico de intoxicación plúmbica. Revista Médica de Chile *102*: 227, 1974.

[15] *Kuhn, G.* "Automated analysis of Delta-aminolevulinic Acid in Urine". Int. Arch. Occup. Environ. Health *40*: 37. 1977.

[16] *Williams, M. K. & Few, J. D.* "A Simplified Procedure for the Determination of Urinary d-aminolevulinic Acid". Brit. J. Ind. Med. *24*: 294, 1967.

[17] *Cramer, K. & Selander, S.* "Control of Lead Workers by Determination of Urinary d-aminolevulinic". Brit. J. Ind. Med. *24*(4): 283. 1967.

[18] *Elkins, H. B.; Bagnotto, L. D. & Richmond, M.* "The Osmolarity Adjustment in Urine Analysis". J. Occup. Med. *8*: 528. 1966.

[19] *Lauwerys, R.* "Precis de Toxicologie Industrielle et Desintoxications Profesionelles". Bélgica. Editorial Buculot. 1972.

[20] *Bryce-Smith, D.; Matheuws, J. & Stephens, R.* "Mental Health Effects of Lead on Children". Ambio *7*(5-6): 192. 1978.

[21] *Landrigan, P. J.; Whitworth, R. H.; Baloh, R. W.; Staehling, N. W.; Barthel, W. F. & Rosenblum, B. R.* "Neuropsychological Dysfunction in Children with Chronic Low Level Lead Absorption". Lancet *1*(7909): 708, 1975.