

Marceli Rocha Leite

**Impacto das condições de trabalho no corte de cana-de-açúcar
queimada em marcadores inflamatórios pulmonares, sistêmicos e na
função renal.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia
Orientador: Dr. Ubiratan de Paula Santos

São Paulo

2018

Marceli Rocha Leite

**Impacto das condições de trabalho no corte de cana-de-açúcar
queimada em marcadores inflamatórios pulmonares, sistêmicos e na
função renal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia
Orientador: Dr. Ubiratan de Paula Santos

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Leite, Marcell Rocha
Impacto das condições de trabalho no corte de
cana-de-açúcar queimada em marcadores inflamatórios
pulmonares, sistêmicos e na função renal / Marcell
Rocha Leite. -- São Paulo, 2018.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.
Orientador: Ubiratan de Paula Santos.

Descritores: 1.Trabalhadores rurais 2.Lesão
renal aguda 3.Biomarcadores 4.Poluição do ar

USP/FM/DBD-182/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

Dedicatória

*Aos meus pais Anselmo e Isabel e ao meu marido Daniel que me forneceram
todo o apoio necessário para a concretização desta importante etapa de
minha vida.*

Agradecimentos

A Deus minha infinita gratidão, por permitir a realização de mais uma conquista.

Ao meu orientador Dr. Ubiratan de Paula Santos obrigada pela oportunidade que me ofereceu ao me aceitar como aluna. Estes quatro anos de convívio me proporcionaram grande aprendizado e amadurecimento científico. Sou muito grata pela sua contribuição em todas as etapas da execução deste trabalho.

Ao Dr. Emmanuel de Almeida Burdmann, Dra. Dirce Maria Trevisan Zanetta, Dra. Leila Antonangelo, que sempre foram tão solícitos, compartilhando seus conhecimentos, e por todo o tempo dedicado ao trabalho. Saibam que suas contribuições foram imprescindíveis para a finalização deste propósito.

À professora Dionei Ramos pela sua amizade, incentivo e por contribuir de maneira tão generosa no início da realização deste projeto de pesquisa.

Aos Drs. Luis Yu, André Nathan Costa, Jose Eduardo Afonso Junior pelas importantes contribuições que fizeram a este trabalho enquanto banca do meu exame de qualificação.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Estudos do Aparelho Muco-secretor (LEAMS), muito obrigada pelo companheirismo, pela ajuda em todas as coletas, e principalmente pela amizade.

À Lia Junqueira Marçal por realizar as análises dos biomarcadores desde projeto.

Aos voluntários dessa pesquisa que depositaram sua confiança no nosso trabalho, pois, sem os quais nada disso seria possível. Meu respeito e agradecimento a cada um deles.

A toda equipe do Programa de Pós-graduação e do Laboratório de Análises Clínicas do Incor pelo suporte e importante contribuição para finalização deste projeto de pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), meu agradecimento pelo apoio financeiro para realização deste estudo.

Ao meu marido Daniel Yago de Carvalho por todo amor, companheirismo, paciência e por me incentivar sempre. Obrigada por me passar a certeza de que sempre posso contar com você. Te amo muito!

Agradeço imensamente aos meus pais Anselmo e Isabel e minhas irmãs Giovana e Isabella, por me apoiarem sempre, pelo amor incondicional e por serem exemplos de generosidade. Amo muito vocês!

Assim como meus avós, tios, tias, primas, amigas e família Yago pelo incentivo, carinho e pela torcida sempre.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Muito Obrigada!

Normatização Adotada

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Condições de trabalho e os efeitos na saúde dos cortadores de cana-de-açúcar	2
1.2. Biomarcador de inflamação pulmonar e integridade do epitélio respiratório.....	5
1.2.1 Proteína CC16	6
1.3. Biomarcadores de função e lesão renal	7
1.3.1. Lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL).....	9
1.3.2. Proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1).....	10
1.3.3. Molécula de injúria renal 1 (KIM-1).....	10
1.3.4. Calbindina	10
1.3.5. Osteopontina.....	11
1.3.6. Interleucina 18 (IL-18)	11
1.3.7. Fator trefólio 3 (TFF-3).....	11
2. OBJETIVOS.....	14
3. MÉTODOS.....	16
3.1. Desenho e participantes do estudo	16
3.2. Avaliação clínica.....	18

3.3. Exames laboratoriais	18
3.3.1. Proteína CC16	18
3.3.2 Marcadores sanguíneos:	19
3.3.3. Marcadores renais	20
3.3.3.1. Taxa de filtração glomerular	21
3.3.3.2. Fração de excreção de sódio (FENa).....	22
3.3.3.3. Definição de injúria renal aguda (IRA).....	22
3.4. Avaliação sobre exposição à poluição do ar e sobre o clima.....	23
3.5 Análises estatísticas	26
4. RESULTADOS	29
4.1. Caracterização das condições gerais de trabalho	29
4.2. Características gerais dos trabalhadores	30
4.3. Proteína CC16.....	31
4.4. Avaliação do efeito agudo em marcadores sistêmicos e renais	33
4.4.1. Avaliações comparativas do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca, antes e após a jornada de trabalho, aos três meses após o início da safra.	33
4.4.2. Marcadores de equilíbrio hidroeletrólítico e da função renal	34
4.4.3 Marcadores inflamatórios sanguíneos	37
4.5. Comparação das avaliações ao longo da safra.....	39
4.5.1. Avaliações comparativas do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca ao longo da safra	39
4.5.2. Marcadores de equilíbrio hidroeletrólítico e da função renal	39
4.5.3. Marcadores inflamatórios sanguíneos	41
5. DISCUSSÃO.....	45
5.1. Proteína CC16.....	45
5.2 Hidratação, alterações hidroeletrólíticas e cardiovasculares	49
5.3 Alterações na função renal.....	51

5.4 Alterações nos biomarcadores de lesão e regeneração renal	53
5.5 Alterações em outros marcadores	58
6. LIMITAÇÕES.....	62
7. CONCLUSÕES	64
8. ANEXOS	66
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

Lista de Siglas e Abreviaturas

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

bpm	batimentos por minuto
CC16	Proteína secretada pelas células Club
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
COex	Monóxido de carbono no ar exalado
CPK	Creatinofosfoquinase
Cr	Creatinina
CVF	Capacidade Vital Forçada
DP	Desvio Padrão
DRC	Doença Renal Crônica
FC	Frequência Cardíaca
FEF _{25-75%}	Fluxo Expiratório Forçado Médio
FENa	Fração de Excreção de Sódio
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
IBUTG	Bulbo Úmido Termômetro de Globo
IIQ	Intervalo Interquartil
IL-18	Interleucina 18

IMC	Índice de Massa Corporal
Incor	Instituto do Coração
IRA	Injúria Renal Aguda
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule 1</i>
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LIM	Laboratório de Investigação Médica
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
MP	Material Particulado
MP _{2,5} a 2,5µm	Material Particulado com diâmetro aerodinâmico menor ou igual a 2,5µm
NGAL	<i>Neutrophil Gelatinase - Associated Lipocalin</i>
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	Proteína C Reativa
pH	Potencial Hidrogeniônico
PI	Plasmático

SP-D	<i>Surfactant protein D</i>
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
TFF-3	<i>Trefoil Factor 3</i>
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TTS	Tempo de Trânsito de Sacarina
U	Urinário
URar	Umidade Relativa do ar
VEF ₁	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo

Lista Símbolos

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
°C	graus Celsius
µg/g	micrograma por grama
µg/m ³	micrograma por metro cúbico
Cl ⁻	ión cloreto
CO ₂	dióxido de carbono
dL	decilitro
g/dL	grama por decilitro
h	hora
K ⁺	ión potássio
Kg	quilograma
Kg/m ²	quilograma por metro quadrado
mEq/L	miliequivalente por litro
mg	miligrama
mg/dL	miligrama por decilitro
mL	mililitros
ml/min/1,73m ²	mililitros por minuto por área de 1,73 metros quadrados
mm ³	milímetro cúbico
mmHg	milímetros de mercúrio
mmol/L	milimol por litro

Na ⁺	íon sódio
ng	nanogramas
ng/ml	nanograma por mililitro
NO ₂	dióxido de nitrogênio
O ₃	ozônio
pg/mL	picograma por mililitro
ppm	partes por milhão
U/L	unidades por litro

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho esquemático das coletas de dados.....	17
Figura 2 - Monitor de massa de aerossóis por espectrofotometria, MP DUSTTRAK Aerossol Monitor (Modelo 8520, TSI Inc., Mn, EUA).....	24
Figura 3 - Corte manual da cana-de-açúcar com registro da concentração de MP _{2,5}	25
Figura 4 - Termo higrômetro Data Logger DHT (Modelo 2260 Full Range - Perceptec).	26

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação dos valores de material particulado, temperatura e umidade relativa do ar no período de Pré-safra e Safra	30
Tabela 2 - Características gerais basais (período matutino, pré-safra) dos indivíduos avaliados (n=78)	30
Tabela 3 - Concentração plasmática (Pl) e urinária (U) da proteína CC16 antes e após o turno de trabalho três do início da safra e valores no período da pré-safra e aos três e seis meses do início da safra.....	32
Tabela 4 - Estimativa do efeito agudo (pré-turno vs. pós-turno) e crônico (pré-safra vs. três e seis meses após início da safra) nas concentrações plasmáticas (Pl) e urinárias (U) da proteína CC16 ^a	33
Tabela 5 - Evolução do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após o turno de trabalho três meses após o início da safra	34
Tabela 6 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho	35
Tabela 7 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho (N:49).....	37
Tabela 8 - Efeito de uma jornada de trabalho no corte de cana, aos três e seis do início da safra, em marcadores de desidratação e função/lesão renal.....	38
Tabela 9 - Evolução do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca ao longo da safra	39
Tabela 10 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina dos indivíduos avaliados no período matutino, na pré-safra, após três e seis meses do início da safra.....	40
Tabela 11 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue, dos indivíduos avaliados no período matutino na Pré-safra, e após três e seis meses do início da safra (N:40).....	42
Tabela 12 - Efeito do trabalho no corte de cana três e seis meses após início da safra, comparado com o período da pré-safra, em marcadores renais (N=78).....	43

Resumo

Leite MR. *Impacto das condições de trabalho no corte de cana-de-açúcar queimada em marcadores inflamatórios pulmonares, sistêmicos e na função renal* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: O corte manual da cana-de-açúcar é uma atividade que impõe ao cortador uma elevada carga física, pois requer a execução de movimentos vigorosos, rápidos e repetitivos. Trabalham em condições de elevadas temperaturas ambientais e baixa umidade relativa do ar que, com o uso de vestimentas aumenta risco de sobrecarga térmica, bem como se expõem aos poluentes gerados pela queima da cana-de-açúcar. **OBJETIVO:** avaliar os efeitos agudos e em longo prazo do trabalho na colheita de cana-de-açúcar queimada nas concentrações da proteína CC16, na função renal e em marcadores inflamatórios sistêmicos, em um grupo de cortadores de cana-de-açúcar. **MÉTODOS:** Foram avaliados 78 homens, cortadores de cana-de-açúcar empregados em uma usina de açúcar e álcool localizada na Região Oeste do Estado de São Paulo. Eles foram submetidos a avaliações clínicas e à coleta de amostras de sangue e de urina, utilizadas para análises de marcador de toxicidade pulmonar (proteína CC16), de marcadores renais e inflamatórios sistêmicos, em três momentos distintos ao longo do ano: 1) Pré-Safra, (Abril de 2014), no início da jornada de trabalho (7h00min); 2) Três meses após o início da safra, antes e após uma jornada diária de trabalho (7h00min e 16h00min); 3) Após seis meses do início da safra, antes do início da jornada de trabalho (7h00min). Foram realizados registros da concentração de material particulado (MP_{2,5}), temperatura e umidade relativa do ar. **RESULTADOS:** A concentração de MP_{2,5} foi de 27,0 (23,0-33,0) µg/m³ e 101,0 (31,0-139,5) µg/m³ no período da pré-safra e na safra respectivamente. A mediana da temperatura e umidade relativa do ar no período da pré-safra foram de 32,6 (25,4-37,4)°C e 45,4 (35,0-59,7)% respectivamente; no período da Safra foram de 29,7 (24,1–34,0)°C e 54,9 (34,7-63,2)% respectivamente. A idade dos trabalhadores foi de 37,9±11,0 anos, eles cortam, em média, nove toneladas de cana-de-açúcar/dia. Foram observadas reduções agudas e ao longo da safra nas concentrações plasmáticas e urinárias da proteína CC16. Após uma jornada diária de trabalho observou-se evidências de desidratação, queda da filtração glomerular, aumento de biomarcadores de injúria e reparação tubular renal (NGAL, KIM-1, IL-18, calbindina, MCP-1, osteopontina, e TFF-3) e aumento de marcadores inflamatórios sistêmicos (leucócitos, ácido úrico, LDH). Ao longo da safra observou-se aumento significativo de cistatina C, ureia, CPK, NGAL e monócitos no sangue e de marcadores urinários como NGAL, MCP-1, TFF-3, fósforo, magnésio e densidade. **CONCLUSÃO:** O trabalho no corte manual de cana-de-açúcar submete os trabalhadores à sobrecarga física, exposição a poluentes e à elevadas temperaturas. Foi observado efeito agudo e ao longo da safra nas concentrações da proteína CC16, na alteração de biomarcadores inflamatórios sistêmicos, de equilíbrio hidroeletrólítico e na função renal, incluindo alterações de marcadores que sugerem lesão estrutural renal.

Descritores: trabalhadores rurais; lesão renal aguda; biomarcadores; poluição do ar.

Abstract

Leite MR. *Impact of working conditions on the cutting of sugarcane burning in pulmonary, systemic inflammatory markers and renal function* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

INTRODUCTION: The manual sugarcane harvesting is an activity that requires considerable physical exertion, involves vigorous, quick, repetitive cutting movements. They work under conditions of high temperatures and low relative air humidity that, with the use of clothing, increases the risk of thermal overload, as well as expose themselves to the pollutants from burning of sugarcane. **AIM:** To evaluate the short and long-term effects of harvesting burnt sugarcane on the CC16 protein concentrations, renal function, and systemic inflammatory markers in a group of sugarcane cutters. **METHODS:** A total of 78 sugarcane cutters employed in a sugar-alcohol mill in the state of São Paulo, Brazil were evaluated. They underwent clinical evaluations and the collection of both blood and urine samples, used for analysis of pulmonary toxicity (CC16 protein), renal markers and systemic inflammatory markers performed at three different times throughout the year: 1) In the pre-harvest period (April 2014), at the onset of the working shift (7h00 am); 2) Three months after the onset of the harvest, before and after the daily work shift (7h00 a.m. and 4h00 p.m.); 3) Six months after the onset of the harvest, before the work shift (7h00 am). The concentrations of particulate matter (MP_{2.5}), temperature and relative air humidity were recorded. **RESULTS:** The concentrations of PM_{2.5} were 27.0 (23.0–33.0) and 101.0 (31.0–139.5) µg/m³ in the pre-harvest and harvest periods, respectively. The medians temperature and relative air humidity in the pre-harvest period were 32.6 (25.4-37.4) °C and 45.4 (35.0-59.7) % respectively; in the harvest period were 29.7 (24.1-34.0) °C and 54.9 (34.7-63.2) % respectively. The age of the workers was 37.9±11.0 years, they cut, on average, nine tons of sugarcane/day. Short and long-term reductions in plasmatic and urinary concentrations of CC16 protein were observed. There was an acute increase in the concentrations of markers suggestive of dehydration, decreased glomerular filtration, increased biomarkers of injury and renal tubular repair (NGAL, KIM-1, IL-18, calbindin, MCP-1, osteopontin, and TFF-3) and increased systemic inflammatory markers (leukocytes, uric acid, DHL). Six months after the onset of the harvest, a significant increase of cystatin C, urea, CPK, NGAL and monocytes in the blood and urinary markers such as NGAL, MCP-1, TFF-3, phosphorus, magnesium and density were observed. **CONCLUSION:** The manual sugarcane harvesting exposes workers to physical overload, pollutants and high temperatures. It was observed an acute and chronic effects in the concentrations of CC16 protein, in systemic inflammatory biomarkers, hydroelectrolytic balance and renal function, including changes in markers that suggest renal structural damage.

Descriptors: rural workers; acute kidney injury; biomarkers; air pollution.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A cultura de cana-de-açúcar é amplamente disseminada em países da América Latina, Ásia e no Brasil, principal produtor mundial (1), onde remonta há quase 500 anos, inicialmente voltada para a produção de açúcar e secundariamente de aguardente e álcool. A partir da década de 70 do século passado, em decorrência da crise do petróleo, ganha impulso a produção de álcool no Brasil, para uso como combustível nos veículos automotivos e reduzir o custo com importação de derivados do petróleo. Este novo cenário alavancou o desenvolvimento de novas regiões produtoras como no estado de São Paulo, Paraná, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, além da tradicional região do Nordeste. Com o objetivo de substituir combustíveis fósseis por biocombustíveis, decorrente da crise do petróleo, houve aumento significativo na produção canavieira e o Brasil, desde então, se destaca nesse cenário, onde atualmente o cultivo da cana-de-açúcar abrange mais de dez milhões de hectares plantados, em todo território nacional (2, 3). De acordo com dados da última safra 2016/2017, a produção de cana-de-açúcar atingiu cerca de 651 milhões de toneladas no Brasil, sendo que 366 milhões de toneladas de cana provém do estado de São Paulo, principal estado produtor, seguido por Goiás (67 milhões de toneladas), Minas Gerais (63 milhões de toneladas), Mato Grosso do Sul (50 milhões de toneladas), Paraná (40 milhões de toneladas) e Alagoas (16 milhões de toneladas) (4).

A colheita de cana-de-açúcar tem usado da prática da queima da palha para facilitar o corte, reduzir o peso pela perda de água e com isso aumentar o teor de açúcar, eliminar animais peçonhentos e pragas da cultura, facilitando o corte pelos trabalhadores (5). No entanto, a queima da palha da cana-de-açúcar é responsável pela emissão de grandes quantidades de poluentes - gases e de material particulado (MP) -

que contribui para efeitos adversos à saúde (6) dos trabalhadores e populações rurais de cidades próximas das regiões de queima, além de impacto no clima, pela geração de dióxido de carbono (CO₂). A prática da queima, embora ocorra em diversos países, é mais disseminada no Brasil. O país ocupou o primeiro lugar nas emissões de queima de biomassa da cana em 2016 (6,6 milhões de toneladas), seguido pela Índia e China (3,2 e 1,1 milhões, respectivamente) (1).

A lei Estadual 11.241/2002 foi aprovada no estado de São Paulo, após pressão de movimentos ambientalistas, pesquisadores e da população de cidades atingidas. Essa lei proibiu gradativamente a queima das culturas de cana-de-açúcar, com previsão de cessação até 2031. Posteriormente foi firmado o Protocolo Agroambiental do Estado de São Paulo, em 2007, que antecipou os prazos legais paulistas para a eliminação da prática da queima, de 2021 para 2014 em áreas planas e de 2031 para 2017 em áreas de solo acidentados, onde era referido não haver tecnologias adequadas para a mecanização (7). A proibição total da queima ainda é contestada por produtores de cana-de-açúcar, sendo um dos motivos apontados o alto custo das colheitadeiras e a redução na produtividade, pois as colhedoras por não realizarem um corte rente ao solo deixam parte da cana, onde há a maior concentração de açúcar, com redução na produtividade, especialmente em terrenos mal nivelados que dificultam a operação das máquinas (7, 8). Por tal fato, a queima da cana-de-açúcar precedida do corte manual ainda é realizada em algumas regiões do Brasil e em diversos países, mesmo com os efeitos adversos causados pela exposição à poluição advinda da queima da palha da cana-de-açúcar (7).

1.1. Condições de trabalho e os efeitos na saúde dos cortadores de cana-de-açúcar

Nos últimos vinte anos, têm crescido o número de estudos que avaliam as condições de trabalho e seus efeitos na saúde dessa categoria de trabalhadores rurais, bem como sobre o impacto ambiental dessa atividade. Durante o corte manual, os trabalhadores ficam expostos a diversos riscos para a saúde, como: *riscos físicos*- condições climáticas adversas (temperaturas elevadas, radiação solar, chuva), ruídos gerados pelos veículos; *riscos químicos*- gases e material particulado da queima da cana e do solo, resíduos de pesticidas; *riscos biológicos* - animais peçonhentos; *riscos de acidentes*: traumas e de incêndio; *riscos ergonômicos* - posturas, ritmo e movimentos repetitivos exigidos durante o trabalho; e os *riscos psíquicos* impostos pelo ritmo acelerado de trabalho, exigência de constante atenção, concentração e falta de pausas regulares e necessárias em função do stress térmico e do exercício físico (8, 9). Estudos realizados com cortadores de cana-de-açúcar em países da América Central, também ressaltam a necessidade de melhores condições de trabalho visto à elevada morbidade e principalmente mortalidade associada à epidemia de doença renal crônica (DRC) observada nesses e em outros trabalhadores rurais naquela região (10, 11).

Além dos riscos anteriormente citados, o processo do corte manual da cana é uma atividade que impõe ao cortador uma elevada carga física, pois requer a execução de movimentos vigorosos, rápidos e repetitivos com facão e uso de vestimentas, habitualmente várias camisas, para proteção contra sol, poeiras e acidentes na pele, além de sapato e luvas, embora estas nem sempre usadas, por serem inadequadas, desconfortáveis, dificultar dissipação do calor e influenciar na produtividade, portanto no ganho (9). O corte de cana manual é feito com o corte de várias canas junto ao solo, e posteriormente seu recolhimento em feixes de cana, de cerca de 10 Kg, carregando os mesmos por cerca de três metros para dispô-los em fileiras para serem recolhidos mecanicamente pelos caminhões, que os transportam até a usina para moagem.

A remuneração por produção é um fator de risco adicional, pois induz a um maior ritmo de trabalho, a fim de garantir melhor salário e contratação nas safras subsequentes (8).

Estudo registrou as atividades em filmes, e permitiu uma análise mais precisa da atividade no corte de cana queimada. Um trabalhador durante uma jornada de trabalho em que corta 13 toneladas/dia realiza em média 3.100 flexões da coluna, 3.500 golpes de facão e cerca de mil rotações da coluna lombar (12).

Por ser um trabalho realizado a céu aberto, os trabalhadores são constantemente expostos às intempéries climáticas (10, 13, 14) e muitas vezes não fazem pausas, em desacordo com a Norma Regulamentadora -15 do Ministério do Trabalho e Emprego – Portaria 3214/78, para sobrecarga térmica, a qual prevê um regime de 15 minutos de trabalho por 45 minutos de descanso para valores de Índice de Bulbo Úmido Termômetro de Globo (IBUTG) acima de 28°C, condição frequente na atividade (12).

Diversos estudos avaliaram o estresse por calor e desidratação em cortadores de cana-de-açúcar (10, 14-17). No estudo de Crowe et al.(10) os sintomas de calor e desidratação (cefaleia, taquicardia, câibras musculares, febre, náusea, tonturas, inchaço das mãos/pés e disúria) foram relatados pelo menos uma vez por semana entre os trabalhadores.

Além disso, esses trabalhadores são diretamente expostos aos poluentes gerados pela queima da cana-de-açúcar, e a inalação de material particulado, pode afetar as vias aéreas superiores e inferiores, causando sintomas respiratórios (18), prejuízos no transporte mucociliar (19, 20) e na função pulmonar (18).

O estudo de Goto et al.(19), que avaliou 27 trabalhadores, observou que no período da safra houve redução de 80% do transporte mucociliar, com aumento do

tempo de trânsito de sacarina (TTS) em 7,8 minutos, e redução de 31% na transportabilidade do muco. Portanto, o período da safra, após a queima de cana-de-açúcar afeta negativamente a primeira barreira de defesa do sistema respiratório dos trabalhadores, prejudicando a depuração mucociliar nasal.

Estudo realizado por Prado et al.(18), que avaliou sintomas respiratórios, e função pulmonar em cortadores de cana e em indivíduos saudáveis, moradores de uma cidade próxima à plantação de cana-de-açúcar, encontrou maior prevalência de sintomas respiratórios e diminuição da função pulmonar entre os cortadores de cana durante o período da safra, com relação ao período da entressafra. Foi observado declínio dos valores de volume expiratório forçado no primeiro segundo ($VEF_1\%$), da relação volume expiratório forçado no primeiro segundo/capacidade vital forçada (VEF_1/CVF) e do fluxo expiratório forçado ($FEF_{25-75\%}$). A variável mais afetada o $FEF_{25-75\%}$, com reduções de 31,1% dos trabalhadores da cana, pode sinalizar o desenvolvimento de um distúrbio obstrutivo inicial em indivíduos envolvidos nessa atividade.

1.2. Biomarcador de inflamação pulmonar e integridade do epitélio respiratório

A utilização de biomarcadores sensíveis a fim de avaliar inflamação pulmonar, integridade do epitélio respiratório e integridade celular tem sido utilizados em diversos estudos clínicos e experimentais, tornando fácil e rotineira a mensuração laboratorial. Nesse sentido a proteína CC16 tem sido utilizada como um marcador periférico potencial de toxicidade e lesão epitelial pulmonar de resposta aguda e crônica em amostras de sangue e urina (21).

1.2.1 Proteína CC16

As células Claras (atualmente denominadas células Club) são células não ciliadas localizadas nos bronquíolos terminais e os bronquíolos respiratórios, especialmente na junção entre as vias aéreas condutoras e as áreas de troca gasosa. As células Club servem para proteger o trato respiratório, atuando como células-tronco durante o reparo do epitélio brônquico, exercendo alta capacidade de biotransformação xenobiótica e secretando várias substâncias com importantes funções biológicas (22). A proteína secretada pelas células Club (CC16), uma proteína de baixo peso molecular (16 kD) está presente em altas concentrações no fluido do revestimento epitelial pulmonar, onde desempenha um papel antioxidante/anti-inflamatório (23) e, em menores quantidades, também está presente em outros órgãos como ovários, endométrio uterino, próstata e rins (22, 24).

Estudos têm mostrado que a CC16 também pode aparecer nos fluidos extrapulmonares, tais como soro, e devido seu pequeno tamanho e solubilidade em água, é eliminada por filtração glomerular e, portanto, pode ser encontrada também na urina (25, 26).

Estudos experimentais e em humanos observaram redução nas concentrações de CC16 após exposição subaguda e em longo prazo ao cromo (27) e à sílica (28), bem como em estudos envolvendo tabagistas (29, 30) e ratos expostos ao ozônio (O₃) e ao dióxido de nitrogênio (NO₂) (31). Os autores sugerem que esta redução é provavelmente devido à destruição das células Club (27, 28) ou a sua diferenciação em células epiteliais brônquicas ou alveolares como parte do processo de reparo do tecido pulmonar danificado (31), e consequente redução na secreção da proteína no fluido broncoalveolar (32).

Por outro lado, estudos mostraram aumento na concentração de CC16 após exposição aguda a poluentes como MP_{2,5} (33-35), O₃ (36, 37), e após exercício físico e exposição a poluentes (38, 39). A proteína CC16 é considerada um biomarcador para a detecção de dano ou disfunção das células epiteliais do pulmão e suas variações refletem variação na sua síntese e/ou da integridade e permeabilidade epitelial pulmonar associadas ao tempo e concentração da exposição ao agente agressor (40).

1.3. Biomarcadores de função e lesão renal

Além das alterações no sistema respiratório devido inalação da queima de biomassa, manifestações sistêmicas ocasionadas pelo trabalho extenuante também são observadas nesses trabalhadores. Atualmente há uma preocupação crescente com os efeitos/alterações renais em trabalhadores rurais na América Central, pois vários estudos tem mostrado aumento de incidência de DRC em trabalhadores canavieiros (41-44), denominada de nefropatia mesoamericana, que afeta indivíduos jovens e sem fatores de risco clássicos para DRC, como diabetes e/ou hipertensão (42).

A patogênese desta síndrome é obscura, e tem sido atribuída a episódios repetidos diários de injúria renal aguda (IRA) associada à desidratação, a rabdomiólise, inflamação sistêmica, exposição ao calor, infecções, variações genéticas e exposição a pesticidas (45-48).

A IRA é uma das várias condições que afetam a estrutura e a função do rim, definida como uma perda significativa e abrupta da função renal. A IRA é classificada em três grandes grupos, de acordo com os mecanismos básicos que levam à disfunção renal: 1) IRA pré-renal (causada por hipovolemia, alterações cardiovasculares, diminuição da volemia arterial efetiva). 2) IRA renal (necrose tubular aguda, nefrites

intersticiais, doenças vasculares, glomerulopatias). 3) IRA pós renal (ureteral e pélvica, vesical e uretral). Mais de uma dessas condições pode coexistir no mesmo indivíduo, e mesmo a IRA leve e reversível tem consequências clínicas importantes, incluindo o aumento do risco de morte.

Em 2012, uma nova diretriz sobre IRA da associação *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) (49) foi proposta e definiu IRA como:

- Aumento $\geq 0,3$ mg/dL na creatinina sérica em até 48 h ou
- Aumento $\geq 1,5$ vezes na creatinina sérica em até 7 dias ou
- Volume urinário $< 0,5$ mL/kg/h por seis horas.

A identificação precoce de lesão renal é de suma importância, a fim de oferecer uma intervenção imediata e melhor prognóstico. A avaliação da função renal é predominante baseada em um aumento na creatinina sérica ou diminuição no volume urinário. No entanto, a creatinina tem pouca sensibilidade e especificidade em detectar alterações no início de uma lesão renal. Seus níveis geralmente não são reflexos da taxa de filtração glomerular (TFG) devido a uma série de influências renais e não-renais como como idade, massa e metabolismo muscular, uso de medicações, estado de hidratação, estado nutricional, secreção tubular de creatinina e gênero. As alterações das concentrações de creatinina ocorrem temporalmente dissociadas da alteração da filtração glomerular, existindo um intervalo, de horas ou dias, entre a queda da filtração e a elevação da creatinina. Grandes alterações na TFG podem estar associadas a alterações relativamente pequenas na creatinina sérica nos primeiros 24-48 h após a IRA, resultando não apenas em diagnóstico e intervenção tardia, mas também na subestimação do grau de lesão (50-52).

Já a DRC é caracterizada por alterações na taxa de filtração glomerular (TFG <60 ml/min/1,73m²) e/ou presença de lesão parenquimatosa mantidas por pelo menos três meses (49).

Durante a última década, houve enorme expansão na descoberta e validação de biomarcadores de lesão renal a fim de permitir um diagnóstico mais preciso e antecipado da IRA, predição da gravidade da lesão e avaliação da segurança em relação ao início de intervenções terapêuticas (51). Dentre estes biomarcadores, foram analisados neste estudo a Lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), a proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), a molécula de injúria renal 1 (KIM-1), calbindina, osteopontina, interleucina 18 (IL-18) e o Fator trifólio 3 (TFF-3).

1.3.1. Lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL)

Também conhecida como lipocalina-2, a NGAL é uma proteína de 25 kDa, da família da lipocalina, ligada covalentemente à gelatinase específica para neutrófilos. A concentração sérica de NGAL usualmente está abaixo de 20ng/mL, e está presente em baixas concentrações em vários fluidos biológicos, sendo expressa pelos neutrófilos, no útero, próstata, glândulas salivares, pulmões, estômago, cólon e rim (53). Em condições fisiológicas, a NGAL é livremente filtrada pelos glomérulos e reabsorvida pelos túbulos proximais. Desse modo, mesmo na ausência de lesão renal, é esperado baixo nível de NGAL no plasma. As concentrações urinárias de NGAL em condições normais permanecem inferior a 20ng/mL (54). Fisiologicamente, a NGAL exerce um papel bacteriostático (53, 55, 56) e fornece efeitos antiapoptóticos aumentando a proliferação de células tubulares renais e oferecendo proteção renal durante episódios de IRA e tem sua expressão aumentada na presença de lesão renal (57-59). Embora a NGAL esteja representada em alguns tecidos humanos, sua produção é rapidamente

iniciada após ocorrência de IRA isquêmica, séptica ou tóxica, sendo um marcador precoce de dano tubular renal (53, 60).

1.3.2. Proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1)

A MCP-1, também conhecida como CCL2, é uma quimiocina que desempenha um papel no recrutamento de monócitos para os locais de lesão e infecção, induz a expressão das citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-1 β (61), induz resposta inflamatória em células epiteliais tubulares, pela ativação do fator de transcrição nuclear NF κ B, sendo um mecanismo importante na patogênese da inflamação tubulointersticial (62). Sua expressão está aumentada nas células do túbulo proximal do rim após lesão isquêmica (63, 64) e após lesão tubular induzida por cisplatina em ratos (65).

1.3.3. Molécula de injúria renal 1 (KIM-1)

A KIM-1 é uma glicoproteína transmembrana do tipo I, com domínios semelhantes às imunoglobulinas e mucina e não está presente no túbulo proximal renal em condições normais (66). No entanto, é expressa em níveis muito elevados em túbulos proximais após lesão renal, incluindo lesão renal aguda causada por isquemia, drogas nefrotóxicas, bem como doença renal crônica e disfunções agudas e crônicas após transplante renal (53, 67-70).

1.3.4. Calbindina

A calbindina é uma proteína de ligação ao cálcio que apresenta peso molecular de 28 kDA e que pertence a família da troponina C, sendo encontrada principalmente em túbulos distais e ductos coletores do rim (71). Concentrações

urinárias de calbindina aumentam rapidamente após injúria renal por sepse e por nefrotoxicidade em modelos experimentais (72, 73).

1.3.5. Osteopontina

A osteopontina é uma glicoproteína originalmente identificada como uma molécula da matriz óssea que, posteriormente, revelou-se amplamente expressa no endotélio, músculo liso vascular, macrófagos e células T ativadas, com múltiplas funções incluindo migração celular, adesão e ativação de linfócitos (74). Na IRA, a regulação positiva de osteopontina foi relatada em numerosos modelos animais de lesão renal (74-77), porém com papéis divergentes. Enquanto estudos já observaram uma ação protetora outros estudos observaram que a osteopontina também possui atividade pró-inflamatória e pró-fibrótica, com influxo de macrófagos (74, 78, 79).

1.3.6. Interleucina 18 (IL-18)

Também conhecida como fator indutor de interferon-gama (IFN- γ), é uma citocina pró- inflamatória da família da interleucina 1 (IL-1) (53). A IL-18 é sintetizada por múltiplos tecidos, incluindo monócitos, macrófagos, células epiteliais tubulares proximais e as células intercaladas dos dutos coletores no rim saudável, (80) mas parece ser induzida de forma mais ampla em células epiteliais tubulares lesadas (81). Concentrações de IL-18 estão aumentadas em inúmeros processos inflamatórios (82) e vários estudos indicaram IL-18 como mediador e biomarcador de IRA (83-85).

1.3.7. Fator trefólio 3 (TFF-3)

O TFF3 é um pequeno hormônio peptídico de 6,6 kD expresso no trato gastrointestinal, em tecidos que contém células secretoras de muco e nos túbulos proximais e distais e ductos coletores renais (86). O TFF-3 desempenha um importante

papel no mecanismo de reparação e regeneração renal e como um biomarcador sensível em casos de IRA (86-88) e DRC (89-91).

Portanto, tendo em vista as observações de trabalhos anteriormente referidos, pretende-se com esse estudo avaliar os efeitos curto e a longo prazo do trabalho na colheita de cana-de-açúcar queimada na concentração de proteína CC16, na função renal e em marcadores inflamatórios sistêmicos em um grupo de cortadores de cana-de-açúcar, a fim de contribuir para esclarecer os processos fisiopatológicos potencialmente envolvidos em tais comprometimentos na saúde desses trabalhadores.

Objetivos

2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos curto e a longo prazo do trabalho na colheita de cana-de-açúcar queimada na concentração de proteína CC16, na função renal e em marcadores inflamatórios sistêmicos, em um grupo de cortadores de cana-de-açúcar.

3. MÉTODOS

3.1. Desenho e participantes do estudo

Estudo prospectivo, de painel, com medidas repetidas, envolvendo cortadores de cana-de-açúcar, empregados em uma usina de açúcar e álcool localizada na região oeste do Estado de São Paulo, Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (número do processo: 4049/14/029, certificado de aprovação: 30609914.6.0000.0065/2014) (Anexo 1).

Trabalhadores da usina foram convidados a participar de reuniões para a apresentação do estudo. Setenta e oito trabalhadores dos 101 que participaram das reuniões, preencheram os critérios de elegibilidade, concordaram em participar do estudo, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (Anexo 2) e foram incluídos.

Os critérios de inclusão compreendiam ser do sexo masculino, com idade entre 18 anos e 60 anos e ter trabalhado em pelo menos uma safra no corte de cana-de-açúcar anteriormente. Foram excluídos indivíduos que apresentassem antecedentes de doença renal e que estivessem em uso frequente ou contínuo de medicação hormonal ou corticosteroides, estatinas e anti-inflamatórios não hormonais.

Os indivíduos foram submetidos a avaliações clínicas e coleta de amostras de sangue e urina em três momentos distintos ao longo do ano:

- 1) No período da Pré-Safra, ou seja, antes do início da safra de corte de cana-de-açúcar queimada, período onde realizavam atividades com o plantio, capinagem, corte de cana crua, embora não leves, bem menos intensa e sem exposição à queima de biomassa. Esta fase foi realizada nos meses de março e abril de 2014, no

período matutino, às 7:h00. 2) No período da Safra os indivíduos foram submetidos uma avaliação no mês de julho (três meses após o início da safra), com coletas de sangue e urina antes de iniciar o turno diário de trabalho (7h00), e ao término da jornada trabalho (16h00). 3) Após seis meses do início da safra, em outubro, foi realizada reavaliação no período matutino, antes do início da jornada de trabalho (7h00). As comparações das avaliações ao longo da safra, no período da manhã, foram consideradas avaliações de possível efeito subagudo ou crônico. As comparações das avaliações antes e após uma jornada de trabalho aos três meses do início da safra foram consideradas avaliação de efeito agudo da jornada de trabalho (Figura 1).

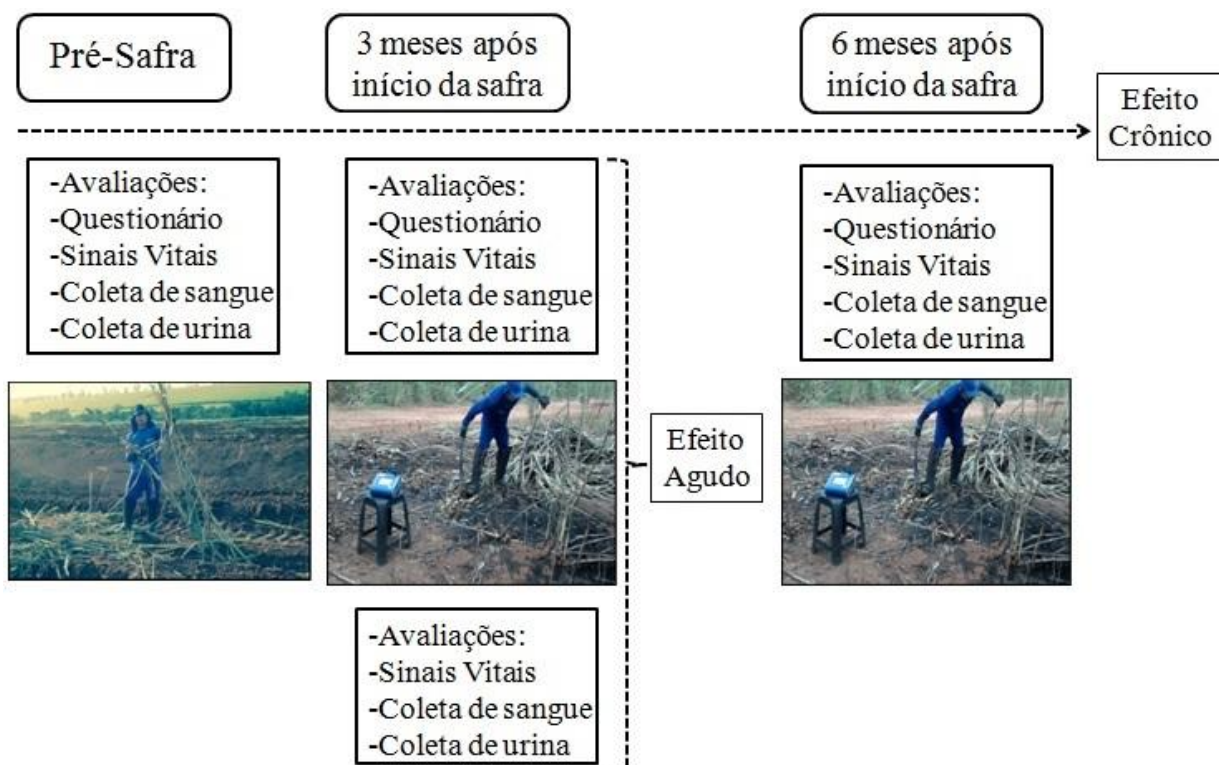


Figura 1. Desenho esquemático das coletas de dados

3.2. Avaliação clínica

Os indivíduos foram submetidos à entrevista por meio de um questionário (Anexos 3 e 4), com registro de dados pessoais, dados sobre a atividade laboral (tempo e jornada diária de trabalho, consumo de água, produção estimada de cana cortada), tabagismo, antecedentes mórbidos, uso de medicamentos, dados antropométricos, registro da pressão arterial com uso de esfigmomanômetro (Premium, Brasil) e medida de monóxido de carbono no ar exalado (COex) com uso de monoxímetro, MicroCO Meter, da Micro Medical Ltd., Reino Unido.

3.3. Exames laboratoriais

Amostras de sangue venoso e urina foram coletadas no período da pré-safra e após três e seis meses do início da safra nos períodos matutinos antes da jornada de trabalho (7h00) (avaliações de efeito crônico). As avaliações de efeito agudo foram realizadas após três meses do início da safra, antes e cerca de meia hora após o término da jornada de trabalho (16h00).

3.3.1. Proteína CC16

As análises da proteína CC16 foram realizadas em amostras de urina e plasma utilizando o kit ELISA (Sandwich Enzyme Immunoassay Human Club Cell Protein CC16), e leitura em equipamento Power wave X da Bio-tek (EUA). Limite de detecção de 46 pg/ml. As análises foram processadas no Laboratório de Investigação Médica 3 (LIM 3), do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

3.3.2 Marcadores sanguíneos: a) Hemograma completo por método de contagem automatizada (XE2100 Sismex, modelo: A1101- Japão), no Laboratório de Análises Clínicas Marlene Spir em Presidente Prudente/SP; b) proteína C reativa (PCR) foi quantificada pelo método de imunonefelometria (equipamento automatizado BN II Systems, kit CARDIO PHASE[®] hs CRP, Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Alemanha); c) creatinofosfoquinase (CPK) e lactato desidrogenase (LDH), por equipamento automatizado (Dimension RXL, Siemens, USA). As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (Incor); d) glicose, dosada por método enzimático automatizado; e) colesterol total por método colorimétrico enzimático, HDL colesterol por método colorimétrico enzimático homogêneo, LDL colesterol pela equação de Friedewald e triglicérides por método colorimétrico enzimático. As análises foram realizadas utilizando kit Flex[®] reagente cartridge em equipamento automatizado Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, USA) no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (Incor).

A osmolaridade sérica desempenha um papel importante na distribuição de água extracelular e intracelular e depende principalmente das concentrações de Na⁺, K⁺, Cl⁻, glicose e ureia. A estabilidade da osmolaridade sérica é mantida por um rápido aumento ou diminuição do teor total de água corporal para compensar mudanças na ingestão de sódio e na perda de água urinária. Alterações da osmolaridade está fortemente associada a vários desequilíbrios do fluido corporal, tais como desidratação e hipernatremia levando a consequências clinicamente adversas, como aumento do risco de doenças cardiovasculares, respiratórias e renais e mortalidade (92).

A osmolaridade sérica foi calculada pela equação: $(2 \times \text{Na}^+ + \text{K}^+) + (\text{glicemia}/18) + (\text{ureia}/2,8)$ (93).

3.3.3. Marcadores renais

Os biomarcadores urinários de lesão renal, lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), microalbuminúria, proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), molécula de injúria renal 1 (KIM-1), calbindina, osteopontina, interleucina 18 (IL-18), fator trifólio 3 (TFF-3) foram analisados pelo kit *Bio-Plex Pro RBM human kidney toxicity PANEL 1 and 2* (Bio-Rad Laboratories, USA) pela tecnologia LUMINEX-xMAP com leitura em aparelho Bio-plex 200 system (Bio-Rad, USA). A determinação dos biomarcadores urinários dos foram processadas no Laboratório de Investigação Médica 3 (LIM 3), do Departamento de Patologia da FMUSP.

As análises de urina I foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas Marlene Spir em Presidente Prudente/SP em equipamento: Elektronika, modelo: Labumat/Urised, Hungria).

A creatinina foi quantificada por método colorimétrico CREA, utilizado no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). A determinação quantitativa da ureia foi realizada por método enzimático no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA), utilizando kit da mesma marca. O ácido úrico foi determinado pelo método URCA no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). A determinação do cálcio foi realizada por método enzimático no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). A determinação do fósforo foi realizada pelo método PHOS de diagnóstico in vitro para a medição quantitativa de fósforo inorgânico em soro, plasma e urina no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). As análises de ureia, creatinina, ácido úrico, cálcio, fósforo, magnésio foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (Incor). A

cistatina C foi analisada na Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas FMUSP, em equipamento Roche Cobas 8000 modular por turbidimetria.

3.3.3.1. Taxa de filtração glomerular

As taxas de filtração glomerular, com uso dos valores de creatinina e cistatina C, foram calculadas pelas fórmulas: CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) e MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) (94, 95) e com valores de cistatina C pela fórmula CKD-EPI_{cistatina} (96)

A equação do MDRD para estimativa da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) foi originalmente desenvolvida com base nos dados do estudo Modification of Diet in Renal Disease em pacientes com doença renal crônica e não incluiu indivíduos saudáveis. O padrão-ouro usado no desenvolvimento da equação MDRD foi o clearance de iotalamato-I e, portanto, ela estima a TFG (em mL/min/1,73m²) e não a depuração de creatinina. A estimativa da TFG baseada no MDRD levava em consideração dados de idade, sexo, etnia, creatinina sérica, ureia nitrogenada e albumina sérica. Um ano mais tarde, uma versão simplificada da equação do MDRD original foi apresentada, utilizando apenas dados de idade, sexo, etnia e creatinina sérica. TFG calculada pela equação do MDRD e a TFG real são muito próximas para resultados < 60 mL/min/1,73 m².(97) No entanto, como a equação do estudo MDRD foi desenvolvida pelo estudo de pessoas com doença renal crônica, suas principais limitações são a imprecisão e a subestimação sistemática da TFG medida em valores mais elevados (>60 mL/min/1,73 m²) (98).

A fórmula CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) é mais precisa que a fórmula MDRD (94) e é recomendada pelo KDIGO(49). O grupo Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration desenvolveu, a partir de coorte que

incluiu indivíduos com e sem doença renal crônica, uma nova equação, que é uma variação da fórmula do MDRD. A equação, denominada de CKD-EPI, usa as mesmas quatro variáveis que a equação do MDRD, mas, comparativamente, apresenta melhor desempenho e previsão de desfechos adversos. As observações de menor viés e maior acurácia da equação CKD-EPI em comparação à equação do estudo MDRD, particularmente nas faixas de $TFG > 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$, constituem o racional para preconizar o seu uso clínico em substituição às equações de estimativa da TFG até então utilizadas.

Em 2012 o grupo Chronic Kidney Disease Epidemiology Colaboration desenvolveu nova equação utilizando a concentração de cistatina C (CKD-EPI₂₀₁₂ cistatina) (96).

$$\text{Cistatina C} \leq 0,8 \quad TFG = 133 * (\text{Cis}/0,8) - 0,499 * 0,996^{\text{idade}}$$

$$\text{Cistatina C} > 0,8 \quad TFG = 133 * (\text{Cis}/0,8) - 1,328 * 0,996^{\text{idade}}$$

3.3.3.2. Fração de excreção de sódio (FENa)

A fração de excreção de sódio (FENa) é a porcentagem do sódio filtrado que é excretado na urina. O cálculo da fração de excreção de sódio é um bom parâmetro para diferenciar etiologia da lesão renal aguda. Nos casos de etiologia pré-renal a fração de excreção de sódio é <1%, enquanto uma FENa% superior a 3% sugere a presença de uma necrose tubular aguda. A FENa foi calculada pela equação:

$$FENa = [(\text{NaU} \times \text{CrPl}) / (\text{NaPl} \times \text{CrU})] \times 100 \quad (\text{U} = \text{urinário}; \text{Pl} = \text{plasmático};$$

Na = sódio; Cr = creatinina) (99).

3.3.3.3. Definição de injúria renal aguda (IRA)

A definição utilizada para definir IRA foi a preconizada pelo KDIGO, usando apenas critério aumento da creatinina sérica $\geq 0,3 \text{ mg/dL}$ ou $\geq 50\%$ (49).

3.4. Avaliação sobre exposição à poluição do ar e sobre o clima

Foi realizado monitoramento de material particulado fino ($MP_{2,5}$), através de monitor de aerossol DustTrak DRX modelo 8533, portátil, da TSI Inc, MN/USA (Figura 2). O equipamento foi posicionado cerca de um metro de altura e distância de cerca de 2 a 3 metros do trabalhador, distante o necessário para não interferir no trabalho (Figura 3). O monitor faz o registro em tempo real da concentração de $MP_{2,5}$, expressa os resultados em $\mu\text{g}/\text{m}^3$, e permite que os dados sejam transferidos para computador.

Foram realizadas medidas de $MP_{2,5}$ durante duas jornadas de trabalho de sete horas no período da pré-safra e durante três jornadas no período da safra, já que o trabalho no corte de cana-de-açúcar apresenta poucas variações no dia a dia e pela dificuldade de monitoramento nos canaviais por tempo prolongado. Os monitoramentos foram realizados das 7:h às 15:00.

O registro da temperatura (graus Celsius) e umidade relativa do ar (em porcentagem) foram realizados simultaneamente ao registro do $MP_{2,5}$ e os resultados exportados para computador. O equipamento utilizado foi o termo-higrômetro DataLogger modelo DHT-2261 Full Range. Esse dispositivo permite coletar dados de temperatura e umidade relativa do ar minuto a minuto (Figura 4).

As avaliações foram realizadas nos canaviais tanto no período da Pré-safra como durante a Safra.



Figura 2. Monitor de massa de aerossóis por espectrofotometria, MP DUSTTRAK Aerosol Monitor (Modelo 8520, TSI Inc., Mn, EUA).



(Fonte própria)

Figura 3. Corte manual da cana-de-açúcar com registro da concentração de $MP_{2,5}$.



Figura 4. Termo higrômetro Data Logger DHT (Modelo 2260 Full Range - Perceptec).

3.5 Análises estatísticas

Realizadas análises descritivas, com os resultados apresentados com valores de médias, desvios padrão, mediana e intervalo interquartílico 25-75% e prevalência. A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov.

Foram avaliados efeitos considerados agudos ou após curtos períodos de exposição/trabalho e efeitos crônicos ou em longo prazo, após meses de exposição/trabalho.

Para análises de comparações foram utilizados teste ANOVA para medidas repetidas com pós-teste de Bonferroni para variáveis com distribuição paramétrica ou Teste de Friedman com pós-teste de Dunn para aquelas com distribuição não paramétrica. Além de teste T pareado ou Wilcoxon de acordo com a normalidade dos dados. Para comparações das variáveis do clima e material particulado foi utilizado teste

de Mann-Whitney. Para análise de correlação foi utilizado teste de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%. Foi utilizado o software GraphPad Prism®.

Foram realizadas análises de regressão linear com modelo de efeitos mistos. Cada modelo avaliado tinha a variável que indicava o momento da medida da variável dependente como efeito fixo, ajustado para idade, peso, tabagismo atual e número de safras trabalhadas e, intercepto ou intercepto e momento da medida, como efeito aleatório. O modelo misto trata as respostas de cada indivíduo como medidas repetidas, considerando as correlações dessas medidas. A significância dos efeitos da parte fixa do modelo foi avaliada pelo teste Wald. Os modelos foram avaliados por distribuição normal dos resíduos e dos efeitos aleatórios, bem como pela avaliação dos intervalos de confiança dos parâmetros estimados. A seleção do melhor modelo foi feita pelo Critério de Informação Akaike e pelo intervalo de confiança do parâmetro estimado. As análises foram feitas com o pacote R (versão 2.15.3) e utilizou-se a biblioteca computacional NLME para as análises (Linear and Nonlinear Mixed Effects Models).

Resultados

4. RESULTADOS

Dos 78 trabalhadores avaliados no período da pré-safra, 60 e 49 continuaram trabalhando na empresa na reavaliação aos três e seis meses, respectivamente, após o início da safra. A redução do número de trabalhadores ao longo do ano ocorreu porque alguns deixaram a empresa e porque alguns manifestaram receio de que a coleta de sangue pudesse influenciar o rendimento do trabalho e, conseqüentemente, redução do salário. Nas análises univariadas foram considerados apenas dados com medidas repetidas, o que explica a variação no número de indivíduos avaliados nos diversos períodos.

4.1. Caracterização das condições gerais de trabalho

A duração média da jornada de trabalho foi de oito horas por dia, seis dias por semana, com intervalo de 30 a 60 minutos para almoço. No período da pré-safra os cortadores trabalharam no plantio da cana-de-açúcar crua e recebiam salário mensal fixo. No período da safra os trabalhadores cortaram manualmente a cana-de-açúcar, em sua maioria queimada, e receberam salário em conformidade com sua produção, sendo a média de cana cortada por trabalhador de $9,2 \pm 2,5$ toneladas de cana-de-açúcar/dia.

O registro dos dados ambientais nos canaviais, nos períodos da pré-safra e da safra estão apresentados na Tabela 1. A concentração de $MP_{2,5}$ foi 3,7 vezes maior no período da safra comparado ao da pré-safra. Durante o trabalho no canavial, os registros revelaram temperatura elevada e baixa umidade relativa do ar, tanto na pré-safra como nos dois períodos da safra agregados (três e seis meses).

Tabela 1 - Comparação dos valores de material particulado, temperatura e umidade relativa do ar no período de Pré-safra e Safra

	Período da Pré-safra	Período da Safra	p*
PM _{2,5} (µg/m ³)	27,0 [23,0-33,0]	101,0 [31,0-139,5]	< 0,001
Temperatura (°C)	32,6 [25,4-37,4]	29,7 [24,1 – 34,0]	< 0,001
URar (%)	45,4 [35,0-59,7]	54,9 [34,7-63,2]	< 0,001

Nota: PM_{2,5}: material particulado com diâmetro aerodinâmico $\leq 2.5\mu\text{m}$; URar: umidade relativa do ar; * Teste de Mann-Whitney; Valores expressos em mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

4.2. Características gerais dos trabalhadores

Na Tabela 2 são apresentados dados antropométricos e as condições gerais dos 78 indivíduos participantes no início do estudo, no período da pré-safra.

Tabela 2 - Características gerais basais (período matutino, pré-safra) dos indivíduos avaliados (n=78)

Variáveis	Valores
Idade (anos)	37,9 ± 11,04
Peso (Kg)	72,54 ± 12,53
IMC (kg/m ²)	24,7 (22,28–28,13)
Tempo de trabalho (anos)	9,0 (6,0–17,0)
PAS (mmHg)	115,0 (107,5-120,0)
PAD (mmHg)	70,0 (60,0-80,0)
FC (bpm)	69,1 ± 12,8
SpO ₂ (%)	98,5 (97,0-99,0)
COex (ppm)	
Fumantes (n = 19)	13,3 ± 6,7
Ex-fumantes (n = 18)	3,1 ± 2,6
Nunca fumaram (n = 41)	2,0 (1,5–3,0)
Ureia sérica (mg/dL)	30,01 ± 9,87

Tabela 2- Continuação. Características gerais basais (período matutino, pré-safra) dos indivíduos avaliados (n=78)

Variáveis	Valores
Creatinina sérica (mg/dL)	0,88 ± 0,11
Cistatina C (mg/L)	0,80 ± 0,12

Nota: IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca; SpO₂: saturação periférica de oxigênio; COex: monóxido de carbono no ar exalado; ppm: partes por milhão. DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil 25-75%.

4.3. Proteína CC16

Nas Tabelas de 3 e 4 são apresentados os resultados das concentrações plasmática e urinária da proteína CC16 dos indivíduos avaliados na pré-safra e nos períodos matutinos e durante a safra em julho e outubro. Além da avaliação antes e após o turno de trabalho, aos três meses após o início da safra.

Imediatamente após o turno de trabalho houve diminuição na concentração plasmática de CC16, na avaliação realizada três meses após o início da safra sem alterações significativas na concentração urinária de CC16. Estes resultados foram confirmados nas análises múltiplas ajustadas. A longo prazo, houve diminuição das concentrações plasmática e urinária, de CC16 quando comparado com os valores obtidos no período da pré-safra (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Concentração plasmática (Pl) e urinária (U) da proteína CC16 antes e após o turno de trabalho três do início da safra e valores no período da pré-safra e aos três e seis meses do início da safra

Efeito agudo				
		Pré-turno	Pós-turno	P
Três meses após o início da safra				
Pl CC16 (ng/mL) (N:49)		4,7 (2,4-6,5)	3,6 (2,1-4,9)	<0,001 [#]
U CC16 (µg/g Cr) (N:54)		18,2 (12,8–30,6)	16,1 (11,0–24,7)	0,199 [#]
Efeito a longo prazo				
	Pré-safra	Três meses	Seis meses[¶]	P
Pl CC16 (ng/mL) (N:40)	8,7 (6,4-13,7)	4,0 (2,3-5,5) ^a	4,6 (2,7-6,1) ^b	<0,001 [*]
U CC16 (µg/g Cr) (N:43)	16,5 (12,2–29,1)	18,2 (12,8–28,3) ^a	13,9 (10,5–23,2) ^c	<0,001 [*]

Nota: a: diferença significativa entre Pré-safra e três meses após o início da safra; b: diferença significante entre Pré-safra e seis meses após o início da safra; c: diferença significante entre três e seis meses após o início da safra. * Teste de Friedman com pós-teste de Dunn. [#] Teste de Wilcoxon. Valores expressos em mediana e intervalo interquartilico (25-75%).

Tabela 4 - Estimativa do efeito agudo (pré-turno vs. pós-turno) e crônico (pré-safra vs. três e seis meses após início da safra) nas concentrações plasmáticas (Pl) e urinárias (U) da proteína CC16^a

	β	Erro Padrão	P
<u>Efeito agudo</u>			
Pl CC16 (N:49)			
Três meses após o início da safra (pós-turno) ^b	-0,2271	0,0916	0,016
U CC16 (N:56)			
Três meses após o início da safra (pós-turno) ^b	-0,1987	0,1026	0,058
<u>Efeito a longo prazo</u>			
Pl CC16 (N:78)			
Três meses após o início da safra (pré-turno) ^c	-0,8187	0,0676	<0,001
Seis meses após o início da safra (pré-turno) ^c	-0,6808	0,0676	<0,001
U CC16 (N:78)			
Três meses após o início da safra (pré-turno) ^c	0,1395	0,0782	0,077
Seis meses após o início da safra (pré-turno) ^c	-0,2356	0,0818	0,004

Nota: ^aAnálise de regressão linear de efeitos mistos ajustada pela idade, peso, tabagismo e tempo de trabalho. ^b Referência antes do turno de trabalho; ^c Referência pré-safra, antes do turno de trabalho; β : Coeficiente de regressão.

4.4. Avaliação do efeito agudo em marcadores sistêmicos e renais

4.4.1. Avaliações comparativas do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca, antes e após a jornada de trabalho, aos três meses após o início da safra.

Na Tabela 5 são apresentados dados de peso, FC e pressão arterial pré turno e após o final do turno de trabalho, aos três meses do início de trabalho na safra de cana. Ao final do turno foi observada redução significativa do peso corporal, da pressão arterial e aumento da FC.

Tabela 5 - Evolução do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após o turno de trabalho três meses após o início da safra

Variáveis	Período da safra três meses		
	Pré-turno	Pós-turno	P
Peso (Kg)	73,1 ± 13,4	72,7 ± 13,5	<0,001
PAS (mmHg)	134 [121-147]	129 [120-139,3]	0,024
PAD (mmHg)	81,5 [71-91,8]	80 [70-89]	0,121
FC (bpm)	69,8 ± 11,9	80,3 ± 13,2	<0,001

Nota: PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca. (N=58). Valores expressos em média±desvio padrão, mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

4.4.2. Marcadores de equilíbrio hidroeletrólítico e da função renal

Nas tabelas 6 e 7 são apresentados os dados dos indivíduos avaliados antes e após uma jornada de trabalho após três meses do início da safra.

Na Tabela 6 pode ser observado aumento nas concentrações de marcadores sugestivos de desidratação como sódio, osmolaridade sérica, densidade urinária e diminuição da FENa e de alteração na função renal com aumento de creatinina, ureia, ácido úrico, NGAL, KIM-1, revelando impacto agudo de uma jornada de trabalho. Embora no conjunto os valores de Cistatina C não foram diferentes, foi observado aumento da cistatina C, após o turno de trabalho, em 24 indivíduos (48,9%), que também apresentaram menor FENa%, comparado aos indivíduos que não apresentaram aumento da cistatina C (p=0,0191).

Tabela 6 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho

Variáveis	Pré-turno	Pós-turno	P
<u>Marcadores sanguíneos (N=49)</u>			
Ureia (mg/dL)	31,0 [25,0-39,0]	33,0 [29,0-38,0]	0,010 [#]
Creatinina (mg/dL)	0,89 ± 0,12	1,06 ± 0,16	<0,001*
Albumina (mg/dL)	4,28 ± 0,23	4,43 ± 0,28	<0,001*
Cistatina C (mg/L)	0,83 [0,75-0,89]	0,84 [0,75-0,88]	0,892 [#]
Ácido Úrico (mg/dL)	5,0 [4,3-5,5]	5,3 [4,7-6,2]	<0,001 [#]
NGAL (ng/ml)	48,54 [37,83-68,49]	59,26 [42,92-72,32]	0,011 [#]
Osmolaridade (mmol/L)	293,8 ± 4,92	297,7 ± 5,78	<0,001*
Sódio (mEq/L)	138,6 ± 2,05	140,2 ± 2,46	<0,001*
Potássio (mEq/L)	5,30 [5,15-5,55]	4,60 [4,40-4,80]	<0,001 [#]
Cálcio (mEq/L)	4,60 [4,50-4,75]	4,80 [4,65-5,0]	<0,001 [#]
Fósforo (mg/dL)	3,37 ± 0,56	3,65 ± 0,64	0,002*
Magnésio (mEq/L)	1,60 [1,50-1,70]	1,60 [1,50-1,75]	0,862 [#]
<u>Marcadores urinários (N=54)</u>			
Microalbuminúria (ng/mL)	2129 [1129-4678]	5667 [3258-10188]	<0,001 [#]
NGAL (ng/mL)	7,55 [3,76-10,92]	12,50 [6,29-22,66]	<0,001 [#]
TFG (por <i>MDRD</i>)	96,57 ± 19,48	79,61 ± 18,01	<0,001*
TFG (por <i>CKD-EPI</i>)	102,82 ± 15,14	87,84 ± 17,09	<0,001*
TFG (<i>CKD-EPI</i> cistatina C)	109,4 [98,06-119,4]	107,7 [97,66-115,6]	0,928 [#]
FENA (%)	0,73 [0,56-1,12]	0,55 [0,45-0,80]	0,043 [#]
Potássio (mEq/L)	20,25 [14,48-29,90]	64,45 [49,95-81,25]	<0,001 [#]
Cálcio (mEq/L)	7,30 [3,60-9,68]	4,65 [2,80-7,88]	0,003 [#]
Magnésio (mEq/L)	9,20 [5,68-12,70]	6,10 [3,65-7,73]	<0,001 [#]
Densidade	1020 [1015-1025]	1025 [1025-1030]	<0,001 [#]
pH	6,00 [6,00-6,00]	5,00 [5,00-6,00]	<0,001 [#]

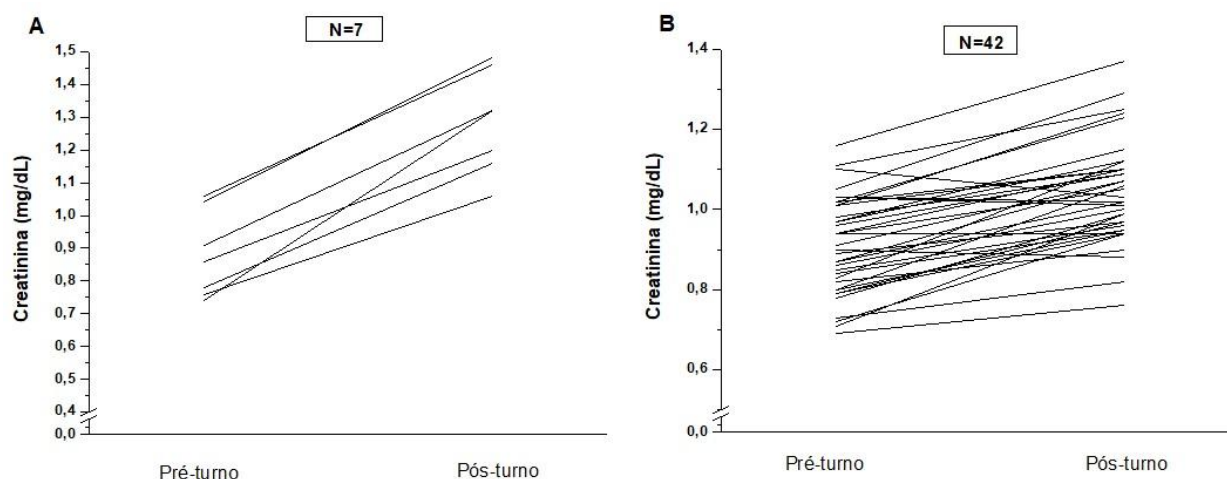
Tabela 6 – Continuação. Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho.

Variáveis	Pré-turno	Pós-turno	P
<u>Marcadores urinários (N=54)</u>			
KIM-1 (pg/mL)	52,45 [10,23-184,20]	102,70 [36,20-295,60]	0,007 [#]
IL-18 (pg/mL)	1,49 [1,49-21,43]	20,99 [1,49-42,46]	0,001 [#]
Calbindina (ng/mL)	15,70 [0,54-39,93]	29,70 [12,88-78,83]	<0,001 [#]
MCP-1 (pg/mL)	42,48 [5,40-620,1]	155,70 [53,64-1464]	<0,001 [#]
Osteopontina (ng/mL)	263,3 [68,26-602,0]	393,5 [223,8-747,1]	0,014 [#]
TFF-3 (ng/mL)	336,7 [234,6-579,9]	437,5 [288,1-704,1]	0,046 [#]

Nota: * Teste T pareado; [#] Teste de Wilcoxon; TFG: Taxa de Filtração Glomerular; MDRD: Modification of Diet in Renal Disease; CKD-EPI: Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration. Valores expressos em média±desvio padrão, mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

No Gráfico 1 pode ser observada o aumento da creatinina sérica na maioria (44 em 49) dos indivíduos após o turno de trabalho (três meses do início da safra), sendo que em sete indivíduos (14,3% da amostra) ocorreram aumentos dos níveis de creatinina sérica acima de 0,3 ou de 50%, critérios para considerar como IRA (49).

Gráfico 1 - Creatinina sérica antes e após a jornada de trabalho três meses após o início da safra. **A)** Sete indivíduos que desenvolveram IRA. **B)** 42 indivíduos que não desenvolveram IRA.



4.4.3 Marcadores inflamatórios sanguíneos

Na Tabela 7 pode ser observado aumento de leucócitos e ácido úrico e diminuição de células vermelhas ao final do turno de trabalho.

Tabela 7 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho (N:49)

	Pré-torno	Pós-torno	P
<u>Marcadores sanguíneos</u>			
Leucócitos (mm ³)	5880 [4960-6930]	7790 [6710-9675]	<0,001 [#]
Neutrófilos (mm ³)	3367 [2312-4077]	5162 [3965-6583]	<0,001 [#]
Eosinófilos (mm ³)	200,6 [118,4-354,0]	140,2 [78,38-229,9]	<0,001 [#]
Linfócitos (mm ³)	1901 [1705-2188]	1950 [1741-2293]	0,199 [#]
Monócitos (mm ³)	537,6 [433,2-608,8]	616,2 [485,9-678,6]	0,004 [#]
Eritrócitos (mm ³)	5,02 ± 0,35	4,95 ± 0,35	0,028*
Hemoglobina (g/dL)	14,81 ± 0,90	14,62 ± 0,83	0,025*
Hematócrito (%)	44,80 [43,20 – 47,35]	42,30 [42,55 – 46,0]	0,001 [#]
CPK (U/L)	220,0 [177,5-286,0]	211,0 [159,0-277,0]	0,008 [#]

Tabela 7 – Continuação. Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue, dos indivíduos avaliados no período da Safra (três meses após início), antes e após o turno de trabalho

	Pré-turno	Pós-turno	P
LDH (U/L)	211,0 [195,0-235,0]	224,0 [200,5-244,5]	0,011 [#]
Triglicerídeos (mg/dL)	91,0 [54-124,5]	146,0 [97-208]	<0,001 [#]

Nota: * Teste T pareado; [#] Teste de Wilcoxon. Valores expressos em média±desvio padrão, mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

Na Tabela 8 são apresentados os resultados das análises de regressão múltipla, que confirmam e estimam as alterações nos marcadores de desidratação e de função renal após o turno de trabalho aos três e seis meses após o início da safra.

Tabela 8 - Efeito de uma jornada de trabalho no corte de cana, aos três e seis do início da safra, em marcadores de desidratação e função/lesão renal

Efeito agudo	Efeito antes x após o turno de trabalho[‡]		
	B	Erro Padrão	P
<u>Marcadores sanguíneos (N=58)</u>			
NGAL (ng/mL)	0,1523	0,0528	0,0060
Creatinina (mg/dL)	0,1791	0,0187	<0,001
Uréia (mg/dL)	2,3892	0,9339	0,0139
Sódio (mEq/L)	1,6719	0,3322	<0,001
Fósforo (mg/dL)	0,2789	0,0860	0,0022
Cálcio (mEq/L)	0,2572	0,0544	<0,001
Osmolaridade (mmol/L)	4,2006	0,7199	<0,001
<u>Marcadores urinários (N= 56)</u>			
NGAL (ng/mL)	0,6365	0,1461	0,0001
Microalbuminúria (ng/mL)	0,7775	0,1861	0,0001
FENa (%)	-0,2439	0,1110	0,0332
Cálcio (mEq/L)	-0,2323	0,0739	0,0027
Magnésio (mEq/L)	-0,4312	0,0745	<0,001

Nota: Análise de regressão linear múltipla, ajustada pela idade, peso, tempo de trabalho, tabagismo; [‡] após três meses de trabalho na safra de cana.

4.5. Comparação das avaliações ao longo da safra

A avaliação dos efeitos em longo prazo comparou os valores registrados no período da manhã, antes da jornada de trabalho, no período da pré-safra e período da safra aos três e seis meses do seu início.

4.5.1. Avaliações comparativas do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca ao longo da safra

Na Tabela 9 pode ser observado aumento dos valores da pressão arterial sistólica e diastólica após três e seis meses do início da safra e diminuição da frequência cardíaca, após seis meses após do início da safra. As comparações são de valores pré-turno de trabalho.

Tabela 9 - Evolução do peso, da pressão arterial e frequência cardíaca ao longo da safra

	Pré-safra	3 meses	6 meses	P
Peso (Kg)	71,6 ±11,9	72,4 ±11,8	71,4 ± 12,3	0,465
PAS (mmHg)	110[100-120]	133[121-142,5] ^a	134[123,3-153,8] ^b	<0,001
PAD (mmHg)	70 [60-80]	81[71-87] ^a	82[74,25-90] ^b	<0,001
FC (bpm)	68,1 ±11,9	68,4 ± 11,7	62,2 ± 7,3 ^{b,c}	0,009

Nota: PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca. Valores expressos em média±desvio padrão, mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

4.5.2. Marcadores de equilíbrio hidroeletrólítico e da função renal

Nas tabelas de 10 a 12 são apresentados das avaliações realizadas, antes da jornada de trabalho, nos períodos da pré-safra e três e seis meses após início do período da safra.

Na Tabela 10 pode ser visualizado aumento na concentração de marcadores que indicam desidratação, diminuição da filtração glomerular e injúria renal. Houve correlação positiva entre cistatina C e PCR ($r=0,41$; $p=0,003$). Ocorreu aumento da cistatina C em 27 indivíduos (55,1%), aos seis meses do início da safra, com maiores valores de PCR, e osteopontina comparado aos indivíduos que não apresentaram aumento da cistatina C ($p=0,0023$; $p=0,0462$ respectivamente).

Tabela 10 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina dos indivíduos avaliados no período matutino, na pré-safra, após três e seis meses do início da safra

Marcadores séricos (N=40)	Pré-safra	3 meses	6 meses	P
Albumina (mg/dL)	4,5 ± 0,3	4,3 ± 0,2 ^a	4,3 ± 0,2 ^b	<0,001*
Ureia (mg/dL)	29,6 ± 10,1	31,7 ± 8,6	33,5 ± 8,7 ^b	0,021*
Creatinina (mg/dL)	0,88 ± 0,11	0,89 ± 0,12	0,85 ± 0,13 ^c	0,020*
Cistatina C (mg/L)	0,78 ± 0,12	0,82 ± 0,10 ^a	0,83 ± 0,09 ^b	0,010*
Ácido Úrico (mg/dL)	5,1 [4,3-5,7]	4,9 [4,3-5,5]	5,0 [4,2-5,6]	0,917 [#]
NGAL (ng/ml)	54,2 [41,1-81,1]	46,9 [34,7-63,2]	62,9 [48,1-97,9] ^c	0,005 [#]
Sódio (mEq/L)	139,0 [137,0-139,8]	138,5 [137,0-140,0]	138,0 [138,0-140,0]	0,808 [#]
Potássio (mEq/L)	5,05 [4,6-5,3]	5,4 [5,3-5,6] ^a	4,9 [4,5-5,0] ^{b,c}	<0,001 [#]
Cálcio (mEq/L)	4,6 [4,5-4,8]	4,6 [4,5-4,7]	4,6 [4,4-4,7] ^{b,c}	0,008 [#]
Fósforo (mg/dL)	3,1 ± 0,5	3,4 ± 0,5 ^a	3,3 ± 0,5 ^b	<0,001*
Marcadores urinários (N=43)				
NGAL (ng/mL)	7,6 [5,2-14,2]	6,5 [3,6-10,8]	9,9 [6,5-19,6] ^c	0,018 [#]
FENa (%)	0,67 [0,34-0,89]	0,73 [0,56-1,05]	0,44 [0,30-0,58] ^c	0,002 [#]

Tabela – 10 Continuação. Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue e urina dos indivíduos avaliados no período matutino, na pré-safra, após três e seis meses do início da safra

Marcadores	Pré-safra	3 meses	6 meses	P
urinários (N=43)				
Fósforo (g/dL)	0,87 [0,59-1,64]	0,65 [0,45-0,89] ^a	1,04 [0,6-1,53] ^c	<0,001 [#]
Magnésio (mEq/L)	8,9 [6,3-16,1]	9,4 [5,9-12,0]	11,8 [6,7-17,3] ^{b,c}	0,003 [#]
Densidade	1023 [1015-1026]	1020 [1015-1025]	1025 [1015-1030] ^c	0,027 [#]
TFG (<i>CKD-EPI</i> cistatina C)	112,8 ± 16,92	107,4 ± 15,07	107,1 ± 13,61 ^b	0,019 [#]
MCP-1 (pg/mL)	61,7 [0,90-425,1]	34,6 [0,9-610,9]	93,8[17,1-400] ^c	0,015 [#]
TFF-3 (ng/mL)	457,3 [205,7-891,0]	335,9 [237,2-560,7]	780,1 [275,2-1116] ^c	0,026 [#]

Nota: marcadores séricos, N=40; marcadores urinários, N=43; a) diferença significativa entre Pré-safra e três meses após o início da safra; b) diferença significativa entre Pré-safra e seis meses após o início da safra; c) diferença significativa entre três e seis meses após o início da safra. * Teste ANOVA para medidas repetidas com pós-teste de Bonferroni; # Teste de Friedman com pós-teste de Tukey. TFG: Taxa de Filtração Glomerular; MDRD: Modification of Diet in Renal Disease; CKD-EPI: Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration. Valores expressos em média ± desvio padrão, mediana [intervalo interquartilício 25-75%].

4.5.3. Marcadores inflamatórios sanguíneos

Na Tabela 11 pode ser observado comportamento de marcadores inflamatórios, com elevação de monócitos e CPK, diminuição da série vermelha, da LDL e aumento do HDL no período da safra, comparado com o período da pré-safra.

Tabela 11 - Comparação dos resultados dos exames, em amostras de sangue, dos indivíduos avaliados no período matutino na Pré-safra, e após três e seis meses do início da safra (N:40)

Marcadores séricos	Pré-safra	3 meses	6 meses	P
Neutrófilos (mm ³)	3107 [2394-3659]	3296 [2318-4084]	2799 [2336-4018]	0,272*
Monócitos (mm ³)	407,8 [339,1-488,7]	540,2 [439,3-599,1] ^a	496,0 [403,7-572,4] ^b	<0,001*
Eritrócitos (mm ³)	5,2 [4,9 – 5,4]	4,9 [4,7 – 5,3] ^a	4,8 [4,6 – 5,1] ^{b,c}	<0,001 [#]
Hemoglobina (g/dl)	14,9 ± 0,9	14,8 ± 0,8	14,4 ± 0,8 ^{b,c}	<0,001*
Hematócrito (%)	46,6 [44,1 – 47,8]	44,8 [43,3 – 46,8]	44,5 [43,1–45,7] ^{b,c}	<0,001 [#]
CPK (U/L)	172,0 [147,8-253,0]	219,5 [173,3-289,0] ^a	251,5 [203-409,8] ^{b,c}	<0,001*
PCR (mg/L)	1,0 [0,4-1,7]	2,1 [1,2 -3,6] ^a	1,1 [0,6–2,3] ^c	<0,001*
LDH (U/L)	223,5 [196,3-241,5]	211,5 [193,5-235,3]	220,5 [196,3-256,8] ^c	0,028*
Colesterol (mg/dL)	181,1 ± 46,9	177,6 ± 48,2	166,5 ± 41,3 ^{b,c}	0,001*
HDL (mg/dL)	45,0 [35,3-57,5]	41,5 [35,5-57,3]	47,5 [37,0-56,0] ^{b,c}	<0,001 [#]
LDL (mg/dL)	109,0 [79,3-133,0]	98,5 [84,3-131,0]	93,0 [75,3-115,5] ^{b,c}	0,001 [#]

Nota: a) diferença significativa entre Pré-safra e três meses após o início da safra; b) diferença significativa entre Pré-safra e seis meses após o início da safra; c) diferença significativa entre três e seis meses após o início da safra. * Teste ANOVA para medidas repetidas com pós-teste de Bonferroni; [#] Teste de Friedman com pós-teste de Dunn. Valores expressos em média±desvio padrão, mediana [intervalo interquartilico 25-75%].

Resultados das análises múltiplas confirmam aumento das concentrações séricas de cistatina C, após três e seis meses do início da safra, e observado aumento de NGAL e da ureia apenas após seis meses do início da safra. Na urina foi observado aumento de NGAL, da densidade e do TFF-3 após seis meses do início da safra.

Tabela 12 - Efeito do trabalho no corte de cana três e seis meses após início da safra, comparado com o período da pré-safra, em marcadores renais (N=78)

Efeito a longo prazo	3 meses após o início da safra*			6 meses após o início da safra *		
	β	Erro Padrão	P	B	Erro Padrão	P
<u>Marcadores sanguíneos</u>						
NGAL (ng/mL)	-0,2237	0,0917	0,017	0,2362	0,0915	0,011
Creatinina (mg/dL)	0,0148	0,0117	0,209	-0,0117	0,0117	0,321
Cistatina C (mg/L).	0,0379	0,0150	0,013	0,0423	0,0149	0,006
Ureia (mg/dL)	1,6002	1,2038	0,187	3,0689	1,2037	0,012
Fósforo (mg/dL)	0,3016	0,0675	<0,001	0,1571	0,0674	0,022
<u>Marcadores urinários</u>						
NGAL (ng/mL)	0,0005	0,1698	0,998	0,4802	0,1770	0,008
Densidade	-0,00001	0,0009	0,990	0,0032	0,0009	<0,001
TFG (CKD-EPI)	-1,7439	1,0041	0,086	0,3194	1,0053	0,751
TFG (MDRD)	-1,4105	1,7734	0,428	2,4472	1,7751	0,171
TFF-3 (ng/mL)	-0,1016	0,1067	0,343	0,3583	0,1118	0,002

Nota: Análise de regressão linear de efeitos mistos, ajustada pela idade, peso, tempo de trabalho, tabagismo; *Referencia pré-safra antes do turno de trabalho.

Discussão

5. DISCUSSÃO

Os resultados apresentados revelam que o trabalho no corte manual de cana-de-açúcar submete os trabalhadores à sobrecarga física, cortam em média nove toneladas de cana/dia, realizado em ambiente caracterizado por elevadas concentrações de poluentes e temperaturas. Foi observado redução ao longo da safra de corte de cana (possível efeito crônico) nas concentrações plasmáticas e urinárias da proteína CC16; observados efeitos agudos e ao longo da safra em biomarcadores inflamatórios sistêmicos, de equilíbrio hidroeletrólítico e na função renal, com alterações de marcadores que sugerem injúria renal.

5.1. Proteína CC16

Na mesma direção de nossos achados, diversos estudos detectaram redução da proteína CC16 após exposições a agentes químicos. Estudos experimentais e em humanos observaram reduções nas concentrações de CC16 após exposição subaguda e a longo prazo ao cromo (27) e à sílica (100), bem como em estudos envolvendo tabagistas (29, 30) e em ratos expostos ao ozônio (O₃) e ao dióxido de nitrogênio (NO₂) (31). A hipótese para redução decorreria da destruição das células Club (27, 28) ou a sua diferenciação em células epiteliais brônquicas ou alveolares, como parte do processo de reparo do tecido pulmonar danificado, e consequente redução na secreção da proteína no fluido broncoalveolar (31, 32).

Zhao et al.(27) encontraram redução nas concentrações de CC16 no sangue e no lavado broncoalveolar de ratos expostos ao cromo, atribuindo a uma provável redução no número de células Club após exposição. Os autores relatam que a exposição ao cromo também induziu a ativação do fator nuclear kappa B (NF-kB), um fator de

transcrição, em resposta ao estresse oxidativo, que pode ter contribuído para a apoptose das células Club, levando a uma consequente redução nas concentrações de CC16. Li et al.(101) avaliaram 91 trabalhadores expostos ao cromo há pelo menos um ano e 38 indivíduos controles não expostos. Os resultados mostraram que a exposição ao cromo reduziu os níveis séricos de CC16 e da relação CC16/SPD e aumentou a concentração da proteína D associada ao surfactante (SP-D), um biomarcador que reflete a permeabilidade da barreira epitelial pulmonar, sugerindo que a exposição ao cromo pode levar a menor produção da proteína CC16 e afetar a permeabilidade do epitélio pulmonar. A redução de CC16 e da relação CC16/SPD foram associados à redução da função pulmonar dos trabalhadores expostos ao cromo, visto pela redução do VEF₁, da relação VEF₁/CVF, do pico de fluxo expiratório e do volume máximo de ventilação. Isso pode ajudar a esclarecer o efeito crônico de trabalhar no corte de cana queimada na redução da proteína CC16 e a possível associação com a redução da função pulmonar que também foi observada por Prado et al.(18), em um estudo envolvendo cortadores de cana-de-açúcar. Por outro lado, estudo de Mazzoli-Rocha et al.(6) comparando a toxicidade das partículas produzidas pelo tráfego de veículos e pela queima de cana-de-açúcar, encontrou que a concentração de cromo foi quase duas vezes maior nas partículas originadas da queima de cana-de-açúcar. Esses achados poderiam ajudar a explicar a redução da concentração de proteína CC16 observada em nosso estudo.

Bernard et al.(28) avaliaram 86 trabalhadores expostos à sílica por 15,2 meses e compararam amostras de soro e escarro da proteína CC16 com indivíduos não expostos. A concentração sérica de CC16 foi menor no grupo exposto (12,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ vs. 16,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$), a hipótese dos autores é de que essa diminuição se deve à capacidade das partículas de sílica em danificar as células Club. Estudos com exposição aguda ao tabaco (102, 103) e tabagismo passivo (104) mostraram que existe um aumento na

concentração da proteína CC16, enquanto o tabagismo crônico induz uma redução nas concentrações de CC16 (29, 32) atribuída à diminuição do número de células Club e/ou de outras células epiteliais que as produzem (105).

Por outro lado, estudos mostraram aumento na concentração de CC16 após exposição aguda a poluentes e após exercício físico. Provost et al. (33) encontraram relevante elevação da CC16 após exposição a curto prazo (média da semana precedente às avaliações), ao MP_{10} em 825 adolescentes, mesmo com baixas concentrações ambientais de partículas. Para cada aumento de $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração média de MP_{10} os autores encontraram um aumento de $0,52 \mu\text{g}/\text{L}$ nos níveis séricos de CC16. No entanto, nenhuma associação foi encontrada com exposição a longo prazo, em discordância com os achados deste estudo. Os autores (33) sugerem que a exposição aguda à poluição atmosférica compromete a integridade do epitélio pulmonar, levando a aumento da permeabilidade da barreira epitelial com liberação de maior quantidade de proteína CC16 para o sangue, muito embora possa decorrer também de uma maior produção pelas células Club, condição não avaliada pelos autores do estudo.

Estudos que avaliaram isoladamente o exercício ou exposição a poluentes só o fizeram em desenhos para avaliar efeitos agudos, diferindo de nosso estudo que procurou avaliar efeito agudo em indivíduos submetidos cronicamente a fatores envolvidos na toxicidade pulmonar. Entre eles Wang et al.(35) avaliaram o efeito da exposição aguda (durante 72h) de $PM_{2,5}$ na proteína CC16 em 36 indivíduos saudáveis. A exposição ao $PM_{2,5}$ foi associada positivamente com a concentração sérica de CC16.

Gomes et al.(38) encontraram que a exposição ao ozônio (O_3), ao calor e à umidade após uma corrida de 8 km, em 10 atletas do sexo masculino, levou a um aumento significativo na concentração de CC16 no lavado nasal, bem como ao aumento das enzimas antioxidantes, sugerindo um mecanismo de proteção aguda contra o

estresse oxidativo estimulado por exercício de alta intensidade associado ao ozônio, ao calor e à umidade. No estudo de Broeckaert F et al. (106), ciclistas expostos ao ar ambiente durante duas horas apresentaram aumento das concentrações séricas de CC16 associada à exposição ao O₃.

Tufvesson et al.(39) compararam concentrações séricas e urinárias de CC16 após o exercício aeróbico em esteira em 22 indivíduos com asma e 18 controles saudáveis. Um aumento na concentração sérica de CC16 foi encontrado, em ambos os grupos, desde o primeiro minuto até 60 minutos após o exercício. A concentração urinária também aumentou com um pico aos 30 minutos e uma redução após 60 minutos, mas ainda foi maior que os valores basais. Os autores sugerem que o aumento de CC16 no plasma pode ser devido a uma permeabilidade epitelial pulmonar alterada após o exercício intenso, bem como ao aumento da produção/secreção de CC16 pelas células Club.

Madsen et al.(34) também descreveram aumento nas concentrações séricas de CC16 após a exposição aguda à poluição ambiental em homens idosos. Foi observado aumento de 2,0 µg/L de CC16 associado a um aumento de 1 µg/m³ em PM_{2,5}, indicando uma possível resposta aguda à poluição ambiental, mais expressiva entre não fumantes e ex-fumantes. Não foi observado efeito da exposição crônica à poluição atmosférica na concentração de CC16. Entretanto, entre os fumantes crônicos foi encontrada uma redução de 1,4 (0,6 a 2,2) µg/L de CC16 associada a cada cigarro fumado. Os autores sugerem que exposições ambientais agudas podem comprometer a integridade do epitélio pulmonar e levar ao aumento da permeabilidade da barreira epitelial nos pulmões de homens idosos e exposições crônicas, a depender da concentração, podem levar a redução da produção de CC16.

Em síntese, os cortadores de cana-de-açúcar queimada apresentaram reduções associadas a curto e a longo prazo no trabalho no corte de cana-de-açúcar queimada, nas concentrações de proteína CC16, um biomarcador envolvido nas defesas pulmonares.

5.2 Hidratação, alterações hidroeletrólíticas e cardiovasculares

Efeito agudo: Os aumentos significativos observados na concentração sérica de sódio, na osmolaridade sérica, na densidade urinária, e a redução da FENa% dos trabalhadores, após o turno de trabalho, são sugestivos de desidratação, provavelmente em decorrência da depleção de volume sanguíneo decorrente da sudorese excessiva devido trabalho em ambiente quente e de reposição inadequada de água e eletrólitos. A hipovolemia causada pela desidratação pode induzir à redução da pressão sanguínea e/ou a redução do volume de líquido extracelular, ao estímulo do sistema nervoso simpático e ativação do sistema renina-angiotensina II resultando na liberação de aldosterona e vasopressina (46, 107, 108). Esse processo leva ao aumento da reabsorção tubular renal de água e sódio, dando plausibilidade para o os achados - aumento do sódio sérico, da osmolaridade e da densidade urinária. Achados semelhantes foram observados por Santos et al.(109), que avaliaram 28 cortadores de cana-de-açúcar antes e após um dia de trabalho ao final do período da safra, exceto na concentração de sódio sérico. A aldosterona além de aumentar a reabsorção de sódio, estimula a secreção tubular de potássio (107), o que pode explicar o aumento da concentração urinária de potássio e a diminuição da concentração sérica observada após o turno de trabalho, aos três meses do início da safra.

A diminuição da pressão arterial após o turno de trabalho, encontrada no presente estudo, pode também estar associada à desidratação e hipovolemia dos

trabalhadores, como observado por Garcia-Trabanino et al (46), em estudo com 189 cortadores de cana-de-açúcar em El Salvador. Outra hipótese seria a redistribuição do fluxo sanguíneo para músculos que ocorre durante a realização de exercícios, mas não se aplica no caso, uma vez que os registros da pressão arterial foram realizados cerca de 30 minutos após o término da jornada de trabalho, tempo suficiente para o reequilíbrio na distribuição do fluxo sanguíneo. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Wesseling et al.(110) que avaliaram 29 cortadores de cana-de-açúcar na Nicarágua, antes e após o turno de trabalho, no primeiro dia da safra, após seis dias e após nove semanas. Os autores observaram diminuição da pressão arterial após o turno de trabalho no primeiro dia e após nove semanas do início da safra.

Efeito após exposição/trabalho em longo prazo: Após meses de trabalho também foi observado diminuição sérica de potássio e elevação da concentração sérica e urinária de fósforo. Wesseling et al.(110), em estudo com 29 cortadores de cana-de-açúcar, também encontraram diminuição do potássio e diferentemente dos nossos achados, observaram diminuição do fósforo séricos após 9 semanas do início da safra.

O aumento observado da pressão arterial durante o período da safra comparado com a pré-safra, reforça os achados do estudo de Barbosa et al (13) que avaliou 28 cortadores de cana-de-açúcar no período da safra e pré-safra. Diversos estudos têm demonstrado associação entre a exposição a poluentes atmosféricos de origem veicular e queima de biomassa e aumento de pressão arterial (111-114). Os mecanismos biológicos sugeridos para explicar os efeitos do material particulado sobre a pressão arterial inclui inflamação pulmonar e sistêmica, estresse oxidativo, desequilíbrio autonômico e disfunção endotelial vascular (diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico) favorecendo a vasoconstrição e aterogênese (115, 116).

5.3 Alterações na função renal

Efeito agudo: A elevação nas concentrações séricas de creatinina, ureia e ácido úrico após o turno de trabalho, se deve provavelmente à redução da TFG, decorrente da diminuição do fluxo sanguíneo renal e da pressão de filtração (46). Resultados semelhantes foram observados no estudo de Wesseling et al.(117) que avaliaram 29 cortadores de cana-de-açúcar na Nicarágua, e detectaram o aumento das concentrações de creatinina, ureia e ácido úrico após o turno de trabalho. No presente estudo chama atenção o aumento nos níveis de creatinina sérica após o final do turno de trabalho, compatível com os critérios de IRA em sete indivíduos após três meses do início da safra (14,3% dos cortadores). Achados semelhantes aos descritos por Santos et al (109), com 19% dos cortadores apresentando elevações dos níveis de creatinina sérica compatível com IRA (49). Estudo realizado por Wesseling et al.(117) também detectou aumento da creatinina $> 0,3$ mg/dL em 14% cortadores.

Em nosso estudo foi observado aumento de ácido úrico logo após o dia de trabalho, em concordância com outros estudos envolvendo cortadores de cana-de-açúcar (46, 117, 118) O aumento na concentração de ácido úrico tem sido sugerido como umas das possíveis causas da epidemia de doença renal crônica observada em cortadores de cana-de-açúcar em países da América Central. Knochel et al. (119) sugeriram que a hiperuricemia e a uricosúria podem ter um papel etiológico na condição de nefropatia de "estresse por calor". O exercício extenuante, em altas temperaturas, pode aumentar o risco de lesão muscular, com quadro de rabdomiólise, liberação de substrato (ácidos nucleicos) pelos músculos lesionados que pode aumentar a concentração de ácido úrico, muitas vezes associado à lesão renal aguda (120, 121). Garcia Trabanino et al. (46), em estudo com 189 cortadores de cana-de-açúcar em El Salvador, os níveis médios de ácido úrico no soro dos trabalhadores eram de 6,5 mg/dL pela manhã e 7,2 mg/dL à tarde,

sendo que 21 de 23 indivíduos que apresentaram TFG <60 mL/min/1,73m² tinham hiperuricemia. No estudo de Roncal-Jimenez et al. (118) onde foram avaliados 10 cortadores de cana-de-açúcar na Nicarágua, comparando cinco com concentração elevada de creatinina basal ($\geq 1,2$ mg/dL) e cinco indivíduos com creatinina $\leq 1,2$ mg/dL, pré-turno de trabalho, mostraram que os níveis séricos de ácido úrico aumentaram de forma semelhante durante o dia em todos os trabalhadores. Foi observado que nos indivíduos com creatinina basal $\geq 1,2$ mg/dL os níveis urinários de ácido úrico foram maiores (muitas vezes >80 mg/dL) quando comparados aos indivíduos com função renal normal, porém sem diferença significativa. Além dos potentes efeitos pró-inflamatórios dos cristais de urato nos túbulos renais, altas concentrações de ácido úrico induzem inflamação e podem fornecer um mecanismo para lesão tubular e fibrose intersticial renal (122, 123).

Alterações agudas no pH urinário foram observadas em 55,5% dos trabalhadores apresentando uma redução de 6,0 para 5,0 do início para o final do turno de trabalho, semelhantes aos observados por outros autores (118, 124). Estudo realizado por Crowe et al. (124), em trabalhadores de cana-de-açúcar na Costa Rica, observaram pH nas amostras de urina após o turno de trabalho ≤ 5 em mais de 80% dos trabalhadores. De acordo com Roncal- Jimenez et al. (118) a acidificação urinária é provavelmente devido à liberação de ácido lático do músculo e aos efeitos da depleção de volume, que levam ao aumento da reabsorção de sódio e bicarbonato (118).

Efeito após exposição/trabalho em longo prazo: Os resultados a longo prazo, mostram aumento da concentração sérica de ureia e cistatina C, porém sem elevação da creatinina sérica e sem alteração da TFG analisada pela creatinina. No entanto foi observado redução da TFG, analisada pela cistatina C, em 62,5% dos indivíduos, aos seis meses do início da safra. A redução de creatinina pode decorrer de

perda de massa muscular, por baixa ingestão proteica, hipótese reforçada pela também observada redução da albumina sérica ao longo da safra. Entretanto, estudo de Laws et al. (125) com 51 cortadores de cana-de-açúcar, durante a pré-safra e após cinco meses no período da safra, observou um discreto aumento (0,07 mg/dL) na creatinina e queda de 5 mL/min/1.73m² da TFG no período da safra. Wesseling et al. (110) observaram, após nove semanas de trabalho no corte da cana, redução de 9% na TFG, aumento de 20% na creatinina sérica e de 41% na ureia sérica, sugerindo que o aumento da creatinina e a diminuição da TFG provavelmente refletem verdadeira lesão renal e não somente alterações no estado de hidratação, dieta ou alterações na massa muscular. No estudo de Garcia-Trabanino et al.(46), com 189 cortadores de cana-de-açúcar em El Salvador, 14% apresentaram redução na TFG (<60 mL/min) pré turno de trabalho, seis meses após o início da safra. Diferentemente, nosso estudo, no qual nenhum trabalhador apresentou valores de TFG <60 mL/min antes do turno de trabalho.

5.4 Alterações nos biomarcadores de lesão e regeneração renal

Os biomarcadores indicativos de lesão renal estrutural e de regeneração tubular apresentaram variações agudas nas avaliações realizadas após três meses. Aos três meses detectou-se um aumento agudo de NGAL, MCP-1, KIM-1, IL-18, calbindina, osteopontina e TFF-3. A longo prazo foi observado, variações nas concentrações dos biomarcadores com aumento de NGAL, MCP-1 e TFF- aos seis meses do início da safra.

O aumento agudo significativo de NGAL urinário aos três meses após o início da safra ocorreu em 40 (74%) trabalhadores, sendo que em 18 (33,3%) deles os valores observados foram acima de 20 ng/mL (valor limite da normalidade).

A longo prazo, aos seis meses do início da safra, foram observadas elevações dos níveis de NGAL sérico e urinário. Estes achados que vão ao encontro do estudo de Wesseling et al.(110), que observaram aumento de até quatro vezes nas concentrações de NGAL urinário em cortadores de cana-de-açúcar após nove semanas de trabalho no corte da cana e de Laws et al. (126), que observaram aumento de 2,5 da NGAL em cortadores de cana-de-açúcar após seis meses do início da safra. O aumento agudo e a longo prazo da NGAL sugere possível dano tubular renal nos cortadores de cana (127-129).

A concentração de MCP-1 aumentou agudamente, em 83,3% dos indivíduos após o turno de trabalho, aos três meses do início da safra, sendo mais de três vezes superior com relação aos valores pré-turno. A longo prazo, aos seis meses do início da safra, a MCP-1 aumentou em 58% dos cortadores, com relação aos valores observados na pré-safra, porém sem diferença significativa nos valores médios. Sua expressão está aumentada nas células do túbulo proximal do rim após lesão isquêmica (63, 64) e após lesão tubular induzida por cisplatina em ratos (65). Com base nessas propriedades, MCP-1 pode ser considerada uma quimiocina pró-inflamatória. Por outro lado, Stroo et al. (130) investigaram o papel da MCP-1 durante lesão renal por isquemia/reperfusão em camundongos e observaram que a deficiência de MCP-1 aumentou a mortalidade e o dano renal após lesão renal isquêmica. As células epiteliais tubulares dos camundongos deficientes em MCP-1 mostraram apoptose aumentada após isquemia. O estudo de Munshi et al. (131) teve como objetivo avaliar a utilidade da MCP-1 como um biomarcador da IRA em comparação com NGAL. A MCP-1 aumentou nas lesões intrarenais em maior quantidade que a NGAL, aumento de 15 vezes nas concentrações plasmáticas de MCP-1 comparado com aumento de duas vezes nos níveis plasmáticos de NGAL. A indução de uremia, na ausência de dano renal estrutural, causou aumento

aproximado de 50 vezes no mRNA de NGAL, sem alterações no mRNA MCP-1, sugerindo melhor especificidade de MCP-1 para a IRA, fornecendo informações complementares aos outros marcadores como a NGAL (131).

As concentrações de KIM-1 aumentaram após o turno de trabalho, com valores quase duas vezes maiores do observado antes do início do turno de trabalho aos três meses do início da safra, não sendo observado efeito crônico ao longo da safra. Resultados diferentes foram observados no estudo de Wesseling et al. (110), que envolveu 29 cortadores de cana-de-açúcar, que não encontrou variação aguda (após o turno de trabalho) nos valores de KIM-1 e nem na nona semana do início da safra.

Zhang et al.(132) demonstraram que a expressão de KIM-1 precedeu o aparecimento de alterações morfológicas nos túbulos proximais e correlacionou-se positivamente com o grau de disfunção renal. Os autores também indicaram a possibilidade do duplo papel da KIM-1 além de biomarcador de lesões tubulares, ela estaria envolvida no processo de regeneração e, como tal, pode ser um potencial marcador de reparo renal (132, 133). A KIM-1 confere às células epiteliais a capacidade de reconhecer e fagocitar as células mortas que estão presentes no rim pós-isquêmico facilitando a depuração dos detritos apoptóticos do lúmen tubular, limitando assim a resposta pró-inflamatória (134). Além de ser vista como marcador de proliferação e regeneração dos túbulos proximais e capaz de facilitar a remodelação dos epitélios lesados (54, 66, 134, 135)

No presente estudo foi observado aumento significativo de calbindina logo após o dia de trabalho, (em 68,5% dos trabalhadores), sem efeito a longo prazo. Existem poucos estudos clínicos avaliando calbindina, mas em recente estudo, realizado por George et al. (136), foi observado aumento de oito vezes nas concentrações de calbindina, após 10 dias, em pacientes que receberam terapia com cisplatina. Em outro

estudo clínico, a calbindina urinária atingiu o pico em resposta à cisplatina após 8 dias, na ausência de alterações na creatinina e ureia indicando a calbindina como um marcador de lesão tubular renal mesmo na ausência de dano funcional evidente (71).

Nas avaliações realizadas aos três meses do início da safra, foi observado aumento agudo nas concentrações de osteopontina, sendo que sua elevação ocorreu em 61% dos trabalhadores. Na IRA, a regulação positiva de osteopontina foi relatada em numerosos modelos animais com lesão renal (74-77), porém com papéis divergentes. Enquanto estudos já observaram uma ação protetora contra o estresse oxidativo, apoptose, aumento da tolerância à isquemia aguda, e regeneração celular (137, 138), outros estudos observaram que a osteopontina também possui atividade pró-inflamatória e pró-fibrótica, com influxo de macrófagos (74, 78, 79). Estudo recente realizado por Cen et al. (77) demonstrou que a inibição da osteopontina em ratos após indução de isquemia-reperfusão, levou à preservação da função renal, à redução da lesão, da apoptose e da inflamação do tecido renal.

Observamos aumento agudo, após o turno de trabalho, de IL-18 (concentração foi 14 vezes maior) aos três meses do início do trabalho no corte de cana queimada, sem alterações a longo prazo. Entretanto, não podemos descartar a inflamação sistêmica como causa dos elevados níveis de IL-18, visto que aumento significativo de leucócitos após o turno de trabalho também foi observado em nosso estudo. Laws et al. (126), contrariamente aos nossos achados, encontraram elevação da IL-18 a longo prazo (após seis meses do início da safra), em cortadores de cana-de-açúcar na Nicarágua.

Em estudo transversal realizado por Parikh et al. (83), as concentrações de IL-18 na urina aumentaram em pacientes com necrose tubular aguda em comparação com outras doenças renais (azotemia pré renal, infecção do trato urinário, DRC e

síndrome nefrótica), e apresentaram sensibilidade e especificidade de >90% para o diagnóstico de IRA. Em uma meta-análise recente de 23 estudos e 4512 pacientes, a IL-18 urinária possui um valor preditivo moderado como biomarcador da IRA em uma ampla gama de configurações clínicas. Estes resultados podem ser explicados em parte pela associação de IL-18 com inflamação e as múltiplas vias envolvidas na patogênese da IRA (139).

Foi observado aumento nas concentrações do biomarcador TFF-3, a curto e a longo prazo. O TFF-3 desempenha um importante papel no mecanismo de reparação e regeneração renal e como um biomarcador sensível em casos de IRA (86-88) e DRC (89-91). No estudo de Yu et al. (86), o TFF-3 foi analisado após nefrotoxicidade renal em ratos e mostrou ser um biomarcador sensível, específico, dinâmico e potencialmente prodromico antes do início das lesões tubulares. Na defesa e reparação tecidual, o TFF-3 age através de numerosos mecanismos, incluindo a formação de barreiras de muco, reparo rápido por migração celular, efeitos antiapoptóticos e modulação da diferenciação e resposta imune e processos inflamatórios (140, 141). Tem sido considerado como parte do processo de regeneração dos rins e envolvido no reparo da lesão do epitélio tubular. Concentrações elevadas na urina foram vistas como indicativos de reparos em andamento o que, por sua vez, é indicativo de danos renais ou processos inflamatórios em curso (89, 142). O aumento de TFF-3 em nosso estudo é provavelmente devido à lesão tubular proximal e distal, e pode também estar associado ao início do processo de regeneração tubular renal.

Alguns biomarcadores particularmente NGAL, também podem ser marcadores de gravidade da doença renal e predizer a progressão e a mortalidade por DRC (143-145). Acompanhamento a longo prazo de pacientes com episódios de IRA mostrou que os pacientes apresentam maior risco de desenvolverem DRC (146). Uma

vez que os episódios repetidos de IRA parecem ocorrer em cortadores de cana-de-açúcar (112, 117, 126), pode ser que a longo prazo, esta condição aumente o risco de DRC nesses trabalhadores. As alterações a longo prazo em nosso estudo (após seis meses do início da safra) com aumento de NGAL, de cistatina C e de ureia suportam esta hipótese.

As alterações observadas em diversos marcadores de injúria dão consistência para afirmar que o trabalho no corte manual de cana-de-açúcar produz impacto renal agudo e crônico. Entretanto se impõe a realização de estudos prospectivos com longa duração para avaliar possível evolução de indivíduos mais sensíveis para o desenvolvimento de DRC.

5.5 Alterações em outros marcadores

A redução aguda e crônica do hematócrito e da hemoglobina observados contraria o que seria esperado em decorrência da provável desidratação observada ao final do turno de trabalho. Entretanto, resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Garcia-Trabanino et al.(46), em cortadores de cana, após o dia de trabalho. Nos estudos de Kargarfard et al., a exposição aguda à altas concentrações de poluentes durante o exercício resultou em redução do hematócrito em atletas saudáveis (147), e redução da hemoglobina e do hematócrito em 20 estudantes jovens (148), achados que ainda necessitam de explicações plausíveis. Seaton et al. (149) observaram associação entre poluição ambiental e diminuição de glóbulos vermelhos, em estudo onde foram avaliadas as relações entre fatores hematológicos e de coagulação e exposição ambiental ao MP₁₀ em 112 idosos durante 18 meses. Os autores (149) discutem que uma possível causa seja alterações endoteliais e sequestro de células vermelhas nos vasos periféricos, conforme sugerido por Salvi et al. (150), que mostraram que a inalação de partículas da

combustão de diesel pode regular a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais capilares, e que essas alterações nas propriedades adesivas aumentariam sistemicamente a adesividade das hemácias às paredes dos capilares.

A redução dos eritrócitos e do hematócrito foi observada em estudo que avaliou o impacto da realização de exercícios físicos em ambiente poluído, com os autores sugerindo que a partículas finas poderiam ser as responsáveis, especialmente numa condição onde com o exercício a carga de poluente inalada aumenta, achados que vão ao encontro dos nossos resultados, onde os cortadores de cana realizam exercícios físicos moderado a intenso ao longo dos dias e da safra, que dura cerca de seis meses (147).

O presente estudo também revelou um aumento significativo da contagem de células brancas sanguíneas (neutrófilos, monócitos, linfócitos), logo após o dia de trabalho, e aumento de monócitos a longo prazo. Resultado semelhante foi observado no estudo de Santos et al. (109), indicando resposta inflamatória provavelmente associada ao trabalho extenuante, a altas temperaturas e exposição a poluentes. As células inflamatórias são consideradas mecanismos importantes para o desenvolvimento da IRA e por potencializar seus efeitos (151, 152). Ficher et al. (153) em estudo recente analisaram a histologia renal de 11 pacientes na Nicarágua (casos potenciais de nefropatia mesoamericana), e observaram um processo inflamatório como causa inicial de dano renal. Todas as biópsias renais mostraram nefrite tubulointersticial, com diferentes graus de inflamação, infiltrados celulares (predominantemente linfócitos T e monócitos), acúmulo de neutrófilos no lúmen tubular dentre outros.

Estudos têm mostrado associações entre inflamação sistêmica e exposição à poluição (154-156) e durante realização de exercício físico em ambiente poluído (147, 148). Hassanvand et al. (154) encontraram associações positivas entre exposição aguda

ao material particulado e contagem de leucócitos em idosos e jovens saudáveis. Kargarfard et al. (148) observaram aumento de leucócitos após a realização de exercício, em ambiente com altas concentrações de poluentes, em 20 jovens. Jacobs et al. (157), observaram um aumento significativo de neutrófilos após 20 minutos de ciclismo em via com elevada concentração de poluentes, quando comparado com ambiente com ar filtrado. Os mecanismos que têm sido sugeridos para explicar a associação entre exercícios físicos intensos e inalação de poluentes são estresse oxidativo e inflamação pulmonar e sistêmica (154, 158, 159).

Apesar do trabalho no corte manual ser compatível com intensa sobrecarga física, em nosso estudo não foi observado aumento agudo nas concentrações de CK, no entanto, houve aumento de DHL ao final do turno de trabalho sugerindo algum grau de lesão muscular. Já estudo de Santos et al. (109) observou um aumento agudo nos níveis séricos de CK de 120 (U/L) pré-turno, para 360 (U/L) após o final do turno de trabalho. Entretanto, observamos aumento significativo na CK a longo prazo assim como evidenciado no estudo de Barbosa et al. (13), em 28 cortadores de cana-de-açúcar, refletindo provável lesão crônica muscular, ainda que de baixa intensidade.

Limitações

6. LIMITAÇÕES

O presente estudo possui, entre as limitações, a redução do número de indivíduos avaliados ao longo do período do estudo, condição que não foi possível evitar; a falta de um marcador mais apropriado para a correção dos biomarcadores de lesão renal, uma vez que a creatinina urinária não representa adequadamente as variações em indivíduos que se exercitaram durante várias horas no trabalho, alternado momentos de desidratação e de reidratação, ao longo de uma jornada de horas de trabalho (160, 161). A variação do fluxo urinário poderia ter sido utilizada permitindo assim a determinação de uma taxa de excreção dos biomarcadores (161), no entanto, por dificuldades operacionais de realizar coletas de cada um dos trabalhadores ao longo de uma jornada de trabalho no canavial esse procedimento não foi possível.

Conclusão

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos revelam que o trabalho no corte manual de cana-de-açúcar submete os trabalhadores à sobrecarga física, realizado em ambiente caracterizado por elevadas concentrações de poluentes e temperatura. Foi observada redução, a curto e ao longo da safra, das concentrações plasmáticas e urinárias da proteína CC16, efeitos agudos e crônicos na elevação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos, no equilíbrio hidroeletrolítico e na redução da função renal, com alterações de marcadores que sugerem lesão renal.

Anexos

8. ANEXOS

Anexo 1. Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

4049/14/029



MEDICINA
USP
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de **18/06/2014**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **122/14** intitulado: **"IMPACTO DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO NO CORTE DE CANA-DE-AÇÚCAR QUEIMADA EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS PULMONARES, SISTÊMICOS E NA FUNÇÃO RENAL."** apresentado pela **COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR.**

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12).

Pesquisador (a) Responsável: Ubiratan de Paula Santos
Pesquisador (a) Executante: Marcell Rocha Leite

CEP-FMUSP, 26 de Junho de 2014.



Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina
e-mail: cep_fm@usp.br

COMISSÃO CIENTÍFICA
PROCEL
03/07/14
Carine

Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME:

.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE

.....

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE:

.....

CEP: TELEFONE: DDD

(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Impacto das condições de trabalho no corte de cana-de-açúcar queimada em marcadores inflamatórios pulmonares, sistêmicos e na função renal.

2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr Ubiratan de Paula Santos

CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº34379

UNIDADE DO HCFMUSP:

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO □

RISCO BAIXO □ RISCO MAIOR □

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : Abril de 2014 a Abril de 2016

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

1- Tem sido relatada a ocorrência de doenças e óbitos em cortadores de cana-de-açúcar, mas suas causas não estão estabelecidas. O trabalho no corte de cana é reconhecidamente pesado, os trabalhadores cortam, em média 10 toneladas por dia. A queima da cana libera poluentes que podem ser inalados pelos trabalhadores. No cultivo da cana também são empregados agrotóxicos e a temperatura as que estão submetidos os trabalhadores, na maior parte do período de corte, é muito alta, chegando até 35-40°C. Existem poucas pesquisas avaliando os efeitos na saúde em trabalhadores envolvidos diretamente no corte de cana queimada.

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo avaliar o impacto das condições de trabalho no corte de cana-de-açúcar queimada em marcadores inflamatórios sistêmicos e na função renal em trabalhadores de uma usina localizada em Martinópolis, na região de Presidente Prudente, Oeste do Estado de São Paulo.

Para isto serão avaliados, três vezes durante um ano, cortadores de cana não fumantes ou ex-fumantes. Cada um será avaliado um vez entre os meses de março, junho e outubro, ou seja, antes de iniciar e safra e durante a safra.

2- Você está sendo convidado a responder o questionário que eu estou lhe mostrando sobre seus hábitos e condições de saúde, a ser examinado por um médico e passar por diversos exames. Os exames aos quais você deverá se submeter são: 1) Exame de sangue. O sangue retirado será analisado em laboratórios, para sabermos se ocorreu uma alteração provocada pelo trabalho; 2) Exame de urina para avaliar se existe alguma inflamação provocada pelo trabalho que pode ser encontrada na urina; 3) Exame de monóxido de carbono no ar exalado para avaliar a quantidade de monóxido de carbono que sai do seu pulmão; 4) medida de pulsação, taxa de oxigênio de seu sangue, ritmo respiratório, pressão arterial, além da avaliação da sua altura e seu peso serão feitos antes e após a sua jornada de trabalho.

Todos estes testes serão realizados com o objetivo de trazer informações para esclarecer se existem alterações no seu organismo durante o período da safra e fora dela, que possam explicar se há riscos de problemas renais e também para ajudar na sugestão de exames médicos para melhor preservar a saúde dos trabalhadores envolvidos no corte de cana.

3 – Os exames que explicamos serão realizados três vezes, antes do início da safra e durante a safra. a) Para **coleta de sangue** será feito uma punção em uma veia do braço, com uma agulha esterilizada e descartável; não existe nenhum risco à sua saúde, exceto uma pequena dor da picada da agulha. Serão retirados 50 mililitros (cerca de 50 grama) de sangue de uma veia de seu braço através de uma seringa descartável. Esta quantidade é muito pequena, não causando nenhum problema para sua saúde, e o seu organismo repõe esta quantidade rapidamente; b) Para **exame de urina** você deverá urinar em um pote de plástico que lhe será fornecido; c) Para **avaliar o monóxido de carbono no ar exalado** será pedido que você encha o peito de ar e segure sua respiração por volta de 15 segundos em seguida deverá sobrar lentamente todo o ar em um aparelho que medirá o monóxido de carbono que sairá do seu pulmão; **d)** Para **medir seu pulso e oxigenação de seu sangue** será colocado um aparelho em seu dedo chamado de oxímetro; f) Para **medir sua pressão arterial** será medida utilizando um aparelho de chamado de esfigmomanômetro g) Para **medir seu peso e sua altura** será utilizada uma balança de alta precisão e um estadiômetro para avaliar sua altura.

4 – Não são esperados quaisquer tipos de desconforto durante as coletas além da punção venosa para retirada do sangue que pode ser incômoda para pessoas com fobia de agulhas

5 – Os dados da pesquisa poderão ajudar a esclarecer se os problemas de doenças e de mortes que tem sido relatados estão relacionados com alterações no sistema renal e se estas alterações tem alguma relação com o trabalho no corte de cana. Estes dados poderão ser utilizados pela população, pela prefeitura, pelos governos estadual e federal para auxiliar na proteção à saúde, através de medidas que reduzam a poluição e de um melhor controle da saúde nos serviços de saúde da cidade.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;

7 – Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Ubiratan de Paula Santos que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 44, andar AB, CEP: 05403-900, São Paulo, Capital, Telefones(s) 11-30695034 e 30695191. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

9 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas.

12 – Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Anexo 3. Questionário e avaliações realizadas no período da pré-safra

QUESTIONÁRIO APLICADO NO PERÍODO DA PRÉ-SAFRA

Número de Identificação:

I. Informações Gerais

1. Nome:.....

Cidade/Estado de origem.....

Na sua casa usa fogão a lenha? Não 0 (), Sim ()

2. Idade:.....Sexo: Masculino (), Feminino ()

Cor:.....Raça:.....

3. Endereço onde você mora atualmente (Rua/Av e Bairro):

.....

II. Responda as Perguntas

4. Você: nunca fumou 0 (), fuma atualmente 1 (), já fumou, mas parou de fumar 2 ()

5. Se você fuma, quantos cigarros/dia:.....e começou a fumar com que idade:.....anos

6. Se for ex-fumante, parou há quanto tempo?.....e fumava quantos cigarros/dia:..... e fumou durante quanto tempo?.....

7. Você mora com pessoas que fumam?

Não 0 () Sim 1 (), se sim, quantas?..... e há quanto tempo?.....

8. Tempo de trabalho no corte de cana

Primeiro ano que iniciou corte de cana.....

Quantos anos ou safra, com atual, corta cana:.....

Média da jornada de trabalho:.....

Jornada de trabalho no dia do exame:.....

Quantidade de cana que corta por dia (média):.....

9. Possui câimbras frequentes? Não 0 () Sim 1 (), se sim, quantas vezes nesta semana?.....
10. Teve algum trauma/pancada nos últimos 5 dias? Não 0 () Sim 1 (), se sim quantas vezes () e em qual região do corpo?.....
11. Bebe quantos litros de água por dia?.....
12. E hoje, bebeu quantos litros de água?.....
13. Faz uso de bebida alcoólica? Não 0 (), Sim 1 (), se sim quantos dias por semana?.....
14. Possui alguma doença? Não 0 (), Sim 1 (), qual(is):.....
.....
15. Faz uso de medicamentos para inflamação ou dor, com frequência? Não 0 (), SIM 1 (), se sim, quais?.....
16. Fez uso de medicação hoje? Não 0 (), Sim (), se sim qual.....
.....

EXAME FÍSICO

Número de Identificação:

Nome:.....

Pré-safra

Data: ____/____/____

Manhã - pré-turno:.....horas

PA: _____mmHg FC: __bpm FR: ____rpm SaO₂: __%

COexppm: _____ COHb%: _____

Altura _____ cm Peso _____ Kg

Anexo 4. Questionário e avaliações realizadas no período da safra

QUESTIONÁRIO APLICADO NO PERÍODO DA SAFRA

Número de Identificação:

I. Informações Gerais

1. Nome:.....

Cidade/Estado de origem.....

Na sua casa usa fogão a lenha? Não 0 (), Sim ()

2. Idade:.....Sexo: Masculino (), Feminino ()

Cor:.....Raça:.....

3. Endereço onde você mora atualmente (Cidade, Rua/Av e Bairro):

.....

Telefone para contato ().....

II. Responda as Perguntas

4. Você: nunca fumou 0 (), fuma atualmente 1 (), já fumou, mas parou de fumar 2 ()

5. Se você fuma, quantos cigarros/dia:.....e começou a fumar com que idade:.....anos

6. Se for ex-fumante, parou há quanto tempo?.....e fumava quantos cigarros/dia:..... e fumou durante quanto tempo?.....

7. Você mora com pessoas que fumam?

Não 0 () Sim 1 (), se sim, quantas?..... e há quanto tempo?.....

8. Tempo de trabalho no corte de cana

Função atual.....

- Função que já exerceu anteriormente.....
- Primeiro ano que iniciou corte de cana.....
- Quantos anos ou safra, com atual, corta cana:.....
- Média da jornada de trabalho (horas):.....
- Dias da semanas trabalhados: () seg () ter () qua () qui () sex () sab () dom
- Jornada de trabalho no dia do exame:.....
- Quantidade de cana que corta por dia (média média em metros lineares ou toneladas):.....
9. Possui câimbras frequentes? Não 0 () Sim 1 (), se sim, quantas vezes nesta semana?.....
10. Teve algum trauma/pancada nos últimos 5 dias? Não 0 () Sim 1 (), se sim quantas vezes (.....) e em qual região do corpo?.....
11. Bebe quantos litros de água por dia?.....
12. E hoje, bebeu quantos litros de água?.....
13. Faz uso de isotônico? Não 0 (), Sim 1 (), se sim qual a quantidade por dia?.....
14. Faz uso de bebida alcoólica? Não 0 (), Sim 1 (), se sim quantos dias por semana?..... e quanto bebe em média (descreva).....
.....
.....
15. Possui alguma doença?.Não 0(), Sim 1(), qual(is):.....
16. Histórico de doença na família? Não 0(), Sim 1(), qual(is):.....
.....
17. Faz uso de medicamentos para inflamação ou dor, com frequência? Não 0 (), SIM 1(), se sim, quais?.....
18. Fez uso de medicação hoje? Não 0 (), Sim (), se sim qual.....
.....

FICHA DE REGISTRO DE DADOS DE EXAME CLÍNICO**EXAME FÍSICO**

Número de Identificação:

Nome:.....

Julho/2014

Data: ____/____/____

MANHÃ - PRÉ-TURNO:.....horasPA: _____mmHg FC: ___bpm FR: ___ipm SaO₂: ___%

COppm: _____ Peso:.....

Temperatura: _____ Umidade: _____

Registro de acidente ou doença ocorridos no período anterior à esta avaliação.....

.....

FINAL DO TURNO:.....horasPA: _____mmHg FC: ___bpm FR: ___ipm SaO₂: ___%

COppm: _____

Altura..... Peso _____

Registro de acidente ou doença ocorridos no período anterior à esta avaliação.....

Referências Bibliográficas

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) 2016. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/GB/visualize>.
2. União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA). Área cultivada com cana-de-açúcar. 2015. Available from: <http://www.unicadata.com.br/historico-de-area-ibge.php?idMn=33&tipoHistorico=5>.
3. Uriarte M, Yackulic CB, Cooper T, Flynn D, Cortes M, Crk T, et al. Expansion of sugarcane production in São Paulo, Brazil: Implications for fire occurrence and respiratory health. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2009;132(1):48-56.
4. União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA). Histórico de produção e moagem por safra. 2017. Available from: <http://www.unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4>.
5. Arbex MA, Bohm GM, Saldiva PH, Conceicao GM, Pope AC, 3rd, Braga AL. Assessment of the effects of sugar cane plantation burning on daily counts of inhalation therapy. *Journal of the Air & Waste Management Association* (1995). 2000;50(10):1745-9.
6. Mazzoli-Rocha F, Magalhaes CB, Malm O, Saldiva PH, Zin WA, Faffe DS. Comparative respiratory toxicity of particles produced by traffic and sugar cane burning. *Environ Res*. 2008;108(1):35-41.
7. União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA). Protocolo Agroambiental do Setor Sucroalcooleiro. 2009. Available from: <http://www.unica.com.br/protocolo-agroambiental/>.
8. Ribeiro H, Ficarelli TRdA. Queimadas nos canaviais e perspectivas dos cortadores de cana-de-açúcar em Macatuba, São Paulo. *Saúde e Sociedade*. 2010;19:48-63.
9. Rocha FLR, Marziale MHP, Hong O-S. Work and health conditions of sugar cane workers in Brazil. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*. 2010;44:978-83.
10. Crowe J, Nilsson M, Kjellstrom T, Wesseling C. Heat-related symptoms in sugarcane harvesters. *American journal of industrial medicine*. 2015;58(5):541-8.
11. Wesseling C, van Wendel de Joode B, Crowe J, Rittner R, Sanati NA, Hogstedt C, et al. Mesoamerican nephropathy: geographical distribution and time trends of chronic kidney disease mortality between 1970 and 2012 in Costa Rica. *Occupational and environmental medicine*. 2015;72(10):714-21.
12. Vilela RAdG, Laat EFd, Luz VG, Silva AJNd, Takahashi MAC. Pressão por produção e produção de riscos: a maratona perigosa do corte manual da cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*. 2015;40:30-48.
13. Barbosa CM, Terra-Filho M, de Albuquerque AL, Di Giorgi D, Grupi C, Negro CE, et al. Burnt sugarcane harvesting - cardiovascular effects on a group of healthy workers, Brazil. *PloS one*. 2012;7(9):e46142.
14. Crowe J, Wesseling C, Solano BR, Umana MP, Ramirez AR, Kjellstrom T, et al. Heat exposure in sugarcane harvesters in Costa Rica. *American journal of industrial medicine*. 2013;56(10):1157-64.
15. Bitencourt DP, Ruas ÁC, Maia PA. Análise da contribuição das variáveis meteorológicas no estresse térmico associada à morte de cortadores de cana-de-açúcar. *Cadernos de Saúde Pública*. 2012;28:65-74.

16. Bodin T, Garcia-Trabanino R, Weiss I, Jarquin E, Glaser J, Jakobsson K, et al. Intervention to reduce heat stress and improve efficiency among sugarcane workers in El Salvador: Phase 1. *Occupational and environmental medicine*. 2016;73(6):409-16.
17. Crowe J, Moya-Bonilla JM, Roman-Solano B, Robles-Ramirez A. Heat exposure in sugarcane workers in Costa Rica during the non-harvest season. *Global health action*. 2010;3.
18. Prado GF, Zanetta DM, Arbex MA, Braga AL, Pereira LA, de Marchi MR, et al. Burnt sugarcane harvesting: particulate matter exposure and the effects on lung function, oxidative stress, and urinary 1-hydroxypyrene. *The Science of the total environment*. 2012;437:200-8.
19. Goto DM, Lanca M, Obuti CA, Galvao Barbosa CM, Nascimento Saldiva PH, Trevisan Zanetta DM, et al. Effects of biomass burning on nasal mucociliary clearance and mucus properties after sugarcane harvesting. *Environmental research*. 2011;111(5):664-9.
20. Ferreira-Ceccato AD, Ramos EM, de Carvalho LC, Jr., Xavier RF, Teixeira MF, Raymundo-Pereira PA, et al. Short-term effects of air pollution from biomass burning in mucociliary clearance of Brazilian sugarcane cutters. *Respiratory medicine*. 2011;105(11):1766-8.
21. Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;923:68-77.
22. Wong AP, Keating A, Waddell TK. Airway regeneration: the role of the Clara cell secretory protein and the cells that express it. *Cytherapy*. 2009;11(6):676-87.
23. Broeckaert F, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): characteristics and perspectives as lung peripheral biomarker. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2000;30(4):469-75.
24. Lakind JS, Holgate ST, Ownby DR, Mansur AH, Helms PJ, Pyatt D, et al. A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*. 2007;12(5):445-67.
25. Andersson L, Lundberg PA, Barregard L. Methodological aspects on measurement of Clara cell protein in urine as a biomarker for airway toxicity, compared with serum levels. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2007;27(1):60-6.
26. Timonen KL, Hoek G, Heinrich J, Bernard A, Brunekreef B, de Hartog J, et al. Daily variation in fine and ultrafine particulate air pollution and urinary concentrations of lung Clara cell protein CC16. *Occupational and environmental medicine*. 2004;61(11):908-14.
27. Zhao L, Song Y, Pu J, Guo J, Wang Y, Chen Z, et al. Effects of repeated Cr(VI) intratracheal instillation on club (Clara) cells and activation of nuclear factor-kappa B pathway via oxidative stress. *Toxicology letters*. 2014;231(1):72-81.
28. Bernard AM, Gonzalez-Lorenzo JM, Siles E, Trujillano G, Lauwerys R. Early decrease of serum Clara cell protein in silica-exposed workers. *The European respiratory journal*. 1994;7(11):1932-7.
29. Bernard AM, Roels HA, Buchet JP, Lauwerys RR. Serum Clara cell protein: an indicator of bronchial cell dysfunction caused by tobacco smoking. *Environmental research*. 1994;66(1):96-104.
30. Robin M, Dong P, Hermans C, Bernard A, Bersten AD, Doyle IR. Serum levels of CC16, SP-A and SP-B reflect tobacco-smoke exposure in asymptomatic subjects. *The European respiratory journal*. 2002;20(5):1152-61.

31. Evans MJ, Johnson LV, Stephens RJ, Freeman G. Renewal of the terminal bronchiolar epithelium in the rat following exposure to NO₂ or O₃. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1976;35(3):246-57.
32. Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, Shibuya Y, Morita Y, Hirasawa M, et al. Serum and BAL Clara cell 10 kDa protein (CC10) levels and CC10-positive bronchiolar cells are decreased in smokers. *The European respiratory journal*. 1997;10(5):1108-14.
33. Provost EB, Chaumont A, Kicinski M, Cox B, Fierens F, Bernard A, et al. Serum levels of club cell secretory protein (Clara) and short- and long-term exposure to particulate air pollution in adolescents. *Environment international*. 2014;68:66-70.
34. Madsen C, Durand KL, Nafstad P, Schwarze PE, Ronningen KS, Haheim LL. Associations between environmental exposures and serum concentrations of Clara cell protein among elderly men in Oslo, Norway. *Environmental research*. 2008;108(3):354-60.
35. Wang C, Cai J, Chen R, Shi J, Yang C, Li H, et al. Personal exposure to fine particulate matter, lung function and serum club cell secretory protein (Clara). *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2017;225:450-5.
36. Broeckaert F, Arsalane K, Hermans C, Bergamaschi E, Brustolin A, Mutti A, et al. Serum clara cell protein: a sensitive biomarker of increased lung epithelium permeability caused by ambient ozone. *Environmental health perspectives*. 2000;108(6):533-7.
37. Blomberg A, Mudway I, Svensson M, Hagenbjork-Gustafsson A, Thomasson L, Helleday R, et al. Clara cell protein as a biomarker for ozone-induced lung injury in humans. *The European respiratory journal*. 2003;22(6):883-8.
38. Gomes EC, Stone V, Florida-James G. Impact of heat and pollution on oxidative stress and CC16 secretion after 8 km run. *European journal of applied physiology*. 2011;111(9):2089-97.
39. Tufvesson E, Svensson H, Ankerst J, Bjermer L. Increase of club cell (Clara) protein (CC16) in plasma and urine after exercise challenge in asthmatics and healthy controls, and correlations to exhaled breath temperature and exhaled nitric oxide. *Respiratory medicine*. 2013;107(11):1675-81.
40. Hermans C, Knoops B, Wiedig M, Arsalane K, Toubeau G, Falmagne P, et al. Clara cell protein as a marker of Clara cell damage and bronchoalveolar blood barrier permeability. *The European respiratory journal*. 1999;13(5):1014-21.
41. Peraza S, Wesseling C, Aragon A, Leiva R, Garcia-Trabanino RA, Torres C, et al. Decreased kidney function among agricultural workers in El Salvador. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2012;59(4):531-40.
42. Trabanino RG, Aguilar R, Silva CR, Mercado MO, Merino RL. [End-stage renal disease among patients in a referral hospital in El Salvador]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*. 2002;12(3):202-6.
43. Johnson RJ, Sanchez-Lozada LG. Chronic kidney disease: Mesoamerican nephropathy--new clues to the cause. *Nature reviews Nephrology*. 2013;9(10):560-1.
44. Correa-Rotter R, Wesseling C, Johnson RJ. CKD of unknown origin in Central America: the case for a Mesoamerican nephropathy. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2014;63(3):506-20.
45. Murray KO, Fischer RS, Chavarria D, Duttmann C, Garcia MN, Gorchakov R, et al. Mesoamerican nephropathy: a neglected tropical disease with an infectious etiology? *Microbes and infection*. 2015;17(10):671-5.

46. Garcia-Trabanino R, Jarquin E, Wesseling C, Johnson RJ, Gonzalez-Quiroz M, Weiss I, et al. Heat stress, dehydration, and kidney function in sugarcane cutters in El Salvador--A cross-shift study of workers at risk of Mesoamerican nephropathy. *Environmental research*. 2015;142:746-55.
47. Riefkohl A, Ramirez-Rubio O, Laws RL, McClean MD, Weiner DE, Kaufman JS, et al. Leptospira seropositivity as a risk factor for Mesoamerican Nephropathy. *International journal of occupational and environmental health*. 2017:1-10.
48. Wesseling C, Aragon A, Gonzalez M, Weiss I, Glaser J, Rivard CJ, et al. Heat stress, hydration and uric acid: a cross-sectional study in workers of three occupations in a hotspot of Mesoamerican nephropathy in Nicaragua. *BMJ open*. 2016;6(12):e011034.
49. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International Supplements*. 2012;2(1):1-138.
50. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive care medicine*. 2004;30(1):33-7.
51. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2008;48(1):463-93.
52. Teo SH, Endre ZH. Biomarkers in acute kidney injury (AKI). *Best practice & research Clinical anaesthesiology*. 2017;31(3):331-44.
53. Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2017;55(8):1074-89.
54. Charlton JR, Portilla D, Okusa MD. A basic science view of acute kidney injury biomarkers. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2014;29(7):1301-11.
55. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Molecular cell*. 2002;10(5):1033-43.
56. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*. 2004;432(7019):917-21.
57. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(3):610-21.
58. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2003;14(10):2534-43.
59. Zang X, Zheng F, Hong HJ, Jiang Y, Song Y, Xia Y. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin protects renal tubular epithelial cells in hypoxia-reperfusion by reducing apoptosis. *International urology and nephrology*. 2014;46(8):1673-9.
60. Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology (Carlton, Vic)*. 2010;15(4):419-28.
61. Jiang Y, Beller DI, Frenzl G, Graves DT. Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1992;148(8):2423-8.

62. Viedt C, Dechend R, Fei J, Hansch GM, Kreuzer J, Orth SR. MCP-1 induces inflammatory activation of human tubular epithelial cells: involvement of the transcription factors, nuclear factor-kappaB and activating protein-1. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2002;13(6):1534-47.
63. Rice JC, Spence JS, Yetman DL, Safirstein RL. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with monocyte infiltration in the post-ischemic kidney. *Renal failure.* 2002;24(6):703-23.
64. Safirstein R, Megyesi J, Saggi SJ, Price PM, Poon M, Rollins BJ, et al. Expression of cytokine-like genes JE and KC is increased during renal ischemia. *The American journal of physiology.* 1991;261(6 Pt 2):F1095-101.
65. Nishihara K, Masuda S, Shinke H, Ozawa A, Ichimura T, Yonezawa A, et al. Urinary chemokine (C-C motif) ligand 2 (monocyte chemoattractant protein-1) as a tubular injury marker for early detection of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biochemical pharmacology.* 2013;85(4):570-82.
66. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* 2009;24(11):3265-8.
67. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *The Journal of biological chemistry.* 1998;273(7):4135-42.
68. Huo W, Zhang K, Nie Z, Li Q, Jin F. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel kidney-specific injury molecule playing potential double-edged functions in kidney injury. *Transplantation reviews (Orlando, Fla).* 2010;24(3):143-6.
69. Amin RP, Vickers AE, Sistare F, Thompson KL, Roman RJ, Lawton M, et al. Identification of putative gene based markers of renal toxicity. *Environmental health perspectives.* 2004;112(4):465-79.
70. Prozialeck WC, Vaidya VS, Liu J, Waalkes MP, Edwards JR, Lamar PC, et al. Kidney injury molecule-1 is an early biomarker of cadmium nephrotoxicity. *Kidney international.* 2007;72(8):985-93.
71. Takashi M, Zhu Y, Miyake K, Kato K. Urinary 28-kD calbindin-D as a new marker for damage to distal renal tubules caused by cisplatin-based chemotherapy. *Urologia internationalis.* 1996;56(3):174-9.
72. Hoffmann D, Fuchs TC, Henzler T, Matheis KA, Herget T, Dekant W, et al. Evaluation of a urinary kidney biomarker panel in rat models of acute and subchronic nephrotoxicity. *Toxicology.* 2010;277(1-3):49-58.
73. Arulkumaran N, Sixma ML, Jentho E, Ceravola E, Bass PS, Kellum JA, et al. Sequential Analysis of a Panel of Biomarkers and Pathologic Findings in a Resuscitated Rat Model of Sepsis and Recovery. *Critical care medicine.* 2017;45(8):e821-e30.
74. Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, Narita I, Arakawa M, Gejyo F. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney international.* 2001;60(5):1645-57.
75. Irita J, Okura T, Jotoku M, Nagao T, Enomoto D, Kurata M, et al. Osteopontin deficiency protects against aldosterone-induced inflammation, oxidative stress, and interstitial fibrosis in the kidney. *American journal of physiology Renal physiology.* 2011;301(4):F833-44.
76. Lyle AN, Joseph G, Fan AE, Weiss D, Landazuri N, Taylor WR. Reactive oxygen species regulate osteopontin expression in a murine model of postischemic

- neovascularization. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2012;32(6):1383-91.
77. Cen C, Aziz M, Yang WL, Nicastro JM, Coppa GF, Wang P. Osteopontin Blockade Attenuates Renal Injury After Ischemia Reperfusion by Inhibiting NK Cell Infiltration. *Shock* (Augusta, Ga). 2017;47(1):52-60.
78. Kazanekki CC, Uzwiak DJ, Denhardt DT. Control of osteopontin signaling and function by post-translational phosphorylation and protein folding. *Journal of cellular biochemistry*. 2007;102(4):912-24.
79. Wolak T, Kim H, Ren Y, Kim J, Vaziri ND, Nicholas SB. Osteopontin modulates angiotensin II-induced inflammation, oxidative stress, and fibrosis of the kidney. *Kidney international*. 2009;76(1):32-43.
80. Gauer S, Sichler O, Obermuller N, Holzmann Y, Kiss E, Sobkowiak E, et al. IL-18 is expressed in the intercalated cell of human kidney. *Kidney international*. 2007;72(9):1081-7.
81. Franke EI, Vanderbrink BA, Hile KL, Zhang H, Cain A, Matsui F, et al. Renal IL-18 production is macrophage independent during obstructive injury. *PloS one*. 2012;7(10):e47417.
82. Lochner M, Forster I. Anti-interleukin-18 therapy in murine models of inflammatory bowel disease. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*. 2002;70(3):164-9.
83. Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2004;43(3):405-14.
84. Gonzalez F, Vincent F. Biomarkers for acute kidney injury in critically ill patients. *Minerva anesthesiologica*. 2012;78(12):1394-403.
85. Wu H, Craft ML, Wang P, Wyburn KR, Chen G, Ma J, et al. IL-18 contributes to renal damage after ischemia-reperfusion. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2008;19(12):2331-41.
86. Yu Y, Jin H, Holder D, Ozer JS, Villarreal S, Shughrue P, et al. Urinary biomarkers trefoil factor 3 and albumin enable early detection of kidney tubular injury. *Nature biotechnology*. 2010;28(5):470-7.
87. Wadey RM, Pinches MG, Jones HB, Riccardi D, Price SA. Tissue expression and correlation of a panel of urinary biomarkers following cisplatin-induced kidney injury. *Toxicologic pathology*. 2014;42(3):591-602.
88. Endre ZH. Recovery from acute kidney injury: the role of biomarkers. *Nephron Clinical practice*. 2014;127(1-4):101-5.
89. Astor BC, Kottgen A, Hwang SJ, Bhavsar N, Fox CS, Coresh J. Trefoil factor 3 predicts incident chronic kidney disease: a case-control study nested within the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *American journal of nephrology*. 2011;34(4):291-7.
90. Shlipak MG, Day EC. Biomarkers for incident CKD: a new framework for interpreting the literature. *Nature reviews Nephrology*. 2013;9(8):478-83.
91. Du TY, Luo HM, Qin HC, Wang F, Wang Q, Xiang Y, et al. Circulating serum trefoil factor 3 (TFF3) is dramatically increased in chronic kidney disease. *PloS one*. 2013;8(11):e80271.
92. Shen Y, Cheng X, Ying M, Chang HT, Zhang W. Association between serum osmolarity and mortality in patients who are critically ill: a retrospective cohort study. *BMJ open*. 2017;7(5):e015729.

93. Heavens KR, Kenefick RW, Caruso EM, Spitz MG, Cheuvront SN. Validation of equations used to predict plasma osmolality in a healthy adult cohort. *The American journal of clinical nutrition*. 2014;100(5):1252-6.
94. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*. 2009;150(9):604-12.
95. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *The New England journal of medicine*. 2006;354(23):2473-83.
96. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *The New England journal of medicine*. 2012;367(1):20-9.
97. Magacho EJdC, Pereira ÂC, Mansur HN, Bastos MG. Nomograma para a estimação da Taxa de Filtração Glomerular baseado na fórmula CKD-EPI. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 2012;34:313-5.
98. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, et al. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2007;18(10):2749-57.
99. Rocha PN. Hiponatremia: conceitos básicos e abordagem prática. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 2011;33:248-60.
100. Berthoin K, Broeckaert F, Robin M, Haufroid V, De Burbure C, Bernard A. Serum pneumoproteins and biomarkers of exposure to urban air pollution: a cross-sectional comparison of policemen and foresters. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*. 2004;9(4-5):341-52.
101. Li P, Li Y, Zhang J, Yu SF, Tong W, Hu X, et al. Biomarkers for lung epithelium injury in occupational hexavalent chromium-exposed workers. *Journal of occupational and environmental medicine*. 2015;57(4):e45-50.
102. Bernard A, Hermans C, Van Houte G. Transient increase of serum Clara cell protein (CC16) after exposure to smoke. *Occupational and environmental medicine*. 1997;54(1):63-5.
103. Van Miert E, Dumont X, Bernard A. CC16 as a marker of lung epithelial hyperpermeability in an acute model of rats exposed to mainstream cigarette smoke. *Toxicology letters*. 2005;159(2):115-23.
104. St Helen G, Holland NT, Balmes JR, Hall DB, Bernert JT, Vena JE, et al. Utility of urinary Clara cell protein (CC16) to demonstrate increased lung epithelial permeability in non-smokers exposed to outdoor secondhand smoke. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2013;23(2):183-9.
105. Zhu L, Di PY, Wu R, Pinkerton KE, Chen Y. Repression of CC16 by cigarette smoke (CS) exposure. *PloS one*. 2015;10(1):e0116159.
106. Broeckaert F, Arsalane K, Hermans C, Bergamaschi E, Brustolin A, Mutti A, et al. Lung epithelial damage at low concentrations of ambient ozone. *Lancet (London, England)*. 1999;353(9156):900-1.
107. Hall G. *Tratado de fisiologia médica*. 12 edição ed2011.
108. Melin B, Jimenez C, Savourey G, Bittel J, Cottet-Emard JM, Pequignot JM, et al. Effects of hydration state on hormonal and renal responses during moderate exercise in the heat. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1997;76(4):320-7.

109. Paula Santos U, Zanetta DM, Terra-Filho M, Burdmann EA. Burnt sugarcane harvesting is associated with acute renal dysfunction. *Kidney international*. 2015;87(4):792-9.
110. Wesseling C, Aragon A, Gonzalez M, Weiss I, Glaser J, Bobadilla NA, et al. Kidney function in sugarcane cutters in Nicaragua--A longitudinal study of workers at risk of Mesoamerican nephropathy. *Environmental research*. 2016;147:125-32.
111. Baumgartner J, Schauer JJ, Ezzati M, Lu L, Cheng C, Patz JA, et al. Indoor air pollution and blood pressure in adult women living in rural China. *Environmental health perspectives*. 2011;119(10):1390-5.
112. de Paula Santos U, Braga AL, Giorgi DM, Pereira LA, Grupi CJ, Lin CA, et al. Effects of air pollution on blood pressure and heart rate variability: a panel study of vehicular traffic controllers in the city of Sao Paulo, Brazil. *European heart journal*. 2005;26(2):193-200.
113. Fuks K, Moebus S, Hertel S, Viehmann A, Nonnemacher M, Dragano N, et al. Long-term urban particulate air pollution, traffic noise, and arterial blood pressure. *Environmental health perspectives*. 2011;119(12):1706-11.
114. Brook RD, Urch B, Dvonch JT, Bard RL, Speck M, Keeler G, et al. Insights into the mechanisms and mediators of the effects of air pollution exposure on blood pressure and vascular function in healthy humans. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2009;54(3):659-67.
115. Brook RD. Why physicians who treat hypertension should know more about air pollution. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)*. 2007;9(8):629-35.
116. Mills NL, Donaldson K, Hadoke PW, Boon NA, MacNee W, Cassee FR, et al. Adverse cardiovascular effects of air pollution. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine*. 2009;6(1):36-44.
117. Wesseling C, Aragon A, Gonzalez M, Weiss I, Glaser J, Bobadilla NA, et al. Kidney function in sugarcane cutters in Nicaragua - A longitudinal study of workers at risk of Mesoamerican nephropathy. *Environ Res*. 2016;147:125-32.
118. Roncal-Jimenez C, Garcia-Trabanino R, Barregard L, Lanaspá MA, Wesseling C, Harra T, et al. Heat Stress Nephropathy From Exercise-Induced Uric Acid Crystalluria: A Perspective on Mesoamerican Nephropathy. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2016;67(1):20-30.
119. Knochel JP, Dotin LN, Hamburger RJ. Heat stress, exercise, and muscle injury: effects on urate metabolism and renal function. *Annals of internal medicine*. 1974;81(3):321-8.
120. Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM, et al. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *American journal of clinical pathology*. 2002;118(6):856-63.
121. Neviackas JA, Bauer JH. Renal function abnormalities induced by marathon running. *Southern medical journal*. 1981;74(12):1457-60.
122. Ryu ES, Kim MJ, Shin HS, Jang YH, Choi HS, Jo I, et al. Uric acid-induced phenotypic transition of renal tubular cells as a novel mechanism of chronic kidney disease. *American journal of physiology Renal physiology*. 2013;304(5):F471-80.
123. Zhou Y, Fang L, Jiang L, Wen P, Cao H, He W, et al. Uric acid induces renal inflammation via activating tubular NF-kappaB signaling pathway. *PloS one*. 2012;7(6):e39738.
124. Crowe J, Nilsson M, Kjellstrom T, Cerdas M, Johnson R, Wesseling C. 0401 Repeated pre and post-shift urinalyses show kidney dysfunction among Costa Rican

- sugarcane cutters exposed to heat stress. *Occupational and Environmental Medicine*. 2014;71(Suppl 1):A51-A.
125. Laws RL, Brooks DR, Amador JJ, Weiner DE, Kaufman JS, Ramirez-Rubio O, et al. Changes in kidney function among Nicaraguan sugarcane workers. *International journal of occupational and environmental health*. 2015;21(3):241-50.
126. Laws RL, Brooks DR, Amador JJ, Weiner DE, Kaufman JS, Ramirez-Rubio O, et al. Biomarkers of Kidney Injury Among Nicaraguan Sugarcane Workers. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2016;67(2):209-17.
127. Schmidt-Ott KM, Mori K, Kalandadze A, Li JY, Paragas N, Nicholas T, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2006;15(4):442-9.
128. Mori K, Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney international*. 2007;71(10):967-70.
129. Singer E, Marko L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Muller DN, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta physiologica (Oxford, England)*. 2013;207(4):663-72.
130. Stroo I, Claessen N, Teske GJ, Butter LM, Florquin S, Leemans JC. Deficiency for the chemokine monocyte chemoattractant protein-1 aggravates tubular damage after renal ischemia/reperfusion injury. *PloS one*. 2015;10(4):e0123203.
131. Munshi R, Johnson A, Siew ED, Ikizler TA, Ware LB, Wurfel MM, et al. MCP-1 gene activation marks acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2011;22(1):165-75.
132. Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, Blasick TM, Potdar S, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney international*. 2008;73(5):608-14.
133. Bailly V, Zhang Z, Meier W, Cate R, Sanicola M, Bonventre JV. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(42):39739-48.
134. Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *The Journal of clinical investigation*. 2008;118(5):1657-68.
135. Ismail OZ, Zhang X, Wei J, Haig A, Denker BM, Suri RS, et al. Kidney injury molecule-1 protects against Galpha12 activation and tissue damage in renal ischemia-reperfusion injury. *The American journal of pathology*. 2015;185(5):1207-15.
136. George B, Wen X, Mercke N, Gomez M, O'Bryant C, Bowles DW, et al. Profiling of Kidney Injury Biomarkers in Patients Receiving Cisplatin: Time-dependent Changes in the Absence of Clinical Nephrotoxicity. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2017;101(4):510-8.
137. Ophascharoensuk V, Giachelli CM, Gordon K, Hughes J, Pichler R, Brown P, et al. Obstructive uropathy in the mouse: role of osteopontin in interstitial fibrosis and apoptosis. *Kidney international*. 1999;56(2):571-80.
138. Xie Y, Nishi S, Iguchi S, Imai N, Sakatsume M, Saito A, et al. Expression of osteopontin in gentamicin-induced acute tubular necrosis and its recovery process. *Kidney international*. 2001;59(3):959-74.
139. Liu Y, Guo W, Zhang J, Xu C, Yu S, Mao Z, et al. Urinary interleukin 18 for detection of acute kidney injury: a meta-analysis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2013;62(6):1058-67.

140. Hoffmann W. TFF (trefoil factor family) peptides and their potential roles for differentiation processes during airway remodeling. *Current medicinal chemistry*. 2007;14(25):2716-9.
141. Hoffmann W. Trefoil factors TFF (trefoil factor family) peptide-triggered signals promoting mucosal restitution. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2005;62(24):2932-8.
142. O'Seaghdha CM, Hwang SJ, Larson MG, Meigs JB, Vasan RS, Fox CS. Analysis of a urinary biomarker panel for incident kidney disease and clinical outcomes. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2013;24(11):1880-8.
143. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation Supplementum*. 2008;241:89-94.
144. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2009;4(2):337-44.
145. Smith ER, Lee D, Cai MM, Tomlinson LA, Ford ML, McMahon LP, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin may aid prediction of renal decline in patients with non-proteinuric Stages 3 and 4 chronic kidney disease (CKD). *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2013;28(6):1569-79.
146. Bucaloiu ID, Kirchner HL, Norfolk ER, Hartle JE, 2nd, Perkins RM. Increased risk of death and de novo chronic kidney disease following reversible acute kidney injury. *Kidney international*. 2012;81(5):477-85.
147. Kargarfard M, Shariat A, Shaw BS, Shaw I, Lam ET, Kheiri A, et al. Effects of polluted air on cardiovascular and hematological parameters after progressive maximal aerobic exercise. *Lung*. 2015;193(2):275-81.
148. Kargarfard M, Poursafa P, Rezanejad S, Mousavinasab F. Effects of exercise in polluted air on the aerobic power, serum lactate level and cell blood count of active individuals. *International journal of preventive medicine*. 2011;2(3):145-50.
149. Seaton A, Soutar A, Crawford V, Elton R, McNerlan S, Cherrie J, et al. Particulate air pollution and the blood. *Thorax*. 1999;54(11):1027-32.
150. Salvi S, Blomberg A, Rudell B, Kelly F, Sandstrom T, Holgate ST, et al. Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1999;159(3):702-9.
151. Kinsey GR, Okusa MD. Role of leukocytes in the pathogenesis of acute kidney injury. *Critical care (London, England)*. 2012;16(2):214.
152. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney international*. 2004;66(2):480-5.
153. Fischer RSB, Vangala C, Truong L, Mandayam S, Chavarria D, Granera Llanes OM, et al. Early detection of acute tubulointerstitial nephritis in the genesis of Mesoamerican nephropathy. *Kidney international*. 2018;93(3):681-90.
154. Hassanvand MS, Naddafi K, Kashani H, Faridi S, Kunzli N, Nabizadeh R, et al. Short-term effects of particle size fractions on circulating biomarkers of inflammation in a panel of elderly subjects and healthy young adults. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2017;223:695-704.

155. Huttunen K, Siponen T, Salonen I, Yli-Tuomi T, Aurela M, Dufva H, et al. Low-level exposure to ambient particulate matter is associated with systemic inflammation in ischemic heart disease patients. *Environmental research*. 2012;116:44-51.
156. Schwartz J. Air pollution and blood markers of cardiovascular risk. *Environmental health perspectives*. 2001;109 Suppl 3:405-9.
157. Jacobs L, Nawrot TS, de Geus B, Meeusen R, Degraeuwe B, Bernard A, et al. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environmental health : a global access science source*. 2010;9:64.
158. Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA, 3rd, Brook JR, Bhatnagar A, Diez-Roux AV, et al. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2010;121(21):2331-78.
159. Donaldson K, Duffin R, Langrish JP, Miller MR, Mills NL, Poland CA, et al. Nanoparticles and the cardiovascular system: a critical review. *Nanomedicine (London, England)*. 2013;8(3):403-23.
160. Junglee NA, Di Felice U, Dolci A, Fortes MB, Jibani MM, Lemmey AB, et al. Exercising in a hot environment with muscle damage: effects on acute kidney injury biomarkers and kidney function. *American journal of physiology Renal physiology*. 2013;305(6):F813-20.
161. Junglee NA, Lemmey AB, Burton M, Searell C, Jones D, Lawley JS, et al. Does proteinuria-inducing physical activity increase biomarkers of acute kidney injury? *Kidney & blood pressure research*. 2012;36(1):278-89.