

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Exposição humana a xenobióticos ambientais e sua inter-relação com danos oxidativos e a função cardiovascular

NATÁLIA BRUCKER

PORTO ALEGRE, 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Exposição humana a xenobióticos ambientais e sua inter-relação com danos oxidativos e a função cardiovascular

Tese apresentada por **Natália Brucker**
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR
em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Cristina Garcia
Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Gioda

Porto Alegre, 2013

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 22.11.2013, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Diogo André Pilger

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Fernanda Bueno Morrone

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Profa. Dra. Flávia Valladão Thiesen

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Profa. Dra. Helena Cristina da Silva de Assis

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

CIP - Catalogação na Publicação

Brucker, Natália

Exposição humana a xenobióticos ambientais e sua inter-relação com danos oxidativos e a função cardiovascular / Natália Brucker. -- 2013.
197 f.

Orientadora: Solange Cristina Garcia.

Coorientadora: Adriana Gioda.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Poluição. 2. Exposição ocupacional. 3. Inflamação. 4. Estresse oxidativo. I. Garcia, Solange Cristina, orient. II. Gioda, Adriana, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos a CAPES, ao CNPq,
a FAPERGS (PqG-2010), ao INCT (INAIRA),
órgãos que financiaram a bolsa de estudos e
fomento para o desenvolvimento deste trabalho,
ao Instituto de Cardiologia (FUC/IC), PPGCF e
ao Laboratório de Toxicologia (LATOX)
da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me permitir alcançar este objetivo com serenidade e equilíbrio.

À Prof. Dra. Solange pela oportunidade de entrar no mundo da pesquisa e por permanecer nele por tantos anos, contribuindo com a minha formação científica. Obrigada pela confiança.

À Prof. Dra. Adriana Gioda pela co-orientação, apoio e sugestões prestadas.

Ao Dr. Iran Castro e a equipe do Instituto de Cardiologia de Porto Alegre, pela colaboração nos exames cardiovasculares.

À Prof. Dra. Flávia V. Thiesen e seus alunos pela parceria e colaboração.

À Prof. Dra. Nicolle Breusing pela sua atenção e apoio durante o período na Universität Hohenheim.

À Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Porto Alegre (SMAM), em especial aos engenheiros Fabiano e Gláuber, pelo auxílio nas coletas ambientais.

Ao Sintáxi, Associação dos Taxistas de Porto Alegre, pela colaboração na divulgação do projeto.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva pela colaboração, pela recepção no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental e como fonte de inspiração para pesquisas na área de poluição e saúde.

À equipe do Laboratório LADETEC-UFRJ e PUC-Rio pela colaboração, apoio, atenção e prestatividade nas análises ambientais.

Aos colegas e aos amigos do LATOX, que diretamente ou indiretamente auxiliaram nessa pesquisa, Angela, Anelise, Bruna, Caroline, Elisa, Fernanda, Fernando, Gabriela, Guilherme, Juliano, Luciane, Marília, Mariele, Rachel, Rafael, Sabrina, Sarah. Aos novos latoxianos: Bruna, Johanna, Louise, Gustavo, Marcelle, Yuri. Obrigada pela agradável companhia diária, apoio, colaboração, amizade e por proporcionarem os momentos de trabalho mais divertidos.

As minhas queridas amigas, companheiras e colegas Angela e Mariele por ter compartilhado comigo diversos momentos deste trabalho, que sempre me acompanharam nas minhas jornadas, acalmando minhas angústias e compartilhando os seus conhecimentos. Ao caro Guilherme que estava sempre disposto a ajudar, muito obrigada pelo seu auxílio.

A toda minha família meu eterno respeito, carinho e agradecimento, especialmente aos meus pais, Norma e Nicolau, e meu irmão, Nicolás, pelos ensinamentos, oportunidades, amparo, suporte emocional e ao apoio incondicional. Obrigada por sempre acreditarem na minha capacidade e me permitirem concretizar os meus sonhos. Ao meu namorado Tiago pela força, carinho, compreensão e amor.

Aos demais amigos cujo apoio e as palavras de incentivo me ajudaram a conquistar meus objetivos.

Aos professores, Dra. Helena Cristina da Silva de Assis, Dra. Flávia Valladão Thiesen, Dra. Fernanda Bueno Morrone e Dr. Diogo André Pilger por aceitarem o convite para compor a banca examinadora desta tese.

Ao Programa da Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS pela oportunidade de realizar o doutorado.

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao CNPq e FAPERGS pelo suporte financeiro.

Enfim, a todos aqueles que de alguma maneira estiveram presentes e contribuíram para a concretização deste trabalho, compartilhando meus anseios e que me ajudaram a perseverar. Muito obrigada!

RESUMO

Os efeitos adversos à saúde desencadeados pela exposição à poluição atmosférica estão sendo muito discutidos. Estudos têm mostrado associações entre a exposição a poluentes atmosféricos, especialmente ao material particulado, e doenças cardiovasculares. Estas partículas, por sua vez, possuem diversas substâncias tóxicas adsorvidas, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e metais. O metabólito urinário 1-hidroxipireno tem sido utilizado como um biomarcador para avaliar a exposição aos HPAs presentes no ambiente urbano originados pela emissão veicular. Neste trabalho, foi avaliada a exposição ocupacional aos xenobióticos ambientais e sua inter-relação com a inflamação/aterosclerose e danos oxidativos. Os grupos de estudo deste trabalho foram constituídos por taxistas da cidade de Porto Alegre e indivíduos com atividades administrativas (controles). Neste sentido, a exposição ocupacional aos poluentes ambientais foi avaliada através da quantificação dos biomarcadores de exposição e efeito. Além disso, foram quantificados os níveis de Hcy, ox-LDL e ox-LDL-Ab e a medida da espessura das camadas íntima e média das carótidas (EIMC) pelo exame de ultrassom. Adicionalmente, metais foram quantificados tanto no material particulado como no sangue dos participantes deste estudo. Em relação ao material particulado 2,5 μm foi observada uma concentração média de $12.4 \pm 6.9 \mu\text{g m}^{-3}$. No capítulo I, verificou-se que os níveis de 1-hidroxipireno estavam aumentados nos taxistas em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). Os mediadores inflamatórios, a peroxidação lipídica, a oxidação de proteínas, bem como os níveis de Hcy, ox-LDL e ox-LDL-Ab também estavam aumentados ($p < 0,05$) e as atividades das enzimas catalase, glutathione peroxidase e glutathione S-transferase estavam diminuídas nos taxistas quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). O 1-hidroxipireno foi positivamente associado com os biomarcadores inflamatórios (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) e negativamente associado com as enzimas antioxidantes (catalase e glutathione S-transferase) ($p < 0,05$). No capítulo II, os resultados demonstraram que os taxistas com comorbidades apresentaram maiores níveis de EIMC em comparação aos taxistas sem comorbidades, porém considerando apenas os taxistas sem comorbidades, 15% apresentaram EIMC acima dos valores de referência. Além disso, observou-se associações positivas entre os níveis de 1-hidroxipireno com Hcy e EIMC ($p < 0,05$). No capítulo III, foi avaliado os níveis

sanguíneos dos metais tóxicos e essenciais, bem como sua potencial influência sobre o processo inflamatório, status oxidativo e a função renal. Verificou-se que as concentrações sanguíneas de Hg, As, Pb e Cd estavam aumentadas, enquanto que os níveis de Se, Cu e Zn estavam diminuídos nos taxistas quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). Adicionalmente, os níveis de Hg, As e Pb apresentaram associações positivas com as citocinas, Hcy e com o tempo de exposição ocupacional e negativamente com a glutathione peroxidase. Em conjunto, os dados desta tese indicam que os taxistas expostos ocupacionalmente aos poluentes ambientais apresentam elevados níveis de mediadores inflamatórios, danos oxidativos lipídico e proteico, diminuição das enzimas antioxidantes e alteração nos níveis de Hcy, ox-LDL e ox-LDL-Ab. Os resultados indicam que os taxistas apresentam uma maior exposição aos HPAs, comparados aos controles, sendo que esta exposição foi associada diretamente com a inflamação e aterosclerose. Os níveis de Hg, As e Pb também foram associados com inflamação e aterosclerose, porém outras fontes de exposição ambiental a estes xenobióticos precisam ser investigadas. Os taxistas avaliados estão mais propensos a apresentar doenças crônicas, como aterosclerose, relacionadas as múltiplas interações da exposição ocupacional e ambiental à poluição atmosférica. Diante dos resultados, este trabalho demonstrou o papel da poluição contribuindo com a inflamação/aterosclerose que representam importantes preditores para eventos cardiovasculares.

Palavras-chave: exposição ocupacional; 1-hidroxipireno; inflamação; estresse oxidativo; espessura íntima-média carotídea; metais.

ABSTRACT

Human exposure to environmental xenobiotics and its interrelation with oxidative damages and cardiovascular function

The adverse effects in human health caused by the exposure to air pollutants have been receiving much discussion. Studies have shown an association between exposure to environmental pollutants, especially to airborne particulate matter, and cardiovascular events. These particles contain various chemical compounds adsorbed to their surfaces, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and metals. Urinary metabolite 1-hydroxypyrene is a biomarker used to assess exposure to PAHs in the urban environment generated by vehicular emission. The present study aimed to evaluate the occupational exposure to environmental xenobiotics and its relationship with inflammation/atherosclerosis and oxidative damage. The study population was comprised of taxi drivers and office workers (controls) resident in the city of Porto Alegre. The occupational exposure to environmental pollutants was assessed through the measurement of biomarkers of exposure and effect. In addition, we also analyzed the levels of Hcy, ox-LDL and ox-LDL-Ab and the measurement of carotid intima-media thickness (CIMT) by ultrasound imaging. Additionally, metals were measured in particulate matter and blood samples. In relation to the 2.5 μm particulate matter ($\text{PM}_{2.5}$), we found a mean concentration of $12.4 \pm 6.9 \mu\text{g m}^{-3}$. In the first chapter, we demonstrated that 1-hydroxypyrene levels were increased in taxi drivers compared to the control group ($p < 0.05$). The inflammatory mediators, lipid peroxidation, protein oxidation as well as Hcy, ox-LDL and ox-LDL-Ab levels were also increased ($p < 0.05$) and catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities were decreased in taxi drivers ($p < 0.05$). 1-Hydroxypyrene levels were positively associated to inflammatory biomarkers (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) and were negatively associated to antioxidants enzymes (catalase and glutathione S-transferase) ($p < 0.05$). In the chapter II, our results showed that taxi drivers with co-morbidities had higher CIMT levels compared to taxi drivers without co-morbidities; however, considering only taxi drivers without co-morbidities, 15% showed CIMT above the reference values. Moreover, we found that 1-hydroxypyrene levels were positively associated to Hcy and CIMT ($p < 0.05$). In chapter III, we evaluated toxic and essential blood metals and their potential

influence on the inflammatory process, oxidative status and renal function. We observed that the levels of Hg, As Pb and Cd in blood were increased and Se, Cu and Zn levels were diminished in taxi drivers compared to the control group ($p < 0.05$). Additionally, Hg, As and Pb levels showed positive associations to cytokines, Hcy and years of work, and negative associations to glutathione peroxidase. Taken together, all data from this thesis indicate that taxi drivers occupationally exposed to environmental pollutants showed elevation of inflammatory mediators, lipid and protein oxidative damages, decreased antioxidant enzymes and enhanced Hcy, ox-LDL and ox-LDL-Ab levels. PAH exposure was higher in taxi drivers compared to controls, and was directly associated to inflammation and atherosclerosis. Hg, As and Pb levels were also associated to inflammation and atherosclerosis, but other sources of environmental exposure to these xenobiotics need to be investigated. Taxi drivers were more susceptible to the development of chronic diseases, such as atherosclerosis, which were related to the multiple interactions of environmental and occupational exposure to air pollution. In summary, this study demonstrated the role of air pollution in contributing to the induction of inflammation/atherosclerosis in taxi drivers, representing important predictors for cardiovascular events.

Keywords: occupational exposure; 1-hydroxypyrene; inflammation; oxidative stress; intima-media thickness; metals.

LISTA DE FIGURAS

PARTE I

Figura 1	- Estrutura química do Benzo[a]pireno.....	28
Figura 2	- Monitoramento ambiental e biomonitoramento.	33
Figura 3	- Principais vias biológicas pelas quais o material particulado pode agir causando efeitos adversos no sistema cardiovascular.....	39
Figura 4	- Esquema representativo do sistema antioxidante enzimático.....	44
Figura 5	- Vista lateral identificando a artéria carótida comum. Imagens de ultrassonografia da artéria carótida com a identificação das regiões proximal e distal e das camadas arteriais.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

BaP	- Benzo[a]pireno
CAT	- Catalase
COHb	- Carboxihemoglobina
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
CYP-450	- Citocromo P-450
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
DTNB	- 5,5'-Dithio-Bis(2-Nitrobenzoic acid)
EDTA	- Ethylene Diamine Tetracetic Acid
EIMC	- Espessura das camadas íntima e média das carótidas
ELISA	- Enzyme linked immunosorbent assay
EPA	- Agência de Proteção Ambiental
EPTC	- Empresa Pública de Transporte e Circulação
ERNS	- Espécies Reativas de Nitrogênio
EROS	- Espécies Reativas de Oxigênio
GC-MS	- Cromatografia gasosa com espectrometria de massa
GR	- Glutathione Redutase
GSH	- Glutathione Reduzida
GSH-Px	- Glutathione Peroxidase
GSSG	- Glutathione Oxidada
GST	- Glutathione Transferase
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-1 β	- Interleucina 1-beta
IL-6	- Interleucina 6
IL-10	- Interleucina 10
IMC	- Índice de Massa Corpórea
Hcy	- Homocisteína
HDL	- Lipoproteína de alta densidade
HPA	- Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HPLC	- High Performance Liquid Chromatography
Hs-CRP	- Proteína C reativa
IARC	- International Agency for Research on Cancer
INF- γ	- Interferon-gama

LDL	- Lipoproteína de baixa densidade
Ox-LDL	- LDL oxidada
Ox-LDL-Ab	- Anticorpos contra LDL oxidada
MDA	- Malondialdeído
MP	- Material Particulado
MP _{2,5}	- Material particulado 2,5 µm
MP ₁₀	- Material particulado 10 µm
NADPH	- Nicotinamida Adenina Dinucleotídio
NAG	- N-acetil -B-D-glucosaminidase
1-OHP	- 1-Hidroxi pireno
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PON-1	- Paraoxonase
ROS	- Reactive Oxygen Species
SEM	- Standard Error Medium
SOD	- Superóxido Dismutase
TNF-α	- Fator de necrose tumoral
TBA	- Thiobarbituric Acid
WHO	- World Health Organization

SUMÁRIO

PARTE I	21
INTRODUÇÃO	23
1. Poluição atmosférica e saúde	25
2. Principais poluentes atmosféricos	27
3. Poluição atmosférica e exposição ocupacional	31
3.1. Monitoramento ambiental	32
3.2. Biomonitoramento	34
4. Caracterização da área do estudo	36
5. Fisiopatologia envolvida em ações sistêmicas da exposição humana à poluição atmosférica	37
6. Doenças cardiovasculares	41
7. Estresse oxidativo, inflamação e aterosclerose	42
OBJETIVOS	49
1. Objetivo geral	51
2. Objetivos específicos	51
PARTE II	53
CAPÍTULO I	55
Biomarkers of occupational exposure to air pollution, inflammation and oxidative damage in taxi drivers.	
CAPÍTULO II	67
Atherosclerotic process in taxi drivers occupationally exposed to air pollution and comorbidities	
CAPÍTULO III	107
Relationship between blood metals and inflammation in taxi drivers	
PARTE III	135
DISCUSSÃO	137
CONCLUSÃO	155
PERPECTIVAS	159
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163
ANEXOS	189
Anexo I	191

Comprovante de aprovação do projeto no Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).	
Anexo II.....	192
Comprovante de aprovação do projeto no Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Cardiologia (FUC/IC).	
Anexo III.....	193
Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos participantes do estudo.	
Anexo IV.....	195
Questionário aplicado aos participantes do estudo.	

APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente tese foi redigida na forma de encarte de publicações e está organizada em seções dispostas da seguinte maneira: Parte I: Introdução e Objetivos, Parte II: Manuscritos I, II e III e Parte III: Discussão, Conclusões, Perspectivas, Referências Bibliográficas e Anexos.

A **Introdução** apresenta o embasamento teórico que nos levou ao desenvolvimento desta proposta de trabalho. Nos **Objetivos** constam os principais questionamentos do trabalho realizado.

Os **Materiais e Métodos, Resultados e Discussão** assim como as **Referências específicas** encontram-se no corpo de cada manuscrito, os quais estão apresentados na forma de **Capítulos I, II e III**.

A seção **Discussão** contém uma interpretação geral dos resultados obtidos nos três manuscritos.

A seção **Conclusões** aborda as conclusões gerais dos principais resultados da tese. Em seguida, está apresentada a seção **Perspectivas**, a qual aborda os próximos estudos a serem realizados.

A seção **Referências Bibliográficas** lista a bibliografia utilizada nas seções Introdução e Discussão da tese.

A seção "**Anexos**" contém o aceite do comitê de ética em pesquisa, o modelo do termo de consentimento livre esclarecido e do questionário aplicado nos participantes do estudo.

PARTE I

1. Poluição atmosférica e saúde

Atualmente, a contaminação ambiental por diferentes agentes químicos é um dos temas mais estudados. E, a poluição atmosférica está em destaque devido aos potenciais efeitos deletérios demonstrados à saúde humana. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a poluição atmosférica tem sido associada com mais 2.000 mortes por ano no mundo (WHO, 2005).

Os primeiros dados associando os efeitos deletérios da poluição atmosférica sobre a saúde surgiram entre as décadas de 30 e 50 do século passado. O episódio Londrino é a referência clássica nessa área de estudo. Logan (1953) reportou o aumento da mortalidade em Londres no inverno de 1952. Durante uma semana de inverno, devido à inversão térmica, houve acúmulo de material particulado causado pela queima de carvão, formando uma densa névoa de poluição atmosférica, sendo registradas, neste período, mais de 4.000 mortes (LOGAN, 1953). A partir deste e de outros episódios similares, como no Vale de Meuse, na Bélgica, em 1930, e, na cidade de Donora, na Pensilvânia, nos EUA em 1948, houve uma mobilização dos países europeus e americanos com a finalidade de estabelecer limites máximos de exposição aos poluentes atmosféricos, bem como investigar os efeitos da poluição sobre a saúde humana (CANÇADO *et al.*, 2006).

Nas últimas décadas, trabalhos epidemiológicos demonstraram que altos níveis de poluição atmosférica presentes nas áreas urbanas representam um fator de risco para doenças respiratórias e cardiovasculares (SALDIVA *et al.*, 1994; PETERS *et al.*, 2004; ZANOBETTI e SCHWARTZ, 2005; BROOK, 2008; FRANCHINI e MANNUCCI, 2012), bem como podem exacerbar doenças pré-existentes e, conseqüentemente, o aumento nos atendimentos hospitalares (LIN *et al.*, 2004; FARHAT *et al.*, 2005; DUBOWSKY *et al.*, 2006).

Estudos realizados no Brasil (SALDIVA *et al.*, 1994; BAKONYI *et al.*, 2004; DAUMAS *et al.*, 2004; LIN *et al.*, 2004; FARHAT *et al.*, 2005; ANDRE *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2012) assim como em outros países (ALVES, SCOTTO e FREITAS, 2010; CHEN *et al.*, 2010; TONNE *et al.*, 2010; SAMOLI *et al.*, 2011) têm associado ambientes poluídos com mortes prematuras, doenças respiratórias, irritação ocular e aumento de internações hospitalares. Segundo a OMS, 60 % das doenças respiratórias agudas e 50 % das doenças respiratórias crônicas estão associadas à exposição aos poluentes atmosféricos. Além dos danos ao sistema respiratório, o

material particulado presente no ar tornou-se um fator de risco para eventos cardiovasculares (BROOK *et al.*, 2004; KUNZLI *et al.*, 2005; BROOK, 2008; KUNZLI *et al.*, 2010; FRANCHINI e MANNUCCI, 2012).

Andre e colaboradores (2012) utilizaram dados de admissões hospitalares por doenças respiratórias e cardiovasculares no ano de 2007 em hospitais de referência de seis capitais brasileiras e os níveis diários de material particulado. Nesse estudo, foi possível observar que, devido ao atraso na execução de políticas para a aplicação de tecnologias sustentáveis, deverá haver um aumento considerável no número de mortes até 2040 relacionado com a poluição atmosférica (ANDRE *et al.*, 2012).

A exposição ao material particulado urbano está associada a efeitos adversos à saúde, mesmo quando os níveis encontrados estariam de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação (FREITAS e SOLCI, 2009). Nesta linha, Bakheet e colaboradores (2013) mostraram que indivíduos que residiam próximo a áreas poluídas apresentavam efeitos adversos, mesmo que as concentrações dos poluentes atmosféricos fossem consideradas relativamente baixas (Al BAKHEET *et al.*, 2013). Além disso, Pope e colaboradores (2009) sugeriram que uma redução de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $\text{MP}_{2,5}$ na emissão dos poluentes seria responsável por um aumento na expectativa de vida (POPE, EZZATI e DOCKERY, 2009).

Ostro e colaboradores (2009) relataram que internações hospitalares por doenças respiratórias, especialmente pneumonia, estão associados com a exposição ao $\text{MP}_{2,5}$ e seus componentes químicos. Estes componentes são derivados de fontes, como, por exemplo, emissões dos automóveis, queima de biomassa, e outros processos de combustão que estão presentes no ambiente urbano (OSTRO *et al.*, 2009).

No Brasil, o desenvolvimento tecnológico e econômico norteados pelo aumento do parque industrial, crescimento da frota veicular leve e pesada, e expansão da fronteira produtiva acarretou novos desafios para a determinação dos impactos da poluição à saúde humana. Assim, a expansão dessas fontes proporcionou a expansão de problemas de poluição atmosférica a áreas desprovidas de capacidade de monitoramento e gestão do risco (COLOMBINI, 2008). Embora um dos requisitos básicos da saúde humana e bem-estar é considerado o ar limpo, a exposição à poluição atmosférica é considerada uma ameaça significativa para a saúde humana, principalmente em áreas urbanas de países em desenvolvimento.

2. Principais poluentes atmosféricos

A poluição atmosférica pode ser definida como a presença de uma mistura complexa de substâncias estranhas resultantes da atividade antropogênica ou de processos naturais, em concentrações suficientes para interferir direta ou indiretamente na saúde, segurança e bem-estar dos seres vivos (CONAMA, 1990; CANÇADO *et al.*, 2006).

As atividades antropogênicas, como, por exemplo, a queima de resíduos e biomassa, operações industriais, fuligem e combustão de veículos automotores, liberam na atmosfera grande quantidade de poluentes, como o monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrogênio (NO₂), dióxido de enxofre (SO₂), material particulado e hidrocarbonetos (TEIXEIRA *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2009). Dentre esses poluentes, destaca-se o material particulado.

O material particulado refere-se a uma mistura de componentes sólidos ou líquidos suspensos no ar, que variam em forma, composição e origem (POPE *et al.*, 2002). Dependendo do seu tamanho aerodinâmico, as partículas são classificadas em partículas grosseiras com diâmetro aerodinâmico menor que 10 µm e partículas finas, apresentando diâmetro aerodinâmico igual ou inferior a 2,5 µm, designando-se por MP₁₀ e MP_{2,5}, respectivamente. As partículas grosseiras são produzidas, principalmente, por processos mecânicos, como atividades de construção, ressuspensão de poeiras e, em cidades com alta densidade de tráfego, uma fração significativa é produzida pela fricção dos pneus dos veículos com o asfalto, enquanto que as partículas finas são emitidas, principalmente, a partir de processos de combustão, indústrias e veículos. O material particulado fino tem sido amplamente estudado, pois essas partículas apresentam a capacidade de atingir as regiões mais distais do sistema respiratório gerando efeitos adversos (POPE *et al.*, 2002).

O material particulado apresenta uma variabilidade complexa de substâncias tóxicas, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e metais que estão adsorvidos em sua superfície (QUITERIO *et al.*, 2004; DALLAROSA *et al.*, 2005; MANALIS *et al.*, 2005; VALLIUS *et al.*, 2005; VALAVANIDIS *et al.*, 2006; FANG, CASSIDY e CHRISTIANI, 2010; GUPTA, SALUNKHE e KUMAR, 2010; PAULINO *et al.*, 2010). Portanto, além de serem poluentes, essas partículas atuam como um veículo de disseminação de outros compostos químicos (LODOVICI *et al.*, 2003; GIODA, 2006; VALAVANIDIS *et al.*, 2006; COLOMBINI, 2008).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) contêm mais de 100 tipos diferentes de produtos químicos (ATSDR, 2006). Dentre os HPAs, os pirenos, especialmente, o benzo[a]pireno é um dos principais componentes; neste sentido, em análises de monitoramento ambiental, é recomendada a sua quantificação (CASTANO-VINYALS *et al.*, 2004). O fato de possuir cinco anéis aromáticos, como representado na figura 1, e apresentar uma baixa pressão de vapor, faz com que o benzo[a]pireno permaneça geralmente associado ao material particulado, e dificilmente na forma de vapor (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000).

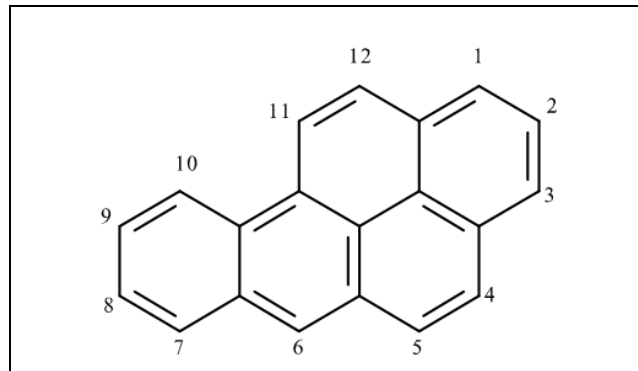


Figura 1: Estrutura química do benzo[a]pireno (Fonte: IARC, 2010).

Assim como os demais HPAs, o benzo[a]pireno é um produto proveniente da combustão incompleta de matéria orgânica, podendo ser emitido por motores a diesel e a gasolina, estar presente na fumaça do cigarro e da madeira, sendo um dos componentes da poluição atmosférica (TAKAISHI *et al.*, 2009). Em regiões urbanas, há uma maior concentração de HPAs na atmosfera. As vias de contaminação por HPAs nos seres humanos são por meio da inalação de vapores ou material particulado com vapores adsorvidos, e pela ingestão de alimentos grelhados ou contaminados por deposições atmosféricas (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000). Em virtude de suas propriedades físico-químicas, o risco de contaminação é significativo, pois apresentam característica lipofílica, podendo ser absorvido por inalação e ingestão (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000).

Após a absorção, o benzo[a]pireno é biotransformado por uma série de enzimas (fase I e II) que catalisam as reações de hidrólise, oxidação, redução (oxigenases, citocromo P-450 como as CYP1A1 e CYP1B1 e NADPH-citocromo-c-redutase) e conjugação por meio das enzimas sulfotransferase, epóxido hidrolase, glutiona-S-transferase e UDP-glicotransferase. A biotransformação tende a

transformar em um metabólito mais hidrofílico que o seu precursor e, com isso, facilitar a sua excreção (KLAASSEN e WATKINS, 2012).

O benzo[a]pireno, assim como outros HPAs, pode ser biotransformado por três diferentes vias. A primeira via é a formação de diol-epóxidos eletrofílicos por meio da ação do citocromo P-450 formando óxidos de areno, e estes, por sua vez, podem sofrer rearranjo formando fenóis ou reagir covalentemente com a glutatona (espontaneamente ou catalisada pela glutatona-S- transferase) formando diol-epóxido (XUE e WARSHAWSKY, 2005). Alguns fenóis são oxidados a quinonas e outros podem sofrer nova epoxidação formando os dihidrodiolepóxidos. A segunda via é a formação do radical cátion por meio do citocromo P-450 e das peroxidases, sendo esta outra classe de formação de metabólitos reativos e carcinogênicos. A terceira via é a formação de o-quinonas, com reação de oxidação de fenóis. As o-quinonas apresentam alta reatividade com os grupamentos tiólicos (glutatona e cisteína), formando os conjugados hidrossolúveis (XUE e WARSHAWSKY, 2005; IARC, 2010). A via de formação de o-quinonas pode liberar espécies reativas de oxigênio quebrando o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes (IARC, 2010). O processo de oxidação enzimática seguida de hidrólise com a formação de diol-epóxidos é a via mais aceita na bioativação dos HPAs, na qual metabólitos reativos são intercalantes de DNA (ATSDR, 2006; XUE e WARSHAWSKY, 2005). O polimorfismo genético das isoenzimas do sistema CYP-450 é conhecido como um fator de influência na biotransformação de xenobióticos (STRICKLAND e KANG, 1999).

A IARC (*International Agency for Research on Cancer*) avaliou o potencial carcinogênico do benzo[a]pireno classificando como Grupo 1 (IARC, 1998; 2010). A sua potente ação pró-carcinogênica é decorrente da ação de alguns dos seus metabólitos intermediários que são intercalantes de DNA e, portanto, agentes mutagênicos (BOFFETTA, JOURENKOVA e GUSTAVSSON, 1997; PEREIRA NETTO *et al.*, 2000). No entanto, recentemente, o benzo[a]pireno vem sendo apontado como possível fator aterogênico, visto que estudos experimentais *in vivo* demonstraram que a exposição a este xenobiótico ocasionou um aumento da progressão da aterosclerose (CURFS *et al.*, 2004; KNAAPEN *et al.*, 2007). Curfs e colaboradores (2004) observaram que camundongos apoE^{-/-} expostos ao benzo[a]pireno apresentaram aumento da placa aterosclerótica, sugerindo que os

eventos cardiovasculares foram independentes da sua ação mutagênica (CURFS *et al.*, 2004).

Nos últimos anos, o interesse em potenciais efeitos adversos para a saúde com relação à exposição ao material particulado fino e ultrafino aumentou consideravelmente (OBERDORSTER *et al.*, 2005).

Alguns dos efeitos adversos sobre a saúde também podem ser causados pela inalação de material particulado que contenha elementos traços em sua composição química (BURNETT *et al.*, 2000; SCHAUMANN *et al.*, 2004; GRASS *et al.*, 2010; GIODA *et al.*, 2011). Uma variedade de metais é encontrada na fração fina (MP_{2,5}) sob a forma de traços metálicos. Os metais mais comuns encontrados aderidos ao material particulado são aqueles liberados pela combustão de petróleo e carvão, como, por exemplo, os metais derivados da crosta terrestre (ferro, sódio e magnésio) e metais liberados pelo desgaste de veículos automotores (KLAASSEN e WATKINS, 2012).

Os metais derivados de fontes antropogênicas, geralmente, estão associados ao MP_{2,5}, enquanto que os metais que compõem a crosta terrestre comumente estão associados à fração grosseira de material particulado (KLAASSEN e WATKINS, 2012). Alguns metais sofrem reações *redox* e possuem a capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio em sistemas biológicos, desencadeando o estresse oxidativo, que têm sido associados com indução de eventos adversos respiratórios e cardiovasculares (CURTIS *et al.*, 2006; KAMPA e CASTANAS, 2008; ARAUJO e NEL, 2009; GRASS *et al.*, 2010). Burnett e colaboradores (2000) relataram a associação entre mortalidade e exposições diárias a vários metais presentes no ambiente, incluindo zinco, níquel e ferro em um estudo envolvendo oito cidades canadenses (BURNETT *et al.*, 2000).

Além disso, entre os metais, alguns considerados não essenciais, são muito tóxicos, como por exemplo, mercúrio, arsênio, chumbo, cádmio e alumínio. Esses metais são reconhecidamente neurotóxicos e/ou nefrotóxicos, assim como o arsênio está associado à carcinogenicidade (MORTADA *et al.*, 2001; JARUP, 2003; SILBERGELD *et al.*, 2005; HAMBACH *et al.*, 2013). Diante da importância do controle de exposição a diferentes metais, internacionalmente, há controle das suas concentrações no ar, água e alimentos. Por outro lado, poucos são os estudos, especialmente com populações expostas ambientalmente ou ocupacionalmente, e seus potenciais efeitos sobre inflamação e/ou aterosclerose e, portanto, seus efeitos

desencadeando doenças cardiovasculares (SIMEONOVA *et al.*, 2003; SILBERGELD *et al.*, 2005; MILLS *et al.*, 2009; GRASS *et al.*, 2010).

No entanto, a legislação brasileira ainda não definiu padrões de qualidade do ar para o MP_{2,5}, bem como não estabeleceu níveis para os compostos de HPAs e metais presentes no material particulado. Neste caso, pode-se utilizar como referência para o MP_{2,5} as normas internacionais, como, por exemplo, EPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) e OMS (Organização Mundial de Saúde), as quais preconizam como limite máximo diário para o MP_{2,5}: 35 µg/m³ e 25 µg/m³, respectivamente. Em relação ao benzo[a]pireno, pode-se utilizar como referência a Diretiva 2004/107/EC, na qual se preconiza o limite de 1,0 ng/m³. A OMS preconiza os limites anuais para alguns metais no ar (WHO, 2000). No entanto, é fundamental que a legislação brasileira estabeleça parâmetros máximos permitidos aos poluentes, uma vez que a poluição atmosférica está afetando gravemente a qualidade de vida da população. Dessa forma, novas estratégias para a diminuição da poluição ambiental e formulação de políticas públicas apropriadas são necessárias (DAUMAS *et al.*, 2004).

3. Poluição atmosférica e exposição ocupacional

A exposição aos xenobióticos, que estão presentes no ambiente em que o trabalhador está desenvolvendo suas atividades profissionais por um período diário determinado é definido como exposição ocupacional (OGA, CARVALHO e BATISTUZZO, 2008).

A intensidade da exposição depende, dentre outros fatores, da concentração do agente tóxico no local, das características físico-químicas do agente, do tempo de exposição diária e da frequência de exposição ao longo da vida. Considerando que as pessoas passam várias horas por dia no ambiente de trabalho em exposição ocupacional, a xenobióticos, torna-se um relevante problema de saúde pública (NEVES, 1999; FRITSCHI, 2009).

A absorção de agentes tóxicos pelo organismo depende, principalmente, de suas propriedades físico-químicas (ANGERER, EWERS e WILHELM, 2007; MANNO *et al.*, 2010). Porém, também devem ser considerados os fatores inerentes ao indivíduo, como idade, gênero, etnia, suscetibilidade genética, estado nutricional e doenças crônicas (KLAASSEN e WATKINS, 2012). Estes fatores podem interferir na

gravidade dos efeitos adversos ocasionados pelos agentes tóxicos presentes no ambiente de trabalho, já que os indivíduos podem desenvolver patologias relacionadas por condições adversas ao exercício de sua profissão (OGA, CARVALHO e BATISTUZZO, 2008; MANNO *et al.*, 2010). Apesar da população em geral também estar exposta aos poluentes ambientais, indivíduos que permanecem expostos cronicamente por diversas horas diárias apresentam maior vulnerabilidade em desenvolver efeitos toxicológicos relacionados com a exposição (KNIBBS e MORAWSKA, 2012).

Dentre os grupos ocupacionalmente expostos à poluição atmosférica, destacam-se os motoristas profissionais. Esta categoria de trabalhadores possui uma longa jornada de trabalho diário e está exposta a uma mistura heterogênea de compostos tóxicos (ZAGURY, LE MOULLEC e MOMAS, 2000; BURGAZ *et al.*, 2002; LEWNE *et al.*, 2006; MANINI *et al.*, 2006; BAGRYANTSEVA *et al.*, 2010; MILLER-SCHULZE *et al.*, 2010). Os motoristas de taxi não possuem um ponto e local definido durante a sua jornada de trabalho. Diferentemente de outras categorias, que desempenham suas funções em ambientes climatizados e relativamente confortáveis, os motoristas profissionais passam horas do seu dia no trânsito e são expostos a variações climáticas, às condições do tráfego, bem como aos fatores psicossociais (BATTISTON, CRUZ e HOFFMANN, 2006; ALQUIMIM *et al.*, 2012). Alguns estudos tem sugerido que excessivas horas de trabalho diário estão associadas ao desenvolvimento de diversas patologias, como distúrbios psíquicos, diabetes e infarto agudo do miocárdio (KNIBBS e MORAWSKA, 2012).

3.1. Monitoramento ambiental

O monitoramento ambiental consiste na quantificação das concentrações de substâncias químicas em ambientes de exposição, tais como ar, água e solo (NORDBERG, 2010) avaliando o risco para a saúde por comparação com valores de referências apropriados (PRISTA e UVA, 2006). O monitoramento do ambiente é necessário para que seja possível identificar as fontes de exposição de xenobióticos e facilitar as ações a serem executadas para a redução de emissões (ANGERER, EWERS e WILHELM, 2007).

Para realizar o monitoramento do ar, alguns fatores devem ser considerados para a escolha do local de amostragem. Dentre estes fatores, destacam-se:

variações sazonais, direção dos ventos, pluviometria, inversões térmicas, assim como a área geográfica da região (SISINNO e OLIVEIRA-FILHO, 2013). Esses fatores definem o tempo de residência dos poluentes na atmosfera, já que estes podem ser transportados a longas distâncias e afetar a saúde de populações distantes das fontes geradoras de poluição (BRASIL, 2008). Apesar do monitoramento ambiental muitas vezes não representar as reais condições de exposição do trabalhador, apresenta-se como um importante instrumento na verificação dos níveis de contaminação dos sistemas ambientais e sua aplicação pode ser considerada importante no programa de proteção à saúde, uma vez que a contaminação que afeta o meio ambiente também afeta a saúde dos seres humanos (Figura 2A) (SISINNO e OLIVEIRA-FILHO, 2013).

O monitoramento do ambiente de trabalho é aplicado baseado no tempo em que o indivíduo permanece no local, no entanto, apesar de ser relevante estimar a concentração de determinado xenobiótico, sabe-se que cada trabalhador não está na mesma condição de exposição durante toda a jornada de trabalho (OGA, carvalho e BATISTUZZO, 2008). Dessa forma, a aplicação do biomonitoramento se torna fundamental para avaliar a exposição do organismo aos xenobióticos (Figura 2B) (ANGERER, MANNSCHRECK e GUNDEL, 1997; ANGERER, EWERS e WILHELM, 2007; MANNO *et al.*, 2010; SCHULTE e HAUSER, 2012).

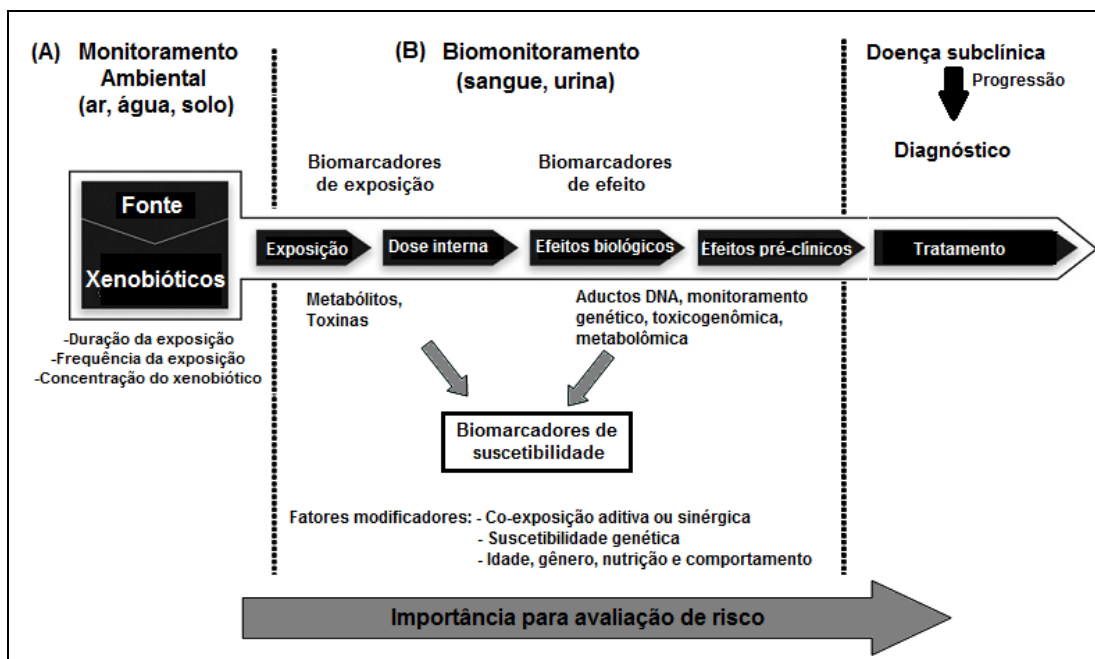


Figura 2. Monitoramento ambiental e biomonitoramento (Modificado de ANGERER *et al.*, 2007 e de SCHULTE e HAUSER, 2012).

3.2. Biomonitoramento

O biomonitoramento tem como objetivo principal a gestão de avaliação de risco por meio dos níveis individuais de exposição, utilizando biomarcadores de exposição e biomarcadores de efeito para a detecção precoce, e preferencialmente reversível de sinais biológicos, para prevenir em médio e longo prazo danos à saúde do trabalhador (OGA, CARVALHO e BATISTUZZO, 2008; MANNO *et al.*, 2010). A vantagem do biomonitoramento reside no fato de que o marcador biológico de exposição estar relacionado ao efeito adverso à saúde do trabalhador, considerando a exposição ao agente químico pelas vias respiratória, oral e dérmica (KLAASSEN e WATKINS, 2012).

Os biomarcadores de exposição são considerados como ferramentas importantes, pois permitem estimar o nível das substâncias químicas a que o indivíduo está exposto, pela quantificação da substância tóxica e/ou metabólitos em fluidos biológicos (AMORIM, 2003). Além disso, a quantificação de biomarcadores de exposição contribuem para a elucidação dos mecanismos tóxicos, da biotransformação e dos efeitos dos compostos químicos (ANGERER, EWERS e WILHELM, 2007). Em relação aos biomarcadores de efeito, estes são caracterizados como biomarcadores que refletem a interação entre os xenobióticos e os receptores biológicos do organismo, e a quantificação destes biomarcadores indicam as modificações precoces, reversíveis ou não, que precedem danos estruturais ou funcionais progressivos em nível molecular e celular (AMORIM, 2003; PRISTA e UVA, 2006).

A suscetibilidade individual a xenobióticos ambientais é modelada por diferenças na capacidade de metabolização/detoxificação dos xenobióticos e também pela eficiência dos diferentes sistemas de reparo de dano ao DNA (NORDBERG, 2010). Estudos de polimorfismos podem fornecer informações importantes quanto ao papel da suscetibilidade genética individual e sua relação com a exposição aos xenobióticos, bem como podem influenciar diretamente sobre os fatores de risco associados a patologias (AMORIM, 2003). Sendo assim, o biomarcador de suscetibilidade indica a capacidade inata ou adquirida do indivíduo exposto em responder à dose da substância absorvida (PRISTA e UVA, 2006).

Nesse contexto, para avaliar a saúde do trabalhador, deve ser realizado o monitoramento ambiental e o biomonitoramento, com a finalidade de verificar os

xenobióticos que o indivíduo está exposto sem superestimar a exposição. Representam, portanto, informações diferentes, mas complementares (ANGERER, MANNSCHRECK e GUNDEL, 1997).

A figura 2 ilustra a avaliação da exposição ocupacional aos xenobióticos ambientais, abordando os fatores de monitoramento ambiental (A) e biomonitoramento (B), por meio da quantificação de biomarcadores (exposição, efeito e suscetibilidade), bem como a relação com os fatores modificadores, como por exemplo, idade, gênero, exposição a diferentes poluentes ambientais, dentre outros. Deve-se considerar a caracterização do potencial risco de toxicidade do xenobiótico, a duração e a frequência da exposição, bem como a susceptibilidade do indivíduo exposto. O xenobiótico na sua forma original ou os seus metabólitos formados após a biotransformação podem ligar-se a moléculas desencadeando os efeitos adversos. Essa interação poderá resultar em danos reversíveis ou lesões pré-clínicas em uma primeira fase e, posteriormente, em manifestações clínicas se a exposição ao xenobiótico persistir (PRISTA e UVA, 2006). A quantificação de biomarcadores pode não prevenir o desenvolvimento de todas as doenças do trabalhador, mas sua aplicação contribui para a melhoria da proteção da saúde dos trabalhadores (SCHULTE e HAUSER, 2012).

Os biomarcadores utilizados como indicadores de exposição individual a poluição do ar é um método emergente no campo da avaliação da exposição ambiental, estabelecendo as ligações entre os efeitos na saúde e agentes ambientais (ZOU *et al.*, 2009).

A análise da carboxihemoglobina no sangue é muito utilizada como biomarcador de exposição ao monóxido de carbono (BONO *et al.*, 2007; OGA, CARVALHO e BATISTUZZO, 2008). As concentrações de monóxido de carbono são, geralmente, elevadas em regiões de tráfego pesado, sendo os veículos responsáveis por cerca de 60 % das emissões (WHO, 2000). O mecanismo de ação tóxica ocorre pela reação entre o monóxido de carbono e a hemoglobina, já que a afinidade da hemoglobina pelo monóxido de carbono é 240 vezes maior do que o oxigênio, tornando a hemoglobina incapaz de se combinar com o oxigênio, e, dependendo do nível de exposição, pode levar a uma hipóxia tecidual (MAYNARD, 2004; CURTIS *et al.*, 2006). A quantidade de carboxihemoglobina formada depende de diversos fatores, tais como a concentração e duração de exposição, temperatura e das condições de saúde e do metabolismo do indivíduo exposto (SOUSA *et al.*,

2012). O limite biológico de exposição proposto pelo EPA é de 2 % e a OMS recomenda o limite de 2,5 a 3 % de carboxihemoglobina para a população exposta não fumante.

O controle biológico da exposição aos HPAs pode ser realizado pela quantificação de biomarcadores de exposição que geram informações quanto ao nível de absorção do xenobiótico (ANGERER, MANNSCHRECK e GUNDEL, 1997). O 1-hidroxipireno urinário é o principal metabólito do pireno e tem sido utilizado como um biomarcador de exposição aos HPAs (JONGENELEN *et al.*, 1988; SELLAPPA, MANI e KEYAN, 2011; DEMETRIOU *et al.*, 2012), bem como para estimar a exposição aos HPAs presente nas emissões veiculares (MERLO *et al.*, 1998; CASTANO-VINYALS *et al.*, 2004; HANSEN *et al.*, 2008; CIARROCCA *et al.*, 2013). Na avaliação de exposição ocupacional, é importante também considerar os hábitos de vida do trabalhador, como a alimentação e o fumo ativo e/ou passivo, uma vez que a concentração de 1-hidroxipireno presente na urina reflete a exposição total aos HPAs (MARIE *et al.*, 2009).

4. Caracterização da área do estudo

O crescimento da frota de veículos, o desenvolvimento industrial e a expansão populacional, quando associados a fatores meteorológicos, têm contribuído significativamente para a elevação dos níveis de poluentes em suspensão, diminuindo a qualidade do ar. Os veículos automotores são um dos grandes agentes contribuidores para a emissão de diversos poluentes atmosféricos que podem representar riscos à saúde (CANÇADO *et al.*, 2006; TEIXEIRA *et al.*, 2008; TEXEIRA *et al.*, 2009).

A cidade de Porto Alegre, capital do Estado do Rio Grande do Sul, possui um clima subtropical úmido. A temperatura média anual é de 19,5 °C. Pesquisas evidenciaram que, durante os meses de inverno, ocorre um maior acúmulo de poluentes ambientais devido ao predomínio de inversões térmicas (TEIXEIRA *et al.*, 2008; TEXEIRA *et al.*, 2009). A inversão térmica é um fenômeno meteorológico que consiste na presença de uma camada de ar frio próximo ao solo, ficando a camada de ar quente acima, a qual impede a dispersão e a movimentação de massas de ar, acarretando um acúmulo de poluentes ambientais (OGA, CARVALHO e BATISTUZZO, 2008).

Segundo a última contagem da população realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), residem na cidade de Porto Alegre 1.409.301 habitantes, culminando em uma densidade demográfica de 2.837,52 habitantes por Km² (IBGE, 2010). A cidade, que está localizada aproximadamente a 110 km do Oceano Atlântico e a 10 m de altitude, é um exemplo de área urbana industrializada, em que a meteorologia e topografia são fatores que influenciam o transporte e a dispersão de poluentes (TEIXEIRA *et al.*, 2008; TEXEIRA *et al.*, 2009).

A poluição emitida pela frota veicular é a principal fonte de poluentes que agem na degradação da qualidade do ar, principalmente em regiões metropolitanas (TEIXEIRA *et al.*, 2008). O número de veículos que circulam na cidade de Porto Alegre é crescente e, em 2012, dados do IBGE, revelaram que, aproximadamente, 768.069 veículos circulam na região (IBGE, 2012). Segundo os dados da EPTC (Empresa Pública de Transporte e Circulação), a frota total de táxi de Porto Alegre é de 3.922 carros, resultando em uma média de 365 habitantes por carro.

O uso do transporte motorizado no Brasil tem aumentado a cada ano. De acordo com o DENATRAN (Departamento Nacional de Trânsito), a frota brasileira dobrou nos últimos dez anos. Atualmente, são registrados, aproximadamente, 65 milhões de veículos no Brasil, incluindo carros, caminhões, ônibus e motocicletas. Este crescimento da frota de veículos é acompanhado por problemas ambientais, incluindo a poluição do ar e o congestionamento do tráfego, que representam ameaças para a saúde e o bem-estar da população (ANDRE *et al.*, 2012).

Mesmo sendo reconhecida a ação toxicológica e carcinogênica de alguns compostos emitidos na atmosfera, no Rio Grande do Sul, ainda não há monitoramento ambiental contínuo desses poluentes. Assim, indivíduos expostos ocupacionalmente a estes contaminantes ambientais em áreas densamente povoadas, como na cidade de Porto Alegre, necessitam de um registro dessas concentrações para avaliar a qualidade do ar no ambiente de trabalho.

5. Fisiopatologia envolvida em ações sistêmicas da exposição humana à poluição atmosférica

Recentes pesquisas epidemiológicas e toxicológicas têm indicado que o material particulado pode promover lesões cardiovasculares, como a aterosclerose,

porém os mecanismos e os efeitos ainda não estão bem esclarecidos. Algumas pesquisas relacionadas com poluição atmosférica e sistema cardiovascular têm atribuído seus efeitos deletérios aos compostos oxidantes que estão presentes no material particulado (SORENSEN *et al.*, 2003; BROKK, 2008; FRANCHINI e MANNUCCI, 2012; CHEN *et al.*, 2013). As principais características que afetam a absorção após a exposição aos poluentes ambientais são o tamanho aerodinâmico, bem como a solubilidade das substâncias nele presentes. Nesse sentido, quanto menor a partícula, mais facilmente atinge as porções mais distais das vias aéreas inferiores (SORENSEN *et al.*, 2003; KLAASSEN e WATKINS, 2012). Na figura 3, observam-se as principais vias biológicas pelas quais o material particulado pode agir causando efeitos adversos no sistema cardiovascular.

Após a inalação das partículas finas, ocorre a liberação, pelas células pulmonares, de mediadores pró-inflamatórios e de moléculas vasoativas. Assim sendo, a inalação do ar poluído pode abranger diversos mecanismos patológicos que envolvem o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROS) e nitrogênio (ERNS), assim como o aumento do estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode induzir a apoptose das células pulmonares e desencadear o processo inflamatório pulmonar. A resposta inflamatória sistêmica ocorre por meio do aumento de citocinas pró-inflamatórias na circulação (IL-1, IL-6, TNF- α), alteração nos fatores da coagulação sanguínea, aumento da adesividade plaquetária e progressão do processo aterosclerótico desencadeando complicações cardiovasculares ateroscleróticas (CANÇADO *et al.*, 2006; ZEKA *et al.*, 2006; BACCARELLI *et al.*, 2008; BROOK, 2008; SIMKHOVICH, KLEINMAN e KLONER, 2008; DELFINO *et al.*, 2009; HUTTUNEN *et al.*, 2012).

Um segundo processo proposto envolve o desequilíbrio do sistema nervoso autônomo, desencadeado pela interação das partículas ambientais que foram inaladas com os receptores neurais pulmonares. Este mecanismo também está associado com o aumento da variabilidade da frequência cardíaca, desencadeando arritmias cardíacas que podem progredir à insuficiência cardíaca congestiva. Outro possível mecanismo consiste na translocação direta do material particulado, especialmente as partículas ultrafinas, para a corrente sanguínea (Figura 3) (SORENSEN *et al.*, 2003; DE PAULA SANTOS *et al.*, 2005; BROOK, 2008; DELFINO, STAIMER e VAZIRI, 2011).

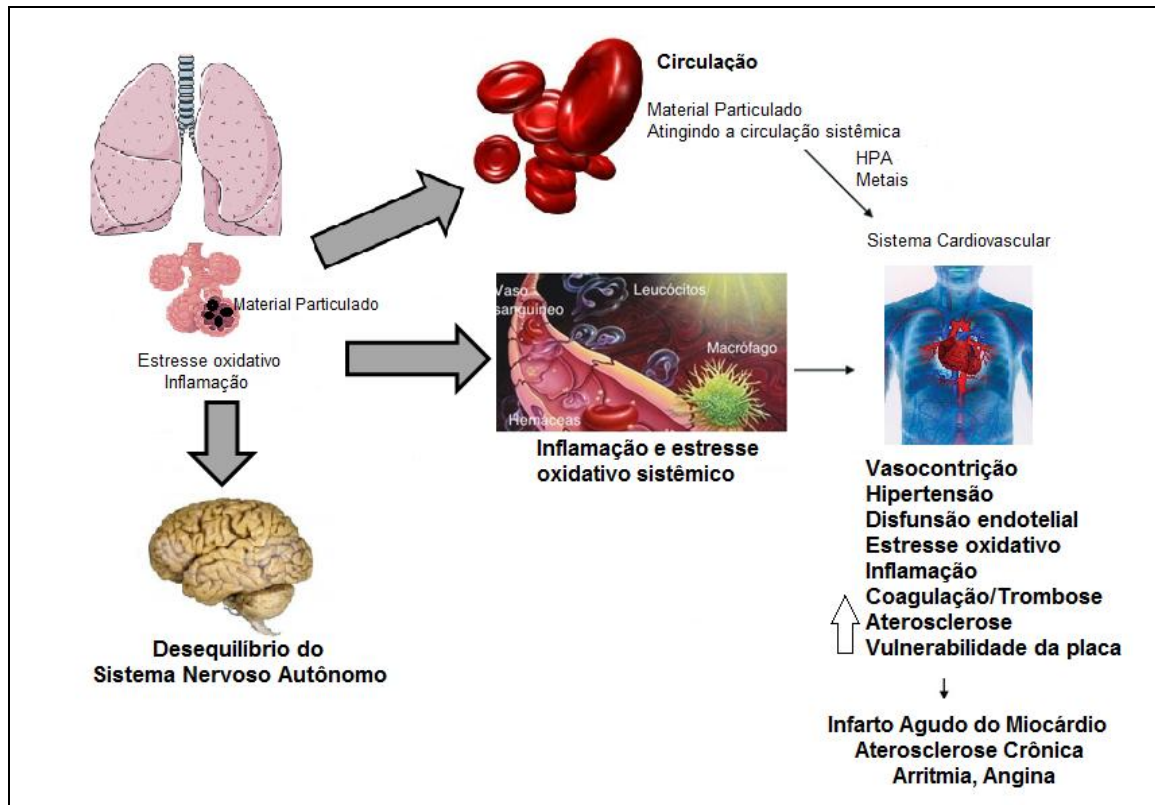


Figura 3. Principais vias biológicas pelas quais o material particulado pode agir causando efeitos adversos no sistema cardiovascular (Modificado de BROOK, 2008).

O estresse oxidativo e a inflamação pulmonar são desencadeados por mecanismos heterogêneos e complexos, como uma resposta à exposição às propriedades físico-químicas das partículas. Diversas citocinas inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6, TNF- α , e INF- γ , demonstraram estar aumentadas no fluido brônquico alveolar, bem como no sangue circulante, após exposição ao material particulado em estudos em animais e humanos (SUN *et al.*, 2005; DELFINO *et al.*, 2009; HUTTUNEN *et al.*, 2012).

No estudo realizado por Vogel e colaboradores (2005), sugeriu-se que as partículas presentes no ambiente são responsáveis pela indução de mediadores inflamatórios com subsequente aumento do acúmulo do colesterol e oxidação dos lipídios. Esses fatores demonstraram que houve uma interação entre o material particulado e a resposta inflamatória (VOGEL *et al.*, 2005). Em um estudo realizado na cidade de São Paulo, no qual foram avaliados controladores de tráfego, evidenciou-se uma elevação da pressão arterial média em 2,4 mmHg e diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (DE PAULA SANTOS *et al.*, 2005).

Soares e colaboradores (2009) demonstraram, em um estudo experimental com ratos hiperlipidêmicos expostos a poluição, o impacto da exposição crônica ao ar urbano no processo aterosclerótico. Os autores observaram que a poluição atmosférica da cidade de São Paulo potencializou o processo de aterosclerose. Em resumo, os poluentes urbanos agravaram a suscetibilidade da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) à oxidação, indicando um efeito sinérgico entre a exposição aos poluentes atmosféricos e aterosclerose (SOARES *et al.*, 2009).

Baseado em um estudo *in vivo*, Rivero e colaboradores (2009) observaram por meio de análises histológicas, que a exposição por instilação intratraqueal de partículas ambientais da cidade de São Paulo promoveu alterações pulmonares e cardíacas em ratos saudáveis, mesmo quando os marcadores celulares de inflamação sistêmica não estavam evidentemente alterados (RIVERO *et al.*, 2005).

Em um estudo realizado na Suécia, constituído de 176.309 trabalhadores expostos a diversos tipos de partículas e 71.778 indivíduos não expostos ocupacionalmente, os autores observaram que a exposição ocupacional ao material particulado foi associado a um aumento do risco relativo para doença arterial coronariana (RR 1,13) (TOREN *et al.*, 2007).

Bonetta e colaboradores (2009), baseados em um estudo *in vitro*, enfatizaram a importância de avaliar a concentração do material particulado, bem como a sua composição química. Estes autores sugeriram que o dano oxidativo causado pela exposição ao MP_{2,5} está relacionado com a concentração dos componentes químicos que estão aderidos na superfície da partícula (BONETTA *et al.*, 2009). Wilson e colaboradores (2002) analisaram diversas concentrações de partículas ultrafinas em cultura de macrófagos e mostraram um efeito citotóxico (WILSON *et al.*, 2002). Fuentes-Mattei e colaboradores (2010) mostraram um aumento dos mediadores inflamatórios (IL-6 e IL-1 β) em células epiteliais brônquicas como uma resposta à exposição de extratos orgânicos polares extraídos de MP_{2,5}. A presença destas citocinas pró-inflamatórias sugerem que a exposição pode induzir as células a acionar uma resposta imunológica que pode ser um passo inicial no desenvolvimento da inflamação pulmonar e, posteriormente, desencadear doenças cardiovasculares (FUENTES-MATTEI *et al.*, 2010).

Doenças isquêmicas do coração são reconhecidas como a principal causa de mortalidade devido à exposição aos poluentes do ar, especialmente ao material particulado. Ambas as exposições de curto prazo e de longo prazo têm sido

consistentemente associadas com síndrome coronariana aguda e infarto agudo do miocárdio (PETERS *et al.*, 2004).

6. Doenças cardiovasculares

De acordo com a OMS, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo, sendo responsáveis por 17,3 milhões de mortes no ano de 2008, representando 30 % do número de mortes (WHO, 2011).

As doenças cardiovasculares contribuem significativamente para a taxa de mortalidade em todas as regiões brasileiras. Além disso, constituem uma das principais causas de permanência hospitalar prolongada, resultando em custos médicos e socioeconômicos elevados (LIN *et al.*, 2004; FARHAT *et al.*, 2005; TONNE *et al.*, 2010). Dados do Ministério da Saúde referentes ao ano de 2011 apontam um total de 335.213 mortes por doenças do aparelho circulatório no país, sendo 54.579 no Rio Grande do Sul.

Em recente estudo realizado em Los Angeles, foi observado que indivíduos que residem próximo a vias de alto fluxo de veículos apresentam uma progressão acelerada do espessamento das camadas média e íntima das carótidas (KUNZLI *et al.*, 2010). No mesmo contexto, Diez e colaboradores (2008), por meio de um estudo longitudinal com indivíduos de seis estados dos EUA, revelaram um aumento do risco de espessamento da camada média-intimal da carótida associado com exposição ao MP_{2,5} por mais de 20 anos, sendo que os participantes do estudo não apresentavam manifestações clínicas de doença cardiovascular (DIEZ ROUX *et al.*, 2008).

Embora os fatores clássicos, como o tabagismo, dieta, sedentarismo, diabetes e altos níveis de colesterol, exerçam forte influência para o desenvolvimento de doenças coronárias, os fatores ambientais podem ser considerados como fatores de risco para as doenças cardiovasculares (BHATNAGAR, 2006; HENNIG, OESTERLING e TOBOREK, 2007; TONNE *et al.*, 2010). Nesse sentido, os biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade são de grande utilidade para identificar a contribuição dos poluentes atmosféricos na doença cardiovascular; estabelecer causalidade; elucidar os mecanismos fisiológicos e moleculares subjacentes; estimar a suscetibilidade relativa de indivíduos saudáveis, bem como os indivíduos que apresentam alguma comorbidade

em grupos populacionais específicos, como, por exemplo, trabalhadores expostos aos poluentes ambientais.

7. Estresse oxidativo, inflamação e aterosclerose

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante (SIES e ARTEEL, 2000). Os radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas, cuja estrutura química possui um elétron desemparelhado, ou seja, ocupando um orbital atômico ou molecular sozinho. Isso os torna muito instáveis, sendo capazes de reagir rapidamente com vários compostos ou atingir alvos celulares (GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2000). As espécies reativas de oxigênio são geradas normalmente no nosso organismo por processos bioquímicos do metabolismo celular (SIES, 1997).

Dentre os oxidantes envolvidos em processos patológicos, estão as espécies reativas de oxigênio (EROS) e as de nitrogênio (ERNS), as quais são formadas por numerosos processos endógenos e exógenos. As principais EROS distribuem-se em dois grupos, as radicalares: superóxido, hidroxila, peroxila e alcoxila, e as não-radicalares: oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Dentre as ERNS incluem-se o óxido nítrico, o óxido nitroso e o peroxinitrito, dentre outros. A maioria destes compostos apresenta tempo de vida médio muito curto (HALLIWELL e CROSS, 1994; SIES, 1997).

A exposição a poluentes ambientais pode resultar em quantidades maiores de pró-oxidantes do que de antioxidantes, resultando no aumento da geração de espécies reativas e/ou alterando as defesas antioxidantes (DELFINO, STAIMER e VAZIRI, 2011). A toxicodinâmica de muitos xenobióticos está relacionada com a geração de espécies reativas e, conseqüentemente, com o aumento do dano oxidativo. Os alvos principais dos danos oxidativos são as moléculas biologicamente importantes, isto é, proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. Dentre os danos oxidativos, podem ocorrer: a peroxidação lipídica, a modificação de proteínas e enzimas com perda de função biológica, bem como o dano de DNA, sendo que, em todas as situações, há como consequência danos teciduais. Os danos oxidativos induzidos nas células e nos tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo as doenças cardiovasculares, como a aterosclerose

(HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992; AMES, SHIGENAGA e HAGEN, 1993; SIES, 1997; URCH *et al.*, 2005).

Os ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas das células podem ser oxidados por peroxidação enzimática mediante reações que envolvam radicais livres, formando os hidroperóxidos lipídicos. Estes produtos por serem extremamente instáveis se decompõem em compostos carbonílicos, dentre eles o malondialdeído. O malondialdeído (MDA) é um dos mais conhecidos produtos secundários da peroxidação lipídica, podendo ser utilizado como indicador de dano das membranas celulares (ESTERBAUER, SCHAUR e ZOLLNER, 1991; POMPELLA, 1997).

As enzimas e proteínas, importantes componentes de muitos sistemas biológicos, são também alvos celulares das espécies reativas e de produtos do estresse oxidativo. As modificações oxidativas podem inativar as funções enzimáticas e provocar alterações na sua estrutura. Nas proteínas, os principais efeitos são a carbonilação com a consequente perda de função (DALLE-DONNE *et al.*, 2003). A carbonilação proteica é o biomarcador mais amplamente utilizado para avaliar o dano oxidativo de proteínas (DALLE-DONNE *et al.*, 2003; VASCONCELOS *et al.*, 2007)

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis de proteção no organismo, sendo agentes responsáveis pela inibição e redução dos efeitos deletérios causados pelos radicais livres nas células. O organismo, a fim de controlar esse processo, possui um sistema enzimático antioxidante, tendo como representantes a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GSH-Px), e um sistema não enzimático, como a glutathiona reduzida (GSH), que reagem com os compostos oxidantes, e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992; GUTTERIDGE e HALLIWELL, 2000).

A superóxido dismutase (SOD) catalisa a dismutação do ânion radical superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 , já a catalase (CAT) atua na decomposição de H_2O_2 a O_2 e água, e a glutathiona peroxidase (GSH-Px) age sobre os peróxidos em geral, com utilização de glutathiona como cofator (HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992; SIES, 1997; VASCONCELOS *et al.*, 2007). A GSH-Px catalisa a redução de hidroperóxidos via oxidação da glutathiona reduzida (GSH), formando GSSG e água. Este processo é reciclado pela glutathiona redutase que

converte GSSG em GSH, com gasto de NADPH proveniente da via das pentoses. A representação do sistema antioxidante enzimático pode ser visualizada na figura 4.

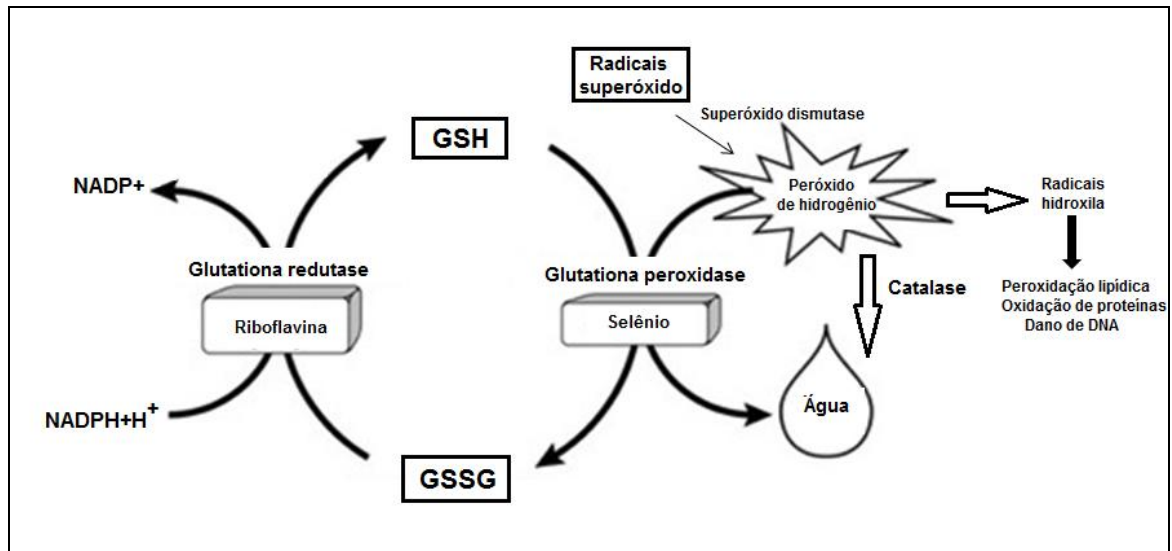


Figura 4. Esquema representativo do sistema antioxidante enzimático (Adaptado de SIES, 1997).

Além dos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, os antioxidantes exógenos, como, por exemplo, as vitaminas C, E (α -tocoferol), A (retinol) e os carotenoides (como licopeno e β -caroteno) presentes na dieta, também estão relacionados com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (POMPELLA, 1997). Hennig e colaboradores (2007) sugeriram que antioxidantes exógenos presentes em frutas e vegetais podem proteger contra o dano de xenobióticos ambientais sob o endotélio vascular. Isto é, uma dieta balanceada pode atuar auxiliando na regulação das vias de sinalização envolvidas nas respostas inflamatórias que estão associadas a disfunções vasculares, tais como a aterosclerose. Além disso, alguns estudos sugerem que o consumo de alimentos com propriedades antioxidantes está inversamente associado ao risco de doenças desencadeadas pelo estresse oxidativo (KELLY, 2004; HENNIG, OESTERLING E TOBOREK, 2007; HENNIG *et al.*, 2012).

Os micronutrientes, embora necessários em quantidades traços no organismo, desempenham papéis essenciais em vários processos bioquímicos e fisiológicos. Diversos componentes do sistema antioxidante são micronutrientes, além das vitaminas, os minerais selênio (Se), cobre (Cu) e zinco (Zn) são componentes estruturais e/ou funcionais de uma série de metaloenzimas e

metaloproteínas, que participam do metabolismo celular, da homeostase e da função imune (MAFRA e COZZOLINO, 2004; BAO *et al.*, 2010).

O selênio é um cofator da enzima glutathiona peroxidase, que atua protegendo as macromoléculas do estresse oxidativo (HARTIKAINEN, 2005). O cobre está envolvido em processos de óxido-redução e o zinco é um importante componente das biomembranas e também age como cofator para uma variedade de enzimas, desempenhando um papel importante no sistema imune e como antioxidante (BAO *et al.*, 2010; RAMBOUSKOVA *et al.*, 2013).

Além dos antioxidantes exógenos, outras moléculas podem agir como antioxidantes. Alguns estudos têm sugerido que a molécula HDL-c atua como um antioxidante, pois apresenta algumas enzimas associadas em sua composição, como, por exemplo, a paraoxonase (PON-1) (DURRINGTON, MACKNESS e MACKNESS, 2001). A PON-1 é uma esterase cálcio dependente sintetizada no fígado e que liga-se fortemente a HDL-c (MACKNESS *et al.*, 1998). Essa possui a capacidade de inibir a oxidação dos lipídeos por meio da hidrólise enzimática dos hidroperóxidos de fosfolipídios prevenindo que as partículas de LDL-c sejam oxidadas (DURRINGTON, MACKNESS e MACKNESS, 2001; BARTER *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2010). Dessa forma, alguns estudos relataram que a atividade da PON-1 no soro apresenta-se diminuída em indivíduos com doenças cardiovasculares (DURRINGTON, MACKNESS e MACKNESS, 2001; JAYAKUMARI *et al.*, 2009).

A lipoproteína de alta densidade (HDL-c) facilita o transporte reverso do colesterol, assim, o excesso de colesterol proveniente dos tecidos periféricos é transferido para o plasma para ser reciclado ou excretado pelo fígado. Dessa forma, o HDL-c protege o endotélio vascular, pois apresenta uma ação antitrombótica e anti-inflamatória (LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003). As propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da HDL-c podem ser tão importantes como a sua função de efluxo do colesterol em termos de proteção contra o desenvolvimento de aterosclerose (BARTER *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo tem sido apontado como um fator relacionado com o desenvolvimento da aterosclerose, uma vez que a oxidação da partícula de LDL-c é um evento relevante na gênese do ateroma (LUSIS, 2000; LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003; STOCKER e KEANEY, 2004). Os monócitos migram para o espaço subendotelial induzido por proteínas quimiotáticas em que se diferenciam em macrófagos. No processo de ativação endotelial, ocorre a migração e proliferação de

macrófagos, facilitando a transmigração para o espaço subendotelial. A partícula oxidada é reconhecida por macrófagos, sendo que estes podem incorporar grandes quantidades de ox-LDL ficando ricos em conteúdo lipídico, formam-se, assim, as células espumosas e sua subsequente migração para a parede do vaso é essencial para o início da aterogênese (LUSIS, 2000; BROOK, 2008; PAWLAK, MYSLIWIEC e PAWLAK, 2012).

A interação entre monócitos e as células do endotélio vascular é mediada por moléculas de adesão vascular (VCAM) e intravascular (ICAM), e moléculas da superfície do endotélio do vaso. A liberação das moléculas de adesão é regulada por algumas citocinas, como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 4 (IL-4), interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon (INF- γ) (LIBBY, RIDKER e MASERI, 2002; LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003). Durante esse processo inflamatório, estas citocinas induzem a expressão dos genes hepáticos a sintetizarem proteínas de fase aguda, como, por exemplo, a proteína C reativa e o fibrinogênio (AMBERGER *et al.*, 1997; LIBBY, RIDKER e MASERI, 2002).

O processo inflamatório é desencadeado pela liberação na circulação de mediadores químicos originados nos tecidos lesados. As citocinas podem ser classificadas como pró e anti-inflamatórias. As citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, IL-6, IL-18 e TNF- α , estão envolvidas na iniciação e amplificação do processo inflamatório, enquanto que as citocinas classificadas como anti-inflamatórias, como, por exemplo, a IL-10 possui a capacidade de modular esses efeitos (SMITH *et al.*, 2001).

Nesse sentido, na disfunção endotelial, as citocinas se elevam e estimulam a produção de moléculas de adesão e conduzem a migração de mais leucócitos ao local de placa aterosclerótica, levando, assim, à formação de lesão aterosclerótica (LIBBY, RIDKER e MASERI, 2002; ARAUJO e NEL, 2009). A lesão endotelial aumenta a permeabilidade vascular possibilitando a sedimentação de placas de gordura nas camadas subendoteliais. Visto isso, o aumento do estresse oxidativo está relacionado com a fisiopatologia da disfunção endotelial (LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003).

A presença de ox-LDL induz a formação de anticorpos contra ox-LDL (ox-LDL-Ab) (TSIMIKAS *et al.*, 2007). Estudos com modelos animais reportaram que a imunização com o ox-LDL induziu a formação de anticorpos, o que suprimiu a aterogênese (AMELI *et al.*, 1996; BRIZZI *et al.*, 2004). Por outro lado, ainda não está

clara a função do anticorpo ox-LDL-Ab em seres humanos. Alguns estudos relataram que a resposta imune contra ox-LDL pode participar na modulação da aterosclerose atuando como um mecanismo preventivo ou apresentar efeitos pró-aterogênicos (SALONEN *et al.*, 1992; SHOJI *et al.*, 2000; PAAVOLA *et al.*, 2012).

A aterosclerose é definida como um processo inflamatório crônico que ocorre nas paredes das artérias levando à formação de placas com constituição lipídica e fibrosa, resultando no espessamento da parede do vaso, diminuição do diâmetro e, conseqüentemente, reduzindo o fluxo sanguíneo (LUSIS, 2000). As placas instáveis de ateroma são mais propensas à ruptura e, assim, podem levar à formação de trombos e obstrução súbita das artérias, causando acidente vascular cerebral ou infarto agudo do miocárdio (BERLINER *et al.*, 1997).

A evolução da lesão aterosclerótica é lenta. A *American Heart Association* padronizou e classificou os estágios das placas ateroscleróticas de acordo com a histologia, sendo que a sequência de progressão aumenta de acordo com o acúmulo de lipídeos, podendo ser classificadas do tipo I (inicial) até o tipo (IV) (LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003). A aterosclerose mantém-se subclínica até o momento de manifestação de complicações, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral ou morte súbita (LUZ, LAURINDO e CHAGAS, 2003). Nesse sentido, avaliações com a capacidade de diagnóstico precoce são extremamente importantes, pois geram informações que podem ser utilizadas para modificar a projeção de danos da doença.

A avaliação por ultrassonografia da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas (EIMC) tem sido sugerida como um método não invasivo para a avaliação da progressão da aterosclerose, pelo fato de detectar alterações precoces nas características da parede arterial (Figura 5) (BOTS e GROBBEE, 2002; KUNZLI *et al.*, 2005; DEVINE, CARLSON e TAYLOR, 2006; HIGA, 2009). As modificações na espessura da parede de vasos estão fortemente associadas com o risco de infarto agudo do miocárdio e outras doenças em indivíduos assintomáticos (O'LEARY *et al.*, 1999; BOTS e GROBBEE, 2002; DWYER *et al.*, 2004; NAIR, MALIK e KHATTAR, 2012).

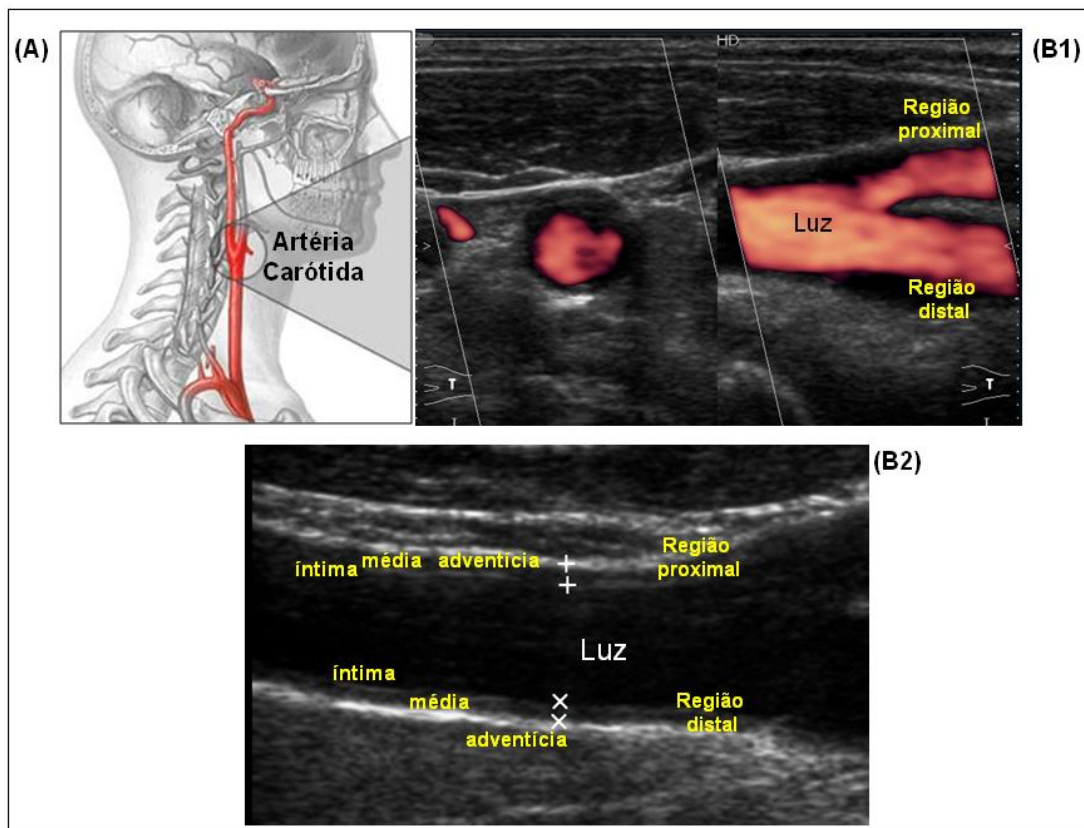


Figura 5. (A) Vista lateral identificando a artéria carótida comum (Adaptado de http://www.santagenoveva.com.br/santagenoveva/dicas_avc.htm e HIGA, 2009). (B1) Imagens de ultrassonografia da artéria carótida com a identificação das regiões proximal e distal e (B2) das camadas arteriais (íntima, média e adventícia).

Alguns marcadores são utilizados na clínica como preditores de risco para a doença cardiovascular. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a presença de níveis elevados de homocisteína no plasma são um fator de risco independente para doenças vasculares. A homocisteína pode sofrer auto-oxidação e gerar radicais livres contribuindo para a disfunção endotelial e o desenvolvimento de aterosclerose (DESAI *et al.*, 2001; MOHAN *et al.*, 2008; BOGDANSKI *et al.*, 2012).

Nesta linha, estudos clínico-laboratoriais são importantes para determinar a relação entre a exposição aos poluentes atmosféricos e a sua inter-relação com a função cardiovascular, analisando juntamente os tradicionais fatores de risco, como, por exemplo, a hipertensão, colesterol e diabetes. Além disso, investigações nessa área de pesquisa podem auxiliar na elucidação da relação entre a exposição ocupacional à poluição ambiental e patologias crônicas, adotando medidas preventivas visando à saúde do trabalhador.

1. Objetivo geral

Estudar o efeito da exposição ocupacional aos xenobióticos ambientais em motoristas de táxi através da quantificação de potenciais biomarcadores de exposição, mediadores inflamatórios e marcadores do estresse oxidativo, bem como avaliar a inter-relação da exposição com a função cardiovascular.

1.1. Objetivos específicos

- ❖ Quantificar a concentração de material particulado 2,5 μm , bem como a concentração de benzo[a]pireno e metais nas amostras coletadas no centro de Porto Alegre;
- ❖ Quantificar os níveis do biomarcador de exposição aos HPAs, 1-hidroxi-pireno, nos taxistas e em indivíduos controles;
- ❖ Quantificar os níveis de metais no sangue e soro de taxistas e indivíduos controles;
- ❖ Avaliar a função cardiovascular nos taxistas;
- ❖ Quantificar os biomarcadores de dano oxidativo e mediadores inflamatórios em taxistas e indivíduos controles;
- ❖ Verificar as diferenças nos níveis sanguíneos das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas em taxistas e indivíduos controles;
- ❖ Investigar as possíveis associações entre a avaliação cardíaca, os níveis do biomarcador 1-hidroxi-pireno, os biomarcadores do estresse oxidativo e inflamatórios, e a homocisteína;
- ❖ Avaliar a influência de comorbidades sobre o processo inflamatório em taxistas;
- ❖ Investigar se alguns metais podem contribuir com o processo inflamatório e/ou aterosclerose e a função renal.

PARTE II

CAPÍTULO I

Biomarkers of occupational exposure to air pollution, inflammation and oxidative damage in taxi drivers

Manuscrito publicado na revista *Science of the Total Environment*

(Sci Total Environ., v. 463-464, p. 884-893, 2013)

As seguintes páginas (58-64) foram excluídas porque correspondem ao manuscrito publicado na revista *Science of the Total Environment* (Sci Total Environ., v. 463-464, p. 884-893, 2013)

Este capítulo teve como objetivo avaliar se o biomarcador de exposição aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), 1-hidroxipireno, estava associado com os biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, e se estes efeitos poderiam modular o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares em trabalhadores expostos à poluição atmosférica. Para isto, foram avaliados 60 homens, não fumantes, sendo 39 taxistas e 21 indivíduos controles (sem exposição ocupacional aos poluentes ambientais). Neste trabalho, observou-se que os níveis de 1-hidroxipireno urinário estavam aumentados em taxistas em comparação com os indivíduos não expostos ocupacionalmente ($p < 0,05$), bem como foram correlacionados positivamente com os mediadores inflamatórios e negativamente com a atividade das enzimas antioxidantes.

Além disso, observou-se que os taxistas apresentaram maiores níveis de mediadores inflamatórios, marcadores de dano oxidativo, ox-LDL, ox-LDL-Ab e homocisteína, enquanto que as enzimas antioxidantes apresentaram menores níveis em comparação com os indivíduos não expostos ocupacionalmente aos poluentes ($p < 0,05$).

Em resumo, com os resultados deste estudo verificou-se que os taxistas apresentam uma maior exposição aos poluentes ambientais, aos HPAs, em relação aos indivíduos não expostos ocupacionalmente. Além disso, observou-se que esta exposição foi associada com os níveis elevados de biomarcadores inflamatórios, danos oxidativos, ox-LDL, ox-LDL-Ab e homocisteína, que representam importantes preditores de eventos cardiovasculares. Estes dados sugerem uma contribuição da exposição aos HPAs nas doenças cardiovasculares neste grupo de estudo.

CAPÍTULO II

**Atherosclerotic process in taxi drivers occupationally exposed to air pollution
and co-morbidities**

Manuscrito submetido para publicação na revista *Environmental Research*

As seguintes páginas (68-106) foram excluídas porque correspondem ao manuscrito submetido na revista *Environment Research*.

Este capítulo aborda o estudo dos possíveis efeitos da exposição ocupacional à poluição atmosférica, especialmente aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), e a influência de comorbidades no processo aterosclerótico e inflamatório em motoristas de táxi da cidade de Porto Alegre. Para isto, foram avaliados 58 taxistas com e sem comorbidades. Neste trabalho, observou-se que 15 % dos taxistas sem comorbidades apresentaram espessura da camada íntima média carotídea acima do valor de referência. Ainda, verificou-se que os níveis do biomarcador de exposição, 1-hidroxi-pireno urinário, foram correlacionados com a medida da espessura da camada íntima média carotídea e com os níveis de homocisteína. Além disso, a análise de regressão linear múltipla mostrou que diferentes fatores podem contribuir para o aumento da espessura da camada íntima média carotídea, entre os quais é possível destacar, a exposição aos HPAs, mediadores inflamatórios, idade e fibrinogênio.

Os resultados deste estudo destacam a importância da avaliação dos seguintes biomarcadores de efeito: homocisteína e a medida da espessura da camada íntima média carotídea, para aplicação como medidas preventivas no biomonitoramento da saúde dos motoristas que estão expostos ocupacionalmente aos poluentes ambientais.

CAPÍTULO III

Relationship between blood metals and inflammation in taxi drivers

Manuscrito a ser submetido para publicação na revista *Clinica Chimica Acta*

As seguintes páginas (110-134) foram excluídas porque correspondem ao manuscrito a ser submetido para publicação na revista *Clinica Chimica Acta*

Este capítulo aborda a importância de estudos relacionados com a identificação de potenciais agentes ambientais que podem atuar contribuindo para o processo inflamatório e aterosclerótico. Nesta linha, o objetivo deste capítulo foi avaliar se a exposição aos metais presentes no ambiente estava associada com o processo inflamatório e com alterações na função renal, contribuindo para o processo de aterosclerose. Para isto, foram avaliados 42 taxistas e 27 indivíduos controles (sem exposição ocupacional aos poluentes atmosféricos). Todos participantes eram homens, não fumantes e sem comorbidades.

Os resultados deste estudo mostraram que os taxistas apresentaram níveis de Hg, As, Pb e Cd elevados quando comparados ao grupo de indivíduos controles ($p < 0,05$), enquanto que os níveis de metais essenciais Se, Cu e Zn estavam diminuídos nos taxistas em relação aos controles ($p < 0,05$). Os níveis de Hg, As e Pb apresentaram associações positivas com o tempo de trabalho como taxistas (anos), mediadores inflamatórios, óxido nítrico e homocisteína e associação negativa com a atividade da glutatona peroxidase. Em relação a avaliação da função renal, observou-se diferença significativa entre os grupos somente nos níveis de N-acetil - beta-D-glucosaminidase (NAG). Os níveis de NAG estavam aumentados nos taxistas quando comparados aos controles ($p < 0,05$), além disso foram associados com os mediadores inflamatórios.

Com os resultados deste estudo, verificou-se que os níveis de Hg nos taxistas estavam acima dos limites recomendados pela OMS. Além disso, observou-se que os níveis de Hg e As mostraram associações importantes com processo inflamatório, status oxidativo e homocisteína, demonstrando que o estilo de vida dos taxistas e sua exposição ocupacional à poluição atmosférica podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares .

PARTE III

A poluição atmosférica vem recebendo especial atenção por órgãos regulamentadores diante do seu papel sobre o desenvolvimento e/ou agravamento de patologias humanas. Estudos sobre problemas respiratórios têm sido mais largamente desenvolvidos. Por outro lado, o papel de xenobióticos resultantes da contaminação ambiental e doenças cardiovasculares apresentam ainda muitas lacunas. Neste sentido, estudos avaliando potenciais agentes inflamatórios e/ou no processo da aterosclerose oriundos da poluição ambiental são importantes para avançar nesta linha.

Segundo a OMS, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo, sendo responsáveis por 17,3 milhões de mortes no ano de 2008, representando 30 % do número de mortes (WHO, 2011). Além disso, constituem uma das principais causas de permanência hospitalar prolongada, resultando em custos médicos e socioeconômicos elevados (LIN *et al.*, 2004; FARHAT *et al.*, 2005; TONNE *et al.*, 2010).

Os mecanismos responsáveis pelos efeitos adversos da poluição atmosférica ao sistema cardiovascular ainda são pouco esclarecidos. Estudos epidemiológicos têm relacionado a exposição prolongada ao material particulado presente na poluição atmosférica com efeitos inflamatórios (SCHAUMANN *et al.*, 2004; DELFINO *et al.*, 2009; ALEXEEFF *et al.*, 2011), pró-trombótico (BACCARELLI *et al.*, 2008), bem como associação com a disfunção endotelial através do aumento da espessura das camadas íntima e média das artérias (KUNZLI *et al.*, 2005; HOFFMANN *et al.*, 2007; IANNUZZI *et al.*, 2010). A inalação de partículas ambientais pode desencadear a geração de espécies reativas com uma subsequente ativação das vias oxidativas. O estresse oxidativo induz apoptose dessas células gerando processos inflamatórios (SORENSEN *et al.*, 2003; SCHAUMANN *et al.*, 2004; MILLS *et al.*, 2009; HUTTUNEN *et al.*, 2012). O envolvimento da resposta pró-inflamatória tem sido relatado como um fator de risco para alterações vasculares como a aterosclerose (LIBBY, RIDKER e MASERI, 2002).

Os motoristas de táxi foram selecionados devido a sua exposição ocupacional à poluição atmosférica. Esses profissionais possuem uma longa jornada de trabalho diário e estão expostos a uma mistura heterogênea de compostos tóxicos (ZAGURY, LE MOULLEC e MOMAS, 2000; BURGAZ *et al.*, 2002; LEWNE *et al.*, 2006; MANINI *et al.*, 2006; MILLER-SCHULZE *et al.*, 2010). Algumas pesquisas realizadas com motoristas profissionais apresentaram como objetivo identificar danos mutagênicos e

avaliação de dano oxidativo (HEMMINKI *et al.*, 1994; BURGAZ *et al.*, 2002; MANINI *et al.*, 2006). Diferentemente destes estudos citados, no presente trabalho, foram analisados diversos biomarcadores de exposição, inflamação, de dano oxidativo, dosagens de antioxidantes endógenos e exógenos, bem como avaliação cardiovascular para investigar a possível relação entre a exposição ocupacional aos poluentes urbanos e a função cardiovascular.

Adicionalmente, também foi realizado no mesmo período da coleta das amostras biológicas (Agosto e Setembro de 2011), a amostragem do MP_{2,5} presente no ambiente, bem como a quantificação de benzo[a]pireno e metais que estavam aderidos em sua superfície. Os resultados obtidos em relação à amostragem de MP_{2,5}, benzo[a]pireno e metais foram semelhantes aos relatados em trabalhos já realizados em Porto Alegre (DALLAROSA *et al.*, 2005; ANDRADE *et al.*, 2012; DE MIRANDA *et al.*, 2012). As concentrações registradas para o MP_{2,5} assim como para os metais (Hg, As, Pb e Cd) estavam abaixo do limite recomendado pela OMS no período amostrado, este fato pode estar relacionado com as condições meteorológicas registradas, tais como a precipitação de poluentes pela chuva (TEIXEIRA *et al.*, 2009). A concentração média de benzo[a]pireno foi de 1,0 ng/m³, isto é, o valor limite recomendado pela diretiva 2004/107/EC.

A análise da concentração dos metais (Hg, As, Pb e Cd) que estavam aderidos ao MP_{2,5} detectados neste estudo, foram semelhantes as concentrações encontradas em um trabalho anterior que avaliou seis capitais brasileiras, dentre elas, Porto Alegre (DE MIRANDA *et al.*, 2012). De acordo com a literatura, alguns metais, como por exemplo, Pb, Cr, Ni, Cd, V e Fe presentes no MP_{2,5} são originados de fontes antropogênicas, principalmente por poluentes emitidos por veículos automotores (BIRMILI *et al.*, 2006; GIODA *et al.*, 2011).

Nesse contexto, o monitoramento dos níveis de MP_{2,5}, benzo[a]pireno e metais em estações fixas no centro da cidade de Porto Alegre pode não refletir com precisão a exposição de cada indivíduo em relação à poluição causada pela exaustão dos veículos, mas são úteis para avaliar o risco de exposição em estudos populacionais. Assim, os dados da amostragem ambiental foram utilizados apenas para configurar e estimar os valores desses poluentes na área do estudo.

Os profissionais que trabalham em vias de grande fluxo de veículos apresentam uma exposição elevada ao material particulado (KNIBBS e MORAWSKA, 2012; WIEBERT *et al.*, 2012). Neste sentido, o biomonitoramento

através da quantificação de diferentes biomarcadores de exposição e efeito desempenha um papel importante para a prevenção de possíveis danos à saúde do trabalhador (ANGERER, EWERS e WILHELM, 2007; MARIE *et al.*, 2009; MANNO *et al.*, 2010; SILINS e HOGBERG, 2011). Baseado em estudos *in vitro* e *in vivo*, os mediadores inflamatórios e danos oxidativos estão relacionados como mecanismos de toxicidade cardiovascular causados pela exposição aos poluentes atmosféricos, especialmente os HPAs (VOGEL *et al.*, 2005; PEREIRA *et al.*, 2007; PODECHARD *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2009; YOSHIDA *et al.*, 2010; UMANNOVA *et al.*, 2011).

Os participantes deste estudo foram homens não fumantes e foram recrutados da mesma cidade, para que o estilo de vida fosse similar. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados em relação aos fatores avaliados no questionário. Neste contexto, foram analisados diversos biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo para avaliar os mecanismos fisiopatológicos relacionados com a exposição ocupacional aos poluentes atmosféricos, bem como a quantificação dos seguintes biomarcadores de exposição: 1-hidroxi pireno urinário e carboxihemoglobina sanguínea.

A quantificação da excreção urinária de 1-hidroxi pireno é sugerida por diversos trabalhos, com o objetivo de avaliar a exposição ocupacional ao HPAs (JONGENELEN *et al.*, 1988; SELLAPPA, MANI e KEYAN, 2011; DEMETRIOU *et al.*, 2012). Dessa forma, alguns autores também sugerem o uso deste biomarcador para estimar a exposição à poluição atmosférica, aos HPAs, relacionada com as emissões do tráfego veicular (MERLO *et al.*, 1998; HANSEN *et al.*, 2004; ROSSBACH *et al.*, 2007; HANSEN *et al.*, 2008; MARTINEZ-SALINAS *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2012; CIARROCCA *et al.*, 2013). No entanto, a excreção do 1-hidroxi pireno pode ser influenciada por alguns fatores como: estilo de vida dos indivíduos, os hábitos alimentares, bem como as diferentes concentrações de HPAs encontradas no ambiente de trabalho (HANSEN *et al.*, 2008; MARIE *et al.*, 2009). O tempo de meia-vida do 1-hidroxi pireno no organismo é aproximadamente de 18 horas, sugerindo que este biomarcador pode ser representativo do último turno de trabalho (CASTANO-VINYALS *et al.*, 2004). Em nosso estudo, foi observado maiores níveis de 1-hidroxi pireno em taxistas em comparação com o grupo de indivíduos não expostos ocupacionalmente aos poluentes ambientais, sugerindo uma maior exposição destes trabalhadores aos HPAs que estão presente na poluição atmosférica. Além disso, as concentrações urinárias de 1-hidroxi pireno,

neste estudo, foram similares aos resultados encontrados na literatura em pesquisas realizadas com trabalhadores expostos à poluição atmosférica (AUTRUP *et al.*, 1999; BURGAZ *et al.*, 2002; HANSEN *et al.*, 2004; CHETIYANUKORNKUL *et al.*, 2006; CHUANG e CHANG, 2007; PETCHPOUNG *et al.*, 2011).

Em relação à concentração de carboxihemoglobina no sangue, não se observou diferenças significativas quando foi comparado o grupo de taxistas com os controles, além de que, as concentrações estavam abaixo dos valores de referência. Neste trabalho, a quantificação de carboxihemoglobina no sangue não apresentou especificidade suficiente para ser utilizada com um biomarcador de exposição ambiental ao monóxido de carbono do ambiente, uma vez que todos os indivíduos estudados apresentaram valores semelhantes.

A fumaça proveniente do cigarro é uma importante fonte de exposição aos HPAs e metais. Assim, o tabagismo pode mascarar pequenas diferenças em relação à concentração de 1-hidroxipireno nos trabalhadores expostos à poluição atmosférica (CHUANG e CHANG, 2007; PETCHPOUNG *et al.*, 2011). Por isso, no intuito de avaliar a exposição à fumaça do cigarro foi analisada, a cotinina, que é o principal metabólito da nicotina, este biomarcador foi empregado para diferenciar indivíduos fumantes e não fumantes (TUOMI, JOHNSON e REIJULA, 1999). Os níveis de cotinina urinária dos participantes do estudo estavam de acordo com os níveis de indivíduos não fumantes, confirmando a resposta obtida pelo questionário.

A avaliação clínica revelou que alguns taxistas apresentaram comorbidades, então para evitar o viés de confusão em relação à predisposição a doenças cardiovasculares, os taxistas foram classificados em dois subgrupos: taxistas sem comorbidades e taxistas com comorbidades (hipertensos e/ou diabéticos). É importante ressaltar que alguns estudos relataram que indivíduos com comorbidades são mais vulneráveis às ações adversas ocasionadas pela exposição aos poluentes (ZANOBETTI e SCHWARTZ, 2002; O'NEILL *et al.*, 2005; DUBOWSKY *et al.*, 2006; PEREIRA FILHO *et al.*, 2008; SCHNEIDER *et al.*, 2010; RIOUX *et al.*, 2011), visto isso é relevante analisar também esses indivíduos.

Os taxistas são caracterizados por apresentarem altos níveis de estresse psicológico e uma vida sedentária devido à longa jornada de trabalho (MAROTTA *et al.*, 2011). As medidas antropométricas demonstraram que alguns taxistas participantes deste estudo foram classificados como obesos (IMC>30 Kg/m³). Adicionalmente, foi observado que os níveis de 1-hidroxipireno foram associados ao

IMC, isto é, indivíduos com níveis elevados de IMC apresentam uma diminuição na excreção do metabólito 1-hidroxipireno na urina, e estes resultados foram consistentes com a literatura (DHOOGHE *et al.*, 2010). Como esperado, a maioria dos indivíduos clinicamente obesos eram hipertensos e/ou diabéticos.

O perfil lipídico também foi avaliado para verificar a sua contribuição em eventos cardiovasculares. Em relação às análises bioquímicas, os taxistas apresentaram maiores níveis do LDL-c e triglicerídeos em comparação ao grupo controle, contudo os resultados estavam de acordo com os valores de referência (BURTIS *et al.*, 2008). O índice TC/HDL-c, considerado preditivo para a aterosclerose, apresentou-se elevado nos taxistas com comorbidades quando comparado com os valores de referência, bem como estava elevado quando comparado o grupo de taxistas com o grupo controle. O escore de Framingham foi utilizado para avaliar os fatores de risco tradicionais e auxiliar na identificação de indivíduos com risco para doença arterial coronariana. Como o esperado, os taxistas com comorbidades foram classificados com alto risco para eventos cardiovasculares.

Neste estudo foram avaliados alguns parâmetros envolvidos na coagulação sanguínea, como por exemplo, a contagem de plaquetas, níveis de fibrinogênio, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). Com relação aos parâmetros analisados, foram observadas alterações apenas em relação aos níveis de fibrinogênio nos taxistas com comorbidades e esse fato pode ser atribuído ao efeito adverso do diabetes. Nos demais grupos (taxistas sem comorbidades e grupo controle) não foram observadas diferenças significativas nestes parâmetros avaliados, e os níveis estavam de acordo com os valores de referência (BURTIS *et al.*, 2008). No entanto, Baccarelli e colaboradores (2008) reportaram que a exposição à poluição atmosférica pode desencadear alterações nos parâmetros de coagulação (BACCARELLI *et al.*, 2008). Assim, mais estudos são necessários a fim de elucidar a relação entre a exposição aos poluentes ambientais e os parâmetros de coagulação sanguínea.

A inalação do material particulado presente no ambiente pode induzir a geração de espécies reativas e processo inflamatório pulmonar, bem como aumentar a liberação de mediadores inflamatórios na circulação (SORENSEN *et al.*, 2003; MILLS *et al.*, 2009; HUTTUNEN *et al.*, 2012). Além disso, o processo de biotransformação dos xenobióticos presentes no ambiente pode desencadear efeitos tóxicos. Durante a biotransformação há formação de metabólitos reativos, como o

caso dos epóxidos e diol-epóxidos que podem promover a geração de espécies reativas e subseqüentemente causarem danos oxidativos e inflamação (CASTANO-VINYALS *et al.*, 2004). As membranas lipídicas das células representam um importante alvo das EROS, sendo vulneráveis ao ataque oxidativo. Em condições pró-oxidantes, a molécula LDL-c pode sofrer modificações gerando a LDL oxidada (ox-LDL) (AOKI *et al.*, 2012).

Neste estudo, observou-se que os níveis de ox-LDL e ox-LDL-Ab estavam aumentados nos taxistas em relação aos indivíduos controles (não expostos ocupacionalmente). Estes resultados estão de acordo com o estudo de Sharman e colaboradores (2002), o qual mostrou que trabalhadores expostos aos poluentes emitidos pelo tráfego veicular apresentavam um aumento na lipoperoxidação (SHARMAN *et al.*, 2002). No entanto, em nosso estudo os níveis de ox-LDL e ox-LDL-Ab não apresentaram diferença quando foi comparado os subgrupos de taxistas sem comorbidades e com comorbidades. Além disso, verificou-se uma associação positiva entre ox-LDL e ox-LDL-Ab, uma vez que ox-LDL induz a formação de anticorpos ox-LDL como a resposta imune contra ox-LDL na modulação da aterosclerose (TSIMIKAS *et al.*, 2007; AOKI *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2012).

A resposta imune observada através dos níveis aumentados de ox-LDL-Ab no soro dos taxistas corrobora a hipótese de que os anticorpos foram liberados a fim de combater a presença de ox-LDL (FUKUMOTO *et al.*, 2000; FERREIRA *et al.*, 2012). No entanto, Shoji e colaboradores (2000) relataram que os níveis de ox-LDL não são apenas regulados pelos anticorpos ox-LDL-Ab, isto é, enzimas presentes na molécula de HDL-c também podem estar envolvidas na regulação da concentração de ox-LDL (SHOJI *et al.*, 2000).

No presente estudo, foi observado que altos níveis séricos de HDL-c estavam associados a baixos níveis de ox-LDL e ox-LDL-Ab em taxistas. Estes resultados demonstraram uma capacidade de proteção do HDL-c contra a aterosclerose (BARTER *et al.*, 2004; MINEO *et al.*, 2006). Evidências indicam que o efeito protetor do HDL-c pode ser devido às enzimas antioxidantes presentes na molécula, como a paraoxonase (PON-1). A PON-1 pode exercer uma função protetora contra o processo oxidativo do LDL-c (MACKNESS *et al.*, 1998; BARTER *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2010). Neste estudo, foi observada uma associação entre os níveis de HDL-c e a atividade da enzima PON-1. Além disso, a atividade da enzima PON-1 estava aumentada nos taxistas com comorbidades quando comparados com os taxistas

sem comorbidades. Os nossos resultados estão de acordo com os descritos por Augusti e colaboradores (2012), no qual a elevação da atividade da enzima PON-1 em indivíduos hipercolesterolêmicos, foi atribuído ao mecanismo de proteção contra espécies oxidantes e progressão da placa aterosclerótica (AUGUSTI *et al.*, 2012).

Os níveis de ox-LDL foram correlacionados com os níveis de hs-CRP, o que demonstra o envolvimento da resposta inflamatória. Os níveis séricos de ox-LDL tem sido associados com a disfunção endotelial e indução da resposta inflamatória, a qual neste trabalho observou-se através do aumento dos níveis de hs-CRP que é uma proteína de fase aguda da inflamação. Estes marcadores de inflamação podem contribuir para o desenvolvimento de doença aterosclerótica na parede arterial (PAWLAK, MYSLIWIEC e PAWLAK, 2012).

Neste estudo, o grupo de taxistas apresentou maiores níveis de homocisteína e de hs-CRP em relação aos valores de referência (BURTIS *et al.*, 2008), bem como maiores níveis quando comparado com o grupo controle. Algumas pesquisas evidenciaram que níveis elevados de homocisteína no plasma foram associados com altas concentrações de MP_{2,5} no ambiente, sugerindo a quantificação da homocisteína como biomarcador de efeito do processo oxidativo das partículas sobre o sistema cardiovascular (DESAI *et al.*, 2001; PARK *et al.*, 2008). Além disso, os níveis de homocisteína foram associados com os biomarcadores de inflamação. A homocisteína é um fator de risco independente, podendo desencadear a disfunção endotelial e contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose (BOGDANSKI *et al.*, 2012). Dessa maneira, níveis elevados de homocisteína e ox-LDL representam resultados importantes em relação a previsão do risco de eventos cardiovasculares.

Em relação aos biomarcadores inflamatórios, os resultados deste estudo demonstraram que os taxistas apresentaram níveis aumentados de hs-CRP e citocinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α e INF- γ), enquanto que os níveis de IL-10 estavam reduzidos. Os resultados obtidos estão de acordo com outros trabalhos da literatura que reportaram associação entre exposição à poluição atmosférica e inflamação (ZEKA *et al.*, 2006; CHUANG e CHANG, 2007; RUCKERL *et al.*, 2007; DELFINO *et al.*, 2009; SCHNEIDER *et al.*, 2010; HUTTUNEN *et al.*, 2012). Porém, quando foram comparados os níveis de biomarcadores inflamatórios nos subgrupos de taxistas não se observou diferenças significativas. Além disso, foram observadas associações entre 1-hidroxipireno e os biomarcadores pró-inflamatórios IL-1 β , IL-6 e TNF- α , bem como a homocisteína. O aumento da concentração urinária do 1-

hidroxipireno acompanhado pelo aumento dos biomarcadores inflamatórios demonstra que a exposição à poluição atmosférica, especialmente aos HPAs, pode estar envolvida na resposta inflamatória. De acordo com a análise de regressão linear múltipla, observou-se que a excreção urinária de 1-hidroxipireno pode explicar o aumento nos níveis de IL-1 β e IL-6, enquanto que o 1-hidroxipireno apresentou uma tendência para explicar o aumento nos níveis de TNF- α .

O malondialdeído (MDA) é o principal produto da peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados e é utilizado como biomarcador plasmático de peroxidação lipídica ao dano oxidativo da membrana da célula (LASHERAS *et al.*, 2002). As proteínas são os principais componentes dos sistemas biológicos, o que representa outro alvo da ação das espécies reativas. O conteúdo de proteínas carboniladas (PCO) é amplamente utilizado como um marcador de dano oxidativo de proteínas (DALLE-DONNE *et al.*, 2003; VASCONCELOS *et al.*, 2007). No presente estudo, observou-se um aumento nos níveis plasmáticos de MDA e PCO em taxistas, o que indica que os indivíduos ocupacionalmente expostos aos poluentes apresentam danos oxidativos aos lipídios e proteínas (YOON *et al.*, 2012). Este resultado está de acordo com o estudo de Bagryantseva e colaboradores (2010), no qual foi demonstrado que os motoristas de ônibus expostos a altos níveis de poluição ambiental apresentaram danos oxidativos nas moléculas de lipídios, proteínas e DNA e estes biomarcadores de efeito apresentaram associação com os níveis de poluentes ambientais (BAGRYANTSEVA *et al.*, 2010). Adicionalmente, um estudo experimental verificou que ratos expostos a partículas urbanas do ar de Porto Alegre apresentaram dano oxidativo pulmonar (PEREIRA *et al.*, 2007).

Além disso, foram observados maiores níveis de óxido nítrico (NO) presente no soro dos taxistas em relação ao grupo controle não exposto. Tal resultado está de acordo com Lai e colaboradores (2005), que observaram uma elevação dos níveis de NO em motoristas profissionais não fumantes quando comparados aos homens não fumantes da comunidade (LAI *et al.*, 2005). Os níveis elevados de NO podem potencializar a lesão inflamatória em células vasculares (O'DONNELL e FREEMAN, 2001). No presente estudo, também se observou uma relação entre o índice de risco aterogênico (TC/HDL-c) e os níveis de MDA e PCO, corroborando o fato de que o estresse oxidativo é um evento importante durante a aterosclerose.

As enzimas antioxidantes CAT, GSH-Px e GST possuem a capacidade de proteger as células contra o dano induzido pelo estresse oxidativo, sendo capazes

de reduzir os níveis endógenos de espécies reativas circulantes (HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992). Além das enzimas, os antioxidantes não enzimáticos como os grupos tiólicos não proteicos também podem agir na prevenção de danos induzidos pelas espécies reativas. No presente trabalho, foi observado que a exposição aos poluentes ambientais pode atuar alterando a defesa antioxidante. As atividades das enzimas antioxidantes endógenas CAT, GSH-Px e GST estavam diminuídas, enquanto que a concentração de grupos tiólicos não proteicos estava aumentada no grupo de taxistas em relação ao grupo controle. Esta redução na atividade das enzimas endógenas ocorreu provavelmente como uma resposta de defesa contra o estresse oxidativo. Em relação ao aumento dos níveis de grupos tiólicos, sugere-se um mecanismo compensatório em resposta ao acúmulo de espécies reativas, com o objetivo de proteger as células (VALENTINI *et al.*, 2007; ROEHRS *et al.*, 2011). Apesar da concentração dos grupos tiólicos não proteicos estarem aumentados, não foi suficiente para proteger o sistema contra os danos oxidativos, uma vez que os níveis de MDA e PCO estavam elevados. A redução da atividade da enzima GSH-Px, bem como altos níveis de homocisteína são relacionadas como alterações precoces associadas com eventos cardiovasculares futuros (BLANKENBERG *et al.*, 2003; ESPINOLA-KLEIN *et al.*, 2007).

A GST também é uma enzima importante na fase II da biotransformação de xenobióticos, como os HPAs (CHUANG e CHANG, 2007). A atividade da enzima GST também estava diminuída nos taxistas. Além disso, foi observada uma associação negativa entre a atividade das enzimas CAT e GST com os níveis de 1-hidroxipireno, o que sugere que uma maior exposição dos taxistas aos HPAs, presentes como poluentes do ar, pode ser responsável pela diminuição da atividade das enzimas antioxidantes e que o excesso de espécies reativas poderia desencadear o dano oxidativo aos lipídios e proteínas. Neste estudo, também foi encontrada uma associação negativa entre as enzimas CAT, GSH-Px, GST e os mediadores inflamatórios. Esses resultados estão de acordo com a literatura (DELFINO *et al.*, 2009).

O desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a atividade antioxidante pode levar a níveis mais elevados de produtos de oxidação, e em longo prazo os danos oxidativos podem contribuir para o desenvolvimento de doenças crônicas (HALLIWELL, GUTTERIDGE e CROSS, 1992; DALLE-DONNE *et al.*, 2003;

LODOVICI *et al.*, 2003; HUANG *et al.*, 2012). Esta condição pode ser agravada nos motoristas profissionais, pois estes trabalhadores também estão expostos a situações de estresse psicológico no seu ambiente de trabalho. Portanto, fatores psicossociais também podem contribuir para o aumento dos níveis de biomarcadores do estresse oxidativo (MOLLER, WALLIN e KNUDSEN, 1996; MAROTTA *et al.*, 2011).

No presente estudo foi avaliado o potencial antioxidante da vitamina C, proveniente da dieta. Os níveis séricos da vitamina C estavam diminuídos nos taxistas em relação ao grupo controle e aos valores de referência (BURTIS *et al.*, 2008). Além disso, os níveis de vitamina C foram inversamente correlacionados com os níveis de ox-LDL, ox-LDL-Ab e PCO, sugerindo que a vitamina C poderia atenuar os efeitos do dano oxidativo (BAGRYANTSEVA *et al.*, 2010). A oxidação da LDL-c é um dos principais fatores envolvidos no desenvolvimento da aterosclerose, assim um sistema antioxidante eficaz parece ser importante para a prevenção dos efeitos tóxicos destes produtos (SALONEN *et al.*, 1992).

Adicionalmente, neste estudo, foram quantificados no plasma dos taxistas e do grupo controle, os níveis de antioxidantes exógenos não enzimáticos (retinol, β -caroteno, licopeno e α -tocoferol). Os níveis encontrados estavam de acordo com os valores de referência (BURTIS *et al.*, 2008), bem como não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados. Alguns autores sugerem que os antioxidantes presentes na dieta podem contribuir para a defesa do organismo contra danos oxidativos e inflamatórios (KELLY, 2004; HENNIG, OESTERLING e TOBOREK, 2007; ROEHRS *et al.*, 2011).

O endotélio é uma monocamada de células que constitui uma interface entre o sangue e a parede vascular, sendo um alvo sensível para a ação dos agentes tóxicos presentes na poluição atmosférica (HENNIG, OESTERLING e TOBOREK, 2007). Estudos têm relacionado o espessamento das camadas íntima e média das carótidas com a exposição em longo prazo ao material particulado (HOFFMANN *et al.*, 2007; ARAUJO e NEL, 2009; KUNZLI *et al.*, 2010). Assim, no presente estudo, foi realizada uma avaliação clínica cardiovascular através da medida da espessura das camadas íntima e média das artérias carótídeas (EIMC) nos taxistas. Essa avaliação juntamente com a quantificação de mediadores inflamatórios presentes na circulação foram utilizados como parâmetros para a determinação de possíveis complicações cardiovasculares.

Utilizando como limite máximo de 1 mm para os valores de EIMC normais, observou-se que 15 % dos taxistas sem comorbidades apresentavam valores de EIMC superior ao valor de referência. Ou seja, a avaliação da aterosclerose através do exame de ultrassom da carótida apresenta um valor adicional na estratificação de risco cardiovascular, além daquele fornecido pelo escore de Framingham (TORRES *et al.*, 2007) ou hiperhomocisteinemia. Ao comparar a medida da EIMC da artéria carótida nos grupos de taxistas estudados, foi possível observar maiores valores de EIMC no subgrupo de taxistas com comorbidades. Este resultado está de acordo com a literatura (O'LEARY *et al.*, 1999; LORENZ *et al.*, 2007), no qual descreve que indivíduos com diabetes apresentam um maior espessamento da parede arterial em comparação com indivíduos não diabéticos (WAGENKNECHT *et al.*, 1998; NAIR, MALIK e KHATTAR, 2012).

Estudos epidemiológicos mostraram que as anormalidades metabólicas causadas pelo diabetes pode induzir uma disfunção vascular predispondo a aterosclerose (OSTLING *et al.*, 2007; SCHNEIDER *et al.*, 2010; NAIR, MALIK e KHATTAR, 2012). Em vista disso, esses indivíduos são mais sensíveis aos efeitos adversos ao material particulado do ambiente (ALEXEEFF *et al.*, 2011). Os indivíduos que apresentam inflamação crônica ou fatores de risco já estabelecidos para doenças cardiovasculares podem apresentar uma maior suscetibilidade aos efeitos inflamatórios causados pela exposição aos poluentes ambientais (DUBOWSKY *et al.*, 2006).

Em nosso estudo, também se observou que alguns taxistas apresentavam placas ateroscleróticas nas carótidas. Lorenz e colaboradores (2007) relataram que os níveis de hs-CPR foram associados à extensão da placa aterosclerótica, mas não com os valores de EIMC. Esses achados corroboram com os nossos resultados, uma vez que também observou-se uma associação entre a presença de placa aterosclerótica e os níveis de hs-CPR (LORENZ *et al.*, 2007).

Neste estudo, observou-se que os valores de EIMC foram positivamente correlacionados com alguns fatores de risco como a idade, glicose, pressão arterial sistólica e diastólica, fibrinogênio, porém, não foi observada associação com fatores de risco tradicionais, como colesterol total, LDL-c e triglicérides. Essa falta de associação entre o perfil lipídico e EIMC pode indicar que outros fatores podem estar participando do processo de espessamento da parede arterial. De acordo com as análises de regressão linear múltipla considerando EIMC como variável dependente

e os fatores de risco como variáveis independentes observou-se que o modelo aplicado no estudo foi altamente preditivo para explicar os valores de EIMC. Entre os fatores avaliados, a idade, o fibrinogênio, a interleucina pró-inflamatória (IL-6) e o biomarcador de exposição, 1-hidroxipireno, foram os principais fatores envolvidos no aumento dos valores de EIMC.

Deve-se considerar que a exposição ocupacional, especialmente aos HPAs presente em ambientes urbanos, podem contribuir para o dano oxidativo, inflamação e alteração dos valores da EIMC. De acordo com Kunzli e colaboradores (2005), a exposição ambiental ao material particulado, em longo prazo, foi associado com o aumento dos valores de EIMC (KUNZLI *et al.*, 2005). Diversos estudos mostraram que a elevação dos valores da EIMC e o aumento dos mediadores inflamatórios na circulação, foram associados com um risco aumentado de eventos cardiovasculares (LORENZ *et al.*, 2007; DELFINO *et al.*, 2009; HUTTUNEN *et al.*, 2012).

Adicionalmente, os níveis da interleucina anti-inflamatória IL-10 apresentaram uma associação negativa com os valores de EIMC, sugerindo que a IL-10 pode estar agindo como um fator protetor sobre as camadas íntima e média das artérias (SMITH *et al.*, 2001). Além disso, a IL-10 atua modulando os níveis de citocinas pró-inflamatórias no soro, tais como IL-1 β , IL-6, TNF- α e INF- γ (SMITH *et al.*, 2001).

No intuito de investigar a exposição a outros xenobióticos ambientais, foi quantificado, neste estudo, os níveis de metais tóxicos e essenciais no sangue e soro dos taxistas e do grupo controle não exposto ocupacionalmente. Em relação aos resultados obtidos, os taxistas apresentaram maiores níveis sanguíneos de Hg, As, Pb e Cd em comparação ao grupo controle. Além disso, foram encontradas, em taxistas, concentrações sanguíneas de Hg acima dos limites recomendados pela OMS (WHO, 1996). Enquanto que os níveis dos micronutrientes Se, Cu e Zn no soro estavam diminuídos nos taxistas em relação ao grupo controle. No entanto, não foi encontrado indícios de deficiência ou excesso de metais essenciais, uma vez que todos os níveis encontrados estavam de acordo com os valores de referência (WHO, 1996; BURTIS *et al.*, 2008).

Embora a poluição atmosférica presente no ambiente urbano em que os taxistas estão expostos diariamente seja uma fonte de exposição aos metais, deve-se também considerar a importante contribuição de outras fontes de exposição, como por exemplo, a ingestão de água e alimentos contaminados por metais (THRON, 1996; HONG *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2013). De acordo com Wang e

colaboradores (2008), a exposição simultânea de diferentes metais presentes no ambiente pode desencadear interações aditivas e/ou sinérgicas (WANG e FOWLER, 2008). No entanto, no presente estudo, não foi estabelecida a principal fonte de contaminação por metais neste grupo de estudo, sendo esta uma limitação do trabalho.

Neste estudo, observou-se associações entre a concentração sanguínea de Hg, As e Pb com o número de anos de trabalho como taxista, elevação dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α), NO e homocisteína, um fator de risco independente para aterosclerose. Além disso, verificou-se uma associação entre a presença destes metais no sangue com a enzima antioxidante endógena (GSH-Px), sugerindo que a presença de elevadas concentrações de elementos tóxicos no sangue também podem induzir o aumento de mediadores inflamatórios e homocisteína, bem como alterações no status oxidativo, que representam importantes preditores de eventos cardiovasculares, como por exemplo, a aterosclerose.

Estudos toxicológicos mostraram que indivíduos expostos a altas concentrações de metais apresentam alterações na função renal (WEAVER *et al.*, 2003; BERNARD, 2004; SILINS e HOGBERG, 2011; SABATH e ROBLES-OSORIO, 2012; HAMBACH *et al.*, 2013; REYES *et al.*, 2013). O primeiro sinal de lesão renal é normalmente a disfunção tubular evidenciado por um aumento da excreção de proteínas de baixo peso molecular, que progride para uma diminuição da taxa de filtração glomerular (KAMPA e CASTANAS, 2008). Neste sentido, foi avaliada a função renal através da quantificação de biomarcadores de rotina, como por exemplo, a uréia e o ácido úrico, bem como biomarcadores para avaliação de dano precoce glomerular (microalbuminúria) e tubular (NAG). No entanto, apesar dos níveis de microalbuminúria estarem aumentados nos taxistas não foi observado diferença significativa quando foi comparado com o grupo controle. Por outro lado, observou-se um aumento significativo nos níveis de NAG nos taxistas em relação ao grupo controle. Tal resultado está de acordo com a literatura (MORTADA *et al.*, 2001). Além disso, foram observadas associações entre os mediadores inflamatórios e os níveis de NAG, o que demonstra que a elevação nos níveis de mediadores inflamatórios sistêmicos pode estar relacionada com danos nas células tubulares.

Nosso estudo demonstrou que a exposição ocupacional a poluentes atmosféricos, especialmente HPAs, pelo tráfego veicular urbano, avaliada pela

quantificação do biomarcador de exposição, 1-hidroxi pireno, pode levar a um aumento de mediadores inflamatórios, diminuição dos mecanismos de defesa antioxidante, bem como o excesso de espécies reativas, levando a danos oxidativos aos lipídios e proteínas. Nesta linha, um sistema antioxidante eficiente parece ser importante para a prevenção de efeitos tóxicos resultantes da exposição a xenobióticos ambientais (SALONEN *et al.*, 1992). Neste contexto, o estresse oxidativo e a depleção do sistema antioxidante, assim como o processo inflamatório crônico estão associados com o risco aumentado de doenças cardiovasculares (DHALLA, TEMSAH e NETTICADAN, 2000; RUCKERL *et al.*, 2007).

Nossos resultados corroboram com a hipótese de que a exposição ocupacional crônica à poluição atmosférica, relacionada com o tráfego veicular, afeta a saúde cardiovascular. Entretanto, a contaminação ambiental por outras vias de exposição, especialmente para metais, não foram avaliados neste trabalho.

A investigação dos efeitos adversos, avaliados através da detecção de biomarcadores de exposição e de biomarcadores de efeito, enfatiza a importância da detecção precoce de sinais de saúde vascular prejudicada, como no caso da aterosclerose. Além disso, incentiva a implementação de estratégias preventivas para promover mudanças de estilo de vida em indivíduos predispostos, como os motoristas de táxi. Diversos fatores de risco estão associados às doenças cardiovasculares, porém observou-se, neste estudo, que a exposição ocupacional crônica à poluição atmosférica, principalmente aos HPAs, pode estar envolvida no aumento de substâncias pró-oxidante e pró-inflamatórias. Dessa forma, os taxistas com e sem comorbidades podem ser mais propensos ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose, o que foi observado através da medida da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas, bem como a quantificação de preditores de risco cardíaco.

Os resultados das análises dos biomarcadores propostos neste trabalho, representam um reflexo da saúde desses trabalhadores, assim como fornecem informações sobre aplicação do biomonitoramento em outras categorias de trabalhadores expostos ocupacionalmente aos poluentes ambientais, como por exemplo, os controladores de trânsito, carteiros e motoristas de ônibus, uma vez que pesquisas que abordam exposição ocupacional humana a diferentes xenobióticos presentes como poluentes ambientais são muito limitadas.

Diante dos resultados, este trabalho demonstrou o papel da poluição contribuindo com a inflamação/aterosclerose que representam importantes preditores para eventos cardiovasculares. No entanto, mais pesquisas ainda são necessárias a fim de acompanhar a aplicação destas estratégias em análises de rotina a um maior número de trabalhadores, com o objetivo de identificar os sinais biológicos indicativos de danos celulares, até mesmo com exposição a baixas concentrações de diferentes xenobióticos presentes no ambiente. No intuito de auxiliar na prevenção de doenças relacionadas com a exposição de xenobióticos no local de trabalho e reforçar a necessidade de controlar e regular as fontes potenciais de contaminação por poluentes.

- Apesar dos níveis de MP_{2.5}, benzo[a]pireno e metais estarem abaixo do preconizado pelas diretrizes internacionais, observou-se alterações no sistema biológico dos taxistas ocupacionalmente expostos aos poluentes atmosféricos por um longo período.
- Verificou-se que os taxistas apresentaram aumento nos biomarcadores inflamatórios, aumento na oxidação de lipídios e proteínas, elevação dos níveis de óxido nítrico, alterações na atividade de enzimas antioxidantes endógenas e tióis não proteicos, diminuição nos níveis de vitamina C, assim como aumento nos níveis de ox-LDL, ox-LDL-Ab e homocisteína. Tais resultados sugerem que a exposição ocupacional aos poluentes ambientais contribuem para o desenvolvimento de danos oxidativos e inflamatórios.
- O aumento da concentração urinária do 1-hidroxi-pireno foi diretamente associado com o aumento dos biomarcadores pró-inflamatórios e homocisteína, e ainda ao aumento da espessura da camada íntima média carotídea, corroborando com a hipótese que os poluentes ambientais contribuem para o processo inflamatório e aterosclerótico, observado neste grupo de estudo.
- Este estudo relata que a exposição aos HPAs, Hg, As e Pb contribuiu com o processo inflamatório e aterosclerótico e, portanto, com doenças cardiovasculares em taxistas expostos ocupacionalmente à poluição. Além disso, foi evidenciado que o status oxidativo estava envolvido neste processo.
- A concentração de Hg sanguíneo estava acima dos limites estabelecidos pela OMS nos taxistas estudados, bem como foram associados com inflamação e aterosclerose, porém outras fontes de exposição ambiental a este xenobiótico precisam ser investigadas.
- Os taxistas avaliados estão mais propensos a apresentar doenças crônicas, como aterosclerose, relacionadas as múltiplas interações da exposição ocupacional e ambiental à poluição atmosférica. Diante dos resultados, este trabalho demonstrou que a poluição pode atuar contribuindo com o processo de inflamação/aterosclerose que representam importantes preditores para eventos cardiovasculares.

- Investigar a associação entre os biomarcadores de exposição e alterações na atividade da enzima NTPDase nas plaquetas dos indivíduos expostos ocupacionalmente aos poluentes ambientais.
- Avaliar *in vitro* os possíveis efeitos deletérios do material particulado sobre o endotélio, utilizando células endoteliais humanas (HUVEC) tratadas com solução aquosa extraída de filtros contendo MP_{2,5}, os quais foram coletados previamente na cidade de Porto Alegre.
- Avaliar, através de questionário, se os hábitos de vida dos taxistas podem explicar o aumento sanguíneo de Hg e As, independente da poluição atmosférica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL BAKHEET, S. A. et al. Effect of long-term human exposure to environmental heavy metals on the expression of detoxification and DNA repair genes. **Environ Pollut**, v. 181, p. 226-32, 2013.

ALEXEEFF, S. E. et al. Medium-term exposure to traffic-related air pollution and markers of inflammation and endothelial function. **Environ Health Perspect**, v. 119, n. 4, p. 481-6, 2011.

ALQUIMIM, A. F. et al. Evaluation of labor-related and physical risk factors for cardiovascular disease in drivers of urban transport buses in Montes Claros in the state of Minas Gerais. **Cien Saude Colet**, v. 17, n. 8, p. 2151-8, 2012.

ALVES, C.; SCOTTO, M.; FREITAS, M. Air pollution and emergency admissions for cardiorespiratory diseases in Lisbon **Quím Nova**, v. 33, n. 2, p. 337-344 2010.

AMBERGER, A. et al. Co-expression of ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 and Hsp60 in human arterial and venous endothelial cells in response to cytokines and oxidized low-density lipoproteins. **Cell Stress Chaperones**, v. 2, n. 2, p. 94-103, 1997.

AMELI, S. et al. Effect of immunization with homologous LDL and oxidized LDL on early atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 16, n. 8, p. 1074-9, 1996.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 90, n. 17, p. 7915-22, 1993.

AMORIM, L. O uso dos biomarcadores na avaliação da exposição ocupacional a substâncias químicas. **Revis Bras Med Trab**, v. 1, n. 2, p.124-32, 2003.

ANDRADE, M. D. et al. Vehicle emissions and PM(2.5) mass concentrations in six Brazilian cities. **Air Qual Atmos Health**, v. 5, n. 1, p. 79-88, 2012.

ANDRE, P. A. et al. Lean diesel technology and human health: a case study in six Brazilian metropolitan regions. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 67, n. 6, p. 639-46, 2012.

ANGERER, J.; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring: state of the art. **Int J Hyg Environ Health**, v. 210, n. 3-4, p. 201-28, 2007.

ANGERER, J.; MANNSCHRECK, C.; GUNDEL, J. Biological monitoring and biochemical effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 70, n. 6, p. 365-77, 1997.

AOKI, T. et al. Increased LDL susceptibility to oxidation accelerates future carotid artery atherosclerosis. **Lipids Health Dis**, v. 11, p. 4, 2012.

ARAUJO, J. A.; NEL, A. E. Particulate matter and atherosclerosis: role of particle size, composition and oxidative stress. **Part Fibre Toxicol**, v. 6, p. 24, 2009.

ATSDR (2006) Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Agency for toxic substances and diseases registry, Atlanta.

AUGUSTI, P. R. et al. Imbalance in superoxide dismutase/thioredoxin reductase activities in hypercholesterolemic subjects: relationship with low density lipoprotein oxidation. **Lipids Health Dis**, v. 11, n. 1, p. 79, 2012.

AUTRUP, H. et al. Biomarkers for exposure to ambient air pollution--comparison of carcinogen-DNA adduct levels with other exposure markers and markers for oxidative stress. **Environ Health Perspect**, v. 107, n. 3, p. 233-8, 1999.

BACCARELLI, A. et al. Exposure to particulate air pollution and risk of deep vein thrombosis. **Arch Intern Med**, v. 168, n. 9, p. 920-7, 2008.

BAGRYANTSEVA, Y. et al. Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms. **Toxicol Lett**, v. 199, n. 1, p. 60-8, 2010.

BAKONYI, S. M. et al. Air pollution and respiratory diseases among children in the city of Curitiba, Brazil. **Rev Saude Publica**, v. 38, n. 5, p. 695-700, 2004.

BAO, B. et al. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 6, p. 1634-41, 2010.

BARTER, P. J. et al. Antiinflammatory properties of HDL. **Circ Res**, v. 95, n. 8, p. 764-72, 2004.

BATTISTON, M.; CRUZ, R.; HOFFMANN, M. Condições de trabalho e saúde de motoristas de transporte urbano coletivo. **Estud Psicol (Natal)**, v. 11, n. 3, p. 333-343, 2006.

BERLINER, J. et al. Oxidized lipids in atherogenesis: formation, destruction and action. **Thromb Haemost**, v. 78, n. 1, p. 195-9, 1997.

BERNARD, A. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. **Biometals**, v. 17, n. 5, p. 519-23, 2004.

BHATNAGAR, A. Environmental cardiology: studying mechanistic links between pollution and heart disease. **Circ Res**, v. 99, n. 7, p. 692-705, 2006.

BIRMILI, W. et al. Trace metal concentrations and water solubility in size-fractionated atmospheric particles and influence of road traffic. **Environ Sci Technol**, v. 40, n. 4, p. 1144-53, 2006.

BLANKENBERG, S. et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **N Engl J Med**, v. 349, n. 17, p. 1605-13, 2003.

BOFFETTA, P.; JOURENKOVA, N.; GUSTAVSSON, P. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Cancer Causes Control**, v. 8, n. 3, p. 444-72, 1997.

BOGDANSKI, P. et al. Plasma total homocysteine is a determinant of carotid intima-media thickness and circulating endothelial progenitor cells in patients with newly diagnosed hypertension. **Clin Chem Lab Med**, v. 50, n. 6, p. 1107-13, 2012. |

BONETTA, S. et al. DNA damage in A549 cells exposed to different extracts of PM(2.5) from industrial, urban and highway sites. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 1030-4, 2009.

BONO, R. et al. Urban air quality and carboxyhemoglobin levels in a group of traffic policemen. **Sci Total Environ**, v. 376, n. 1-3, p. 109-15, 2007.

BOTS, M. L.; GROBBEE, D. E. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. **Cardiovasc Drugs Ther**, v. 16, n. 4, p. 341-51, 2002.

BRIZZI, P. et al. Autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) and LDL oxidation status. **Clin Chem Lab Med**, v. 42, n. 2, p. 164-70, 2004.

BROOK, R. D. Cardiovascular effects of air pollution. **Clin Sci (Lond)**, v. 115, n. 6, p. 175-87, 2008.

BROOK, R. D. et al. Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. **Circulation**, v. 109, n. 21, p. 2655-71, 2004.

BURGAZ, S. et al. Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of traffic policemen and taxi drivers exposed to urban air pollution. **Chemosphere**, v. 47, n. 1, p. 57-64, 2002.

BURNETT, R. T. et al. Association between particulate- and gas-phase components of urban air pollution and daily mortality in eight Canadian cities. **Inhal Toxicol**, v. 12 Suppl 4, p. 15-39, 2000.

BURTIS, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D.E. **Tietz-Fundamentos de Clínica Química**. 6° ed. São Paulo: Elsevier; 2008.

CANÇADO, J. et al. Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica. **J Bras Pneumol**, v. 32, p. S5-S11, 2006.

CASTANO-VINYALS, G. et al. Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental air pollution. **Occup Environ Med**, v. 61, n. 4, p. e12, Apr 2004.

CHEN, R. et al. Ambient air pollution and hospital admission in Shanghai, China. **J Hazard Mater**, v. 181, n. 1-3, p. 234-40, 2010.

CHEN, T. et al. Beijing ambient particle exposure accelerates atherosclerosis in ApoE knockout mice. **Toxicol Lett**, v. 223, n. 2, p. 146-153, 2013.

CHETIYANUKORNKUL, T. et al. Simultaneous determination of urinary hydroxylated metabolites of naphthalene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene as multiple biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Anal Bioanal Chem**, v. 386, n. 3, p. 712-8, 2006.

CHUANG, C. Y.; CHANG, C. C. Urinary 1-hydroxypyrene level relative to vehicle exhaust exposure mediated by metabolic enzyme polymorphisms. **J Occup Health**, v. 49, n. 2, p. 140-51, 2007.

CIARROCCA, M. et al. Is urinary 1-hydroxypyrene a valid biomarker for exposure to air pollution in outdoor workers? A meta-analysis. **J Expo Sci Environ Epidemiol**, 2013.

COLOMBINI, M. Poluição atmosférica e seu impacto no sistema cardiovascular. **Einstein (São Paulo)**, v. 6, n. 2, p. 221-226, 2008.

CONAMA-Conselho Nacional do Meio Ambiente; Resoluções CONAMA, 1992. Dispõe sobre padrões de qualidade do ar.

CURFS, D. M. et al. Chronic exposure to the carcinogenic compound benzo[a]pyrene induces larger and phenotypically different atherosclerotic plaques in ApoE-knockout mice. **Am J Pathol**, v. 164, n. 1, p. 101-8, 2004.

CURTIS, L. et al. Adverse health effects of outdoor air pollutants. **Environ Int**, v. 32, n. 6, p. 815-30, 2006.

DALLAROSA, J. et al. Study of the profile of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particles (PM10) using multivariate methods. **Atmos Environ**, v. 39, p. 6587-6596, 2005.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clin Chim Acta**, v. 329, n. 1-2, p. 23-38, 2003.

DAUMAS, R. P. et al. Air pollution and mortality in the elderly in Rio de Janeiro: a time-series analysis. **Cad Saude Publica**, v. 20, n. 1, p. 311-9, 2004.

DE MIRANDA, R. M. et al. Urban air pollution: a representative survey of PM(2.5) mass concentrations in six Brazilian cities. **Air Qual Atmos Health**, v. 5, n. 1, p. 63-77, 2012.

DE PAULA SANTOS, U. 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. **Eur Heart J**, v. 26, n. 2, p. 193-200, 2005.

DELFINO, R. J. et al. Air pollution exposures and circulating biomarkers of effect in a susceptible population: clues to potential causal component mixtures and mechanisms. **Environ Health Perspect**, v. 117, n. 8, p. 1232-8, 2009.

DELFINO, R. J.; STAIMER, N.; VAZIRI, N. D. Air pollution and circulating biomarkers of oxidative stress. **Air Qual Atmos Health**, v. 4, n. 1, p. 37-52, 2011.

DEMETRIOU, C. A. et al. Biomarkers of ambient air pollution and lung cancer: a systematic review. **Occup Environ Med**, v. 69, n. 9, p. 619-27, 2012.

DESAI, A. et al. Homocysteine augments cytokine-induced chemokine expression in human vascular smooth muscle cells: implications for atherogenesis. **Inflammation**, v. 25, n. 3, p. 179-86, 2001.

DEVINE, P. J.; CARLSON, D. W.; TAYLOR, A. J. Clinical value of carotid intima-media thickness testing. **J Nucl Cardiol**, v. 13, n. 5, p. 710-8, 2006.

DHALLA, N. S.; TEMSAH, R. M.; NETTICADAN, T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. **J Hypertens**, v. 18, n. 6, p. 655-73, 2000.

DHOOGE, W. et al. Internal exposure to pollutants and body size in Flemish adolescents and adults: associations and dose-response relationships. **Environ Int**, v. 36, n. 4, p. 330-7, 2010.

DIEZ ROUX, A. V. et al. Long-term exposure to ambient particulate matter and prevalence of subclinical atherosclerosis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Am J Epidemiol**, v. 167, n. 6, p. 667-75, 2008.

Directive 2004/107/EC of the European Parliament and of the Council of 15 December 2004 relating to arsenic, cadmium, mercury, nickel and PAH in ambient.

DUBOWSKY, S. D. et al. Diabetes, obesity, and hypertension may enhance associations between air pollution and markers of systemic inflammation. **Environ Health Perspect**, v. 114, n. 7, p. 992-8, 2006.

DURRINGTON, P. N.; MACKNESS, B.; MACKNESS, M. I. Paraoxonase and atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 21, n. 4, p. 473-80, 2001.

DWYER, J. H. et al. Progression of carotid intima-media thickness and plasma antioxidants: the Los Angeles Atherosclerosis Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 24, n. 2, p. 313-9, 2004.

EPTC, 2012. Empresa Pública de transporte e circulação, <http://www2.portoalegre.rs.gov.br/eptc/> Acessado em 09/09/2013.

ESPINOLA-KLEIN, C. et al. Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis. **Am J Cardiol**, v. 99, n. 6, p. 808-12, 15 2007.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radic Biol Med**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.

FANG, S. C.; CASSIDY, A.; CHRISTIANI, D. C. A systematic review of occupational exposure to particulate matter and cardiovascular disease. **Int J Environ Res Public Health**, v. 7, n. 4, p. 1773-806, 2010.

FARHAT, S. C. et al. Effect of air pollution on pediatric respiratory emergency room visits and hospital admissions. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, n. 2, p. 227-35, 2005.

FERREIRA, P. F. et al. Oxidized low-density lipoproteins and their antibodies: relationships with the reverse cholesterol transport and carotid atherosclerosis in adults without cardiovascular diseases. **Clin Chim Acta**, v. 413, p. 1472-8, 2012.

FRANCHINI, M.; MANNUCCI, P. M. Air pollution and cardiovascular disease. **Thromb Res**, v. 129, n. 3, p. 230-4, 2012.

FREITAS, A.; SOLCI, M. Caracterização do MP10 e MP2,5 e distribuição por tamanho de cloreto, nitrato e sulfato em atmosfera urbana e rural de Londrina. **Quím Nova**, v. 32, n. 7, p. 1750-1754, 2009.

FRITSCHI, L. Shift work and cancer. **BMJ**, v. 339, p. b2653, 2009.

FUENTES-MATTEI, E. et al. Use of human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) to study immunological markers resulting from exposure to PM(2.5) organic extract from Puerto Rico. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 243, n. 3, p. 381-9, 2010.

FUKUMOTO, M. et al. Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20, n. 3, p. 703-7, 2000.

GIODA, A. et al. Chemical composition, sources, solubility, and transport of aerosol trace elements in a tropical region. **J Environ Monit**, v. 13, n. 8, p. 2134-42, 2011.

GIODA, A., GIODA, F.R. A influência da qualidade do ar nas doenças respiratórias. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 7, 2006.

GRASS, D. S. et al. Airborne particulate metals in the New York City subway: a pilot study to assess the potential for health impacts. **Environ Res**, v. 110, n. 1, p. 1-11, 2010.

GUPTA, I.; SALUNKHE, A.; KUMAR, R. Modelling 10-year trends of PM10 and related toxic heavy metal concentrations in four cities in India. **J Hazard Mater**, v. 179, n. 1-3, p. 1084-95, 2010.

GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Ann N Y Acad Sci**, v. 899, p. 136-47, 2000.

HALLIWELL, B.; CROSS, C. E. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environ Health Perspect**, v. 102 Suppl 10, p. 5-12, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M.; CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? **J Lab Clin Med**, v. 119, n. 6, p. 598-620, 1992.

HAMBACH, R. et al. Co-exposure to lead increases the renal response to low levels of cadmium in metallurgy workers. **Toxicol Lett**, v. 222, n. 2, p. 233-8, 2013.

HANSEN, A. M. et al. Urinary 1-hydroxypyrene (1-HP) in environmental and occupational studies-a review. **Int J Hyg Environ Health**, v. 211, n. 5-6, p. 471-503, 2008.

HANSEN, A. M. et al. Urinary 1-hydroxypyrene and mutagenicity in bus drivers and mail carriers exposed to urban air pollution in Denmark. **Mutat Res**, v. 557, n. 1, p. 7-17, 2004.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **J Trace Elem Med Biol**, v. 18, n. 4, p. 309-18, 2005.

HEMMINKI, K. et al. Exposure of bus and taxi drivers to urban air pollutants as measured by DNA and protein adducts. **Toxicol Lett**, v. 72, n. 1-3, p. 171-4, 1994.

HENNIG, B.; OESTERLING, E.; TOBOREK, M. Environmental toxicity, nutrition, and gene interactions in the development of atherosclerosis. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 17, n. 2, p. 162-9, 2007.

HENNIG, B. et al. Nutrition can modulate the toxicity of environmental pollutants: implications in risk assessment and human health. **Environ Health Perspect**, v. 120, n. 6, p. 771-4, 2012.

HIGA, Mauricio. Métodos para quantificação da artéria carótida em imagens de ultrassom modo-B e Doppler. 2009. Dissertação (Mestrado em Sistemas Eletrônicos) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3142/tde-11082010-163813/>>. Acesso em: 2013-11-02.

HOFFMANN, B. et al. Residential exposure to traffic is associated with coronary atherosclerosis. **Circulation**, v. 116, n. 5, p. 489-96, 2007.

HONG, D. et al. Hair mercury level in smokers and its influence on blood pressure and lipid metabolism. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 36, n. 1, p. 103-7, 2013.

HUANG, H. B. et al. Exposure to heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage in taiwanese traffic conductors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 22, n. 1, p. 102-8, 2013.

HUANG, H. B. et al. Traffic-related air pollution and DNA damage: a longitudinal study in Taiwanese traffic conductors. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e37412, 2012.

HUTTUNEN, K. et al. Low-level exposure to ambient particulate matter is associated with systemic inflammation in ischemic heart disease patients. **Environ Res**, v. 116, p. 44-51, 2012.

IANNUZZI, A. et al. Air pollution and carotid arterial stiffness in children. **Cardiol Young**, v. 20, n. 2, p. 186-90, 2010.

IARC, Polynuclear aromatic compounds. Part 1. Chemical, environmental and experimental data. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 32, 1998.

IARC, Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 92, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2010.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, <http://www.ibge.gov.br>.

JARUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **Br Med Bull**, v. 68, p. 167-82, 2006.

JAYAKUMARI, N. et al. High prevalence of low serum paraoxonase-1 in subjects with coronary artery disease. **J Clin Biochem Nutr**, v. 45, n. 3, p. 278-84, 2009.

JONGENEELLEN, F. J. et al. 1-Hydroxypyrene in urine as a biological indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in several work environments. **Ann Occup Hyg**, v. 32, n. 1, p. 35-43, 1988.

KLASSEN, C.D., WATKINS J.B.III. **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. 2° ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

KAMPA, M.; CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. **Environ Pollut**, v. 151, n. 2, p. 362-7, 2008.

KELLY, F. J. Dietary antioxidants and environmental stress. **Proc Nutr Soc**, v. 63, n. 4, p. 579-85, 2004.

KNAAPEN, A. M. et al. The environmental carcinogen benzo[a]pyrene induces expression of monocyte-chemoattractant protein-1 in vascular tissue: a possible role in atherogenesis. **Mutat Res**, v. 621, n. 1-2, p. 31-41, 2007.

KNIBBS, L. D.; MORAWSKA, L. Traffic-related fine and ultrafine particle exposures of professional drivers and illness: an opportunity to better link exposure science and epidemiology to address an occupational hazard? **Environ Int**, v. 49, p. 110-4, 15 2012.

KUNZLI, N. et al. Ambient air pollution and the progression of atherosclerosis in adults. **PLoS One**, v. 5, n. 2, p. e9096, 2010.

KUNZLI, N. et al. Ambient air pollution and atherosclerosis in Los Angeles. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 2, p. 201-6, 2005.

LAI, C. H. et al. Exposure to traffic exhausts and oxidative DNA damage. **Occup Environ Med**, v. 62, n. 4, p. 216-22, 2005.

LASHERAS, C. et al. Independent and interactive association of blood antioxidants and oxidative damage in elderly people. **Free Radic Res**, v. 36, n. 8, p. 875-82, 2002.

LEWNE, M. et al. Exposure to particles and nitrogen dioxide among taxi, bus and lorry drivers. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 79, n. 3, p. 220-6, 2006.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 9, p. 1135-43, 2002.

LIN, C. A. et al. Air pollution and neonatal deaths in Sao Paulo, Brazil. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 5, p. 765-70, 2004.

LODOVICI, M. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons air levels in Florence, Italy, and their correlation with other air pollutants. **Chemosphere**, v. 50, n. 3, p. 377-82, Jan 2003.

LOGAN, W. P. Mortality in the London fog incident, 1952. **Lancet**, v. 1, n. 6755, p. 336-8, 1953.

LORENZ, M. W. et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. **Circulation**, v. 115, n. 4, p. 459-67, 2007.

LUSIS, A. J. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, n. 6801, p. 233-41, 2000.

LUZ, P.; LAURINDO, F.; CHAGAS, A. **Endotélio & doenças cardiovasculares**. 1° ed. São Paulo:Atheneu, 2003.

MACKNESS, M. I. et al. Paraoxonase and coronary heart disease. **Curr Opin Lipidol**, v. 9, n. 4, p. 319-24, 1998.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. Erythrocyte zinc and carbonic anhydrase levels in nondialyzed chronic kidney disease patients. **Clin Biochem**, v. 37, n. 1, p. 67-71, 2004.

MANALIS, N. et al. Toxic metal content of particulate matter (PM10), within the Greater Area of Athens. **Chemosphere**, v. 60, n. 4, p. 557-66, 2005.

MANINI, P. et al. Environmental and biological monitoring of benzene exposure in a cohort of Italian taxi drivers. **Toxicol Lett**, v. 167, n. 2, p. 142-51, 2006.

MANNO, M. et al. Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). **Toxicol Lett**, v. 192, n. 1, p. 3-16, 2010.

MARIE, C. et al. Urinary levels of oxidative DNA and RNA damage among workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons in silicon production: comparison with 1-hydroxypyrene. **Environ Mol Mutagen**, v. 50, n. 2, p. 88-95, 2009.

MAROTTA, F. et al. Redox balance signalling in occupational stress: modification by nutraceutical intervention. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 25, n. 2, p. 221-9, 2011.

MARTINEZ-SALINAS, R. I. et al. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 83, n. 6, p. 617-23, 2010.

MAYNARD, R. Key airborne pollutants--the impact on health. **Sci Total Environ**, v. 334-335, p. 9-13, 2004.

MERLO, F. et al. Urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a marker for exposure to urban air levels of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 7, n. 2, p. 147-55, 1998.

MILLER-SCHULZE, J. P. et al. Exposures to particulate air pollution and nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons among taxi drivers in Shenyang, China. **Environ Sci Technol**, v. 44, n. 1, p. 216-21, 2010.

MILLS, N. L. et al. Adverse cardiovascular effects of air pollution. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med**, v. 6, n. 1, p. 36-44, 2009.

MINEO, C. et al. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. **Circ Res**, v. 98, n. 11, p. 1352-64, 2006.

MOHAN, I. V. et al. Homocysteine activates platelets in vitro. **Clin Appl Thromb Hemost**, v. 14, n. 1, p. 8-18, 2008.

MOLLER, P.; WALLIN, H.; KNUDSEN, L. E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. **Chem Biol Interact**, v. 102, n. 1, p. 17-36, 1996.

MORTADA, W. I. et al. Study of lead exposure from automobile exhaust as a risk for nephrotoxicity among traffic policemen. **Am J Nephrol**, v. 21, n. 4, p. 274-9, 2001.

NAIR, S. B.; MALIK, R.; KHATTAR, R. S. Carotid intima-media thickness: ultrasound measurement, prognostic value and role in clinical practice. **Postgrad Med J**, 2012.

NEVES, H. Vigilância de Exposição Ocupacional a Substâncias Tóxicas. **Inf Epidemiol SUS**, v. 8, n. 1, p. 35-46, 1999.

NORDBERG, G. F. Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China. **Toxicol Lett**, v. 192, n. 1, p. 45-9, 2010.

O'DONNELL, V. B.; FREEMAN, B. A. Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways: implications for vascular disease. **Circ Res**, v. 88, n. 1, p. 12-21, 2001.

O'LEARY, D. H. et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. **N Engl J Med**, v. 340, n. 1, p. 14-22, 1999.

O'NEILL, M. S. et al. Diabetes enhances vulnerability to particulate air pollution-associated impairment in vascular reactivity and endothelial function. **Circulation**, v. 111, n. 22, p. 2913-20, 2005.

OBERDORSTER, G.; OBERDORSTER, E.; OBERDORSTER, J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 7, p. 823-39, 2005.

OGA, S.; CARVALHO, M.; BATISTUZZO, J. **Fundamentos de Toxicologia**. 3° ed. São Paulo:Atheneu, 2008.

OSTLING, G. et al. Increased echolucency of carotid plaques in patients with type 2 diabetes. **Stroke**, v. 38, n. 7, p. 2074-8, 2007.

OSTRO, B. et al. The effects of fine particle components on respiratory hospital admissions in children. **Environ Health Perspect**, v. 117, n. 3, p. 475-80, 2009.

PAAVOLA, T. et al. Plasma levels of antibodies against oxidized LDL are inherited but not associated with HDL-cholesterol level in families with early coronary heart disease. **Atherosclerosis**, v. 224, n. 1, p. 123-8, 2012.

PARK, S. K. et al. Traffic-related particles are associated with elevated homocysteine: the VA normative aging study. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 178, n. 3, p. 283-9, 2008.

PAULINO, S. A. et al. Evolution of particulate matter and associated metal levels in the urban area of Rio de Janeiro, Brazil. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 84, n. 3, p. 315-8, 2010.

PAWLAK, K.; MYSLIWIEC, M.; PAWLAK, D. Oxidized LDL to autoantibodies against oxLDL ratio - The new biomarker associated with carotid atherosclerosis and cardiovascular complications in dialyzed patients. **Atherosclerosis**, v. 224, n. 1, p. 252-7, 2012.

PEREIRA, C. E. et al. Ambient particulate air pollution from vehicles promotes lipid peroxidation and inflammatory responses in rat lung. **Braz J Med Biol Res**, v. 40, n. 10, p. 1353-9, 2007.

PEREIRA FILHO, M. A. et al. Effect of air pollution on diabetes and cardiovascular diseases in Sao Paulo, Brazil. **Braz J Med Biol Res**, v. 41, n. 6, p. 526-32, 2008.

PEREIRA NETTO, A. et al. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Quím Nova**, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000.

PETCHPOUNG, K. et al. The influence of metabolic gene polymorphisms on urinary 1-hydroxypyrene concentration in Thai bus drivers. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 31, n. 1, p. 160-4, 2011.

PETERS, A. et al. Exposure to traffic and the onset of myocardial infarction. **N Engl J Med**, v. 351, n. 17, p. 1721-30, 2004.

PODECHARD, N. et al. Interleukin-8 induction by the environmental contaminant benzo(a)pyrene is aryl hydrocarbon receptor-dependent and leads to lung inflammation. **Toxicol Lett**, v. 177, n. 2, p. 130-7, 2008.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 67, n. 5, p. 289-97, 1997.

POPE, C. A., 3RD et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. **JAMA**, v. 287, n. 9, p. 1132-41, 2002.

POPE, C. A., 3RD; EZZATI, M.; DOCKERY, D. W. Fine-particulate air pollution and life expectancy in the United States. **N Engl J Med**, v. 360, n. 4, p. 376-86, 2009.

PRISTA, J.; UVA, A. S. A utilização de indicadores biológicos em saúde ocupacional. **Rev Port Sau Pub**, v.6, p.45-54, 2006.

QUITERIO, S. L. et al. Metals in airborne particulate matter in downtown Rio de Janeiro, Brazil. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 72, n. 5, p. 916-22, 2004.

RAMBOUSKOVA, J. et al. Trace elements in the blood of institutionalized elderly in the Czech Republic. **Arch Gerontol Geriatr**, v. 56, n. 2, p. 389-94, 2013.

REYES, J. L. et al. Tight junction proteins and oxidative stress in heavy metals-induced nephrotoxicity. **Biomed Res Int**, v. 2013, p. 730789, 2013.

RIOUX, C. L. et al. Traffic exposure in a population with high prevalence type 2 diabetes--do medications influence concentrations of C-reactive protein? **Environ Pollut**, v. 159, n. 8-9, p. 2051-60, 2011.

RIVERO, D. H. et al. Acute cardiopulmonary alterations induced by fine particulate matter of Sao Paulo, Brazil. **Toxicol Sci**, v. 85, n. 2, p. 898-905, 2005.

ROEHRS, M. et al. The relationships between exogenous and endogenous antioxidants with the lipid profile and oxidative damage in hemodialysis patients. **BMC Nephrol**, v. 12, p. 59, 2011.

ROSSBACH, B. et al. Biological monitoring of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by determination of monohydroxylated metabolites of phenanthrene and pyrene in urine. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 81, n. 2, p. 221-9, 2007.

RUCKERL, R. et al. Air pollution and inflammation (interleukin-6, C-reactive protein, fibrinogen) in myocardial infarction survivors. **Environ Health Perspect**, v. 115, n. 7, p. 1072-80, 2007.

SABATH, E.; ROBLES-OSORIO, M. L. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. **Nefrologia**, v. 32, n. 3, p. 279-86, 2012.

SAGREDO, Carlos. Biotransformation of benzo[a]pyrene: analysis, metabolism and adduct formation in rats and Ahr knockout mice. 2011. Doctoral thesis (Section of Toxicology, University Of Oslo, Oslo, Norway, 2011). Disponível em: <http://www.duo.uio.no/sok/work.html?WORKID=129036&fid=79352> Acesso em 2013-11-02.

SALDIVA, P. H. et al. Association between air pollution and mortality due to respiratory diseases in children in Sao Paulo, Brazil: a preliminary report. **Environ Res**, v. 65, n. 2, p. 218-25, 1994.

SALONEN, J. T. et al. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. **Lancet**, v. 339, n. 8798, p. 883-7, 1992.

SAMOLI, E. et al. Acute effects of air pollution on pediatric asthma exacerbation: evidence of association and effect modification. **Environ Res**, v. 111, n. 3, p. 418-24, 2011.

SCHAUMANN, F. et al. Metal-rich ambient particles (particulate matter 2.5) cause airway inflammation in healthy subjects. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 170, n. 8, p. 898-903, 2004.

SCHNEIDER, A. et al. Association of cardiac and vascular changes with ambient PM_{2.5} in diabetic individuals. **Part Fibre Toxicol**, v. 7, p. 14, 2010.

SCHULTE, P. A.; HAUSER, J. E. The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. **Toxicol Lett**, v. 213, n. 1, p. 91-9, 2012.

SELLAPPA, S.; MANI, B.; KEYAN, K. S. Cytogenetic biomonitoring of road paving workers occupationally exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 12, n. 3, p. 713-7, 2011.

SHARMAN, J. E. et al. Exposure to automotive pollution increases plasma susceptibility to oxidation. **Arch Environ Health**, v. 57, n. 6, p. 536-40, 2002.

SHOJI, T. et al. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. **Atherosclerosis**, v. 148, n. 1, p. 171-7, 2000.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp Physiol**, v. 82, n. 2, p. 291-5, 1997.

SIES, H.; ARTEEL, G. E. Interaction of peroxyntirite with selenoproteins and glutathione peroxidase mimics. **Free Radic Biol Med**, v. 28, n. 10, p. 1451-5, 2000.

SILBERGEL, E.K. et al. Mercury and autoimmunity: Implications for occupational and environmental health. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 207, p. 282-92, 2005.

SILINS, I.; HOGBERG, J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. **Int J Environ Res Public Health**, v. 8, n. 3, p. 629-47, 2011.

SIMEONOVA, P. P. et al. Arsenic exposure accelerates atherogenesis in apolipoprotein e(-/-) mice. **Environ Health Perspect**, v. 111, p. 1744-8, 2003.

SIMKHOVICH, B. Z.; KLEINMAN, M. T.; KLONER, R. A. Air pollution and cardiovascular injury epidemiology, toxicology, and mechanisms. **J Am Coll Cardiol**, v. 52, n. 9, p. 719-26, 2008.

SISINNO, C. L. S; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de Toxicologia Ambiental**. 1 ed. Rio de Janeiro:Interiência, 2013.

SMITH, D. A. et al. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. **Circulation**, v. 104, n. 7, p. 746-9, 2001.

SOARES, S. R. et al. Air pollution and antibodies against modified lipoproteins are associated with atherosclerosis and vascular remodeling in hyperlipemic mice. **Atherosclerosis**, v. 207, n. 2, p. 368-73, 2009.

SORENSEN, M. et al. Linking exposure to environmental pollutants with biological effects. **Mutat Res**, v. 544, n. 2-3, p. 255-71, 2003.

SOUSA, S. I. et al. Short-term effects of air pollution on respiratory morbidity at Rio de Janeiro--Part II: health assessment. **Environ Int**, v. 43, p. 1-5, 2012.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F., JR. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiol Rev**, v. 84, n. 4, p. 1381-478, 2004.

STRICKLAND, P.; KANG, D. Urinary 1-hydroxypyrene and other PAH metabolites as biomarkers of exposure to environmental PAH in air particulate matter. **Toxicol Lett**, v. 108, n. 2-3, p. 191-9, 1999.

TAKAISHI, M. et al. Protective role of metallothionein in benzo[a]pyrene-induced DNA damage. **J Toxicol Sci**, v. 34, n. 5, p. 449-58, 2009.

TEIXEIRA, E. et al. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre. **Quím Nova**, v. 31, n. 2, p. 244-248, 2008.

TEIXEIRA, E. et al. Chemical composition of PM10 and PM2.5 and Seasonal Variation in South Brazil **Water Air Soil Pollut** v. 199, p. 261–275, 2009.

THRON, R. W. Direct and indirect exposure to air pollution. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 114, n. 2, p. 281-5, 1996.

TONNE, C. et al. An approach for estimating the health effects of changes over time in air pollution: an illustration using cardio-respiratory hospital admissions in London. **Occup Environ Med**, v. 67, n. 6, p. 422-7, 2010.

TOREN, K. et al. Occupational exposure to particulate air pollution and mortality due to ischaemic heart disease and cerebrovascular disease. **Occup Environ Med**, v. 64, n. 8, p. 515-9, 2007.

TORRES, F. et al. Medida da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas para avaliação do risco cardiovascular. **Rev Bras Hipertens**, v. 14, n. 3, p. 167-171, 2007.

TSIMIKAS, S. et al. Relationship of IgG and IgM autoantibodies to oxidized low density lipoprotein with coronary artery disease and cardiovascular events. **J Lipid Res**, v. 48, n. 2, p. 425-33, 2007.

TUOMI, T.; JOHNSON, T.; REIJULA, K. Analysis of nicotine, 3-hydroxycotinine, cotinine, and caffeine in urine of passive smokers by HPLC-tandem mass spectrometry. **Clin Chem**, v. 45, n. 12, p. 2164-72, 1999.

UMANNOVA, L. et al. Benzo[a]pyrene and tumor necrosis factor-alpha coordinately increase genotoxic damage and the production of proinflammatory mediators in alveolar epithelial type II cells. **Toxicol Lett**, v. 206, n. 2, p. 121-9, 10 2011.

URCH, B. et al. Acute blood pressure responses in healthy adults during controlled air pollution exposures. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 8, p. 1052-5, 2005.

US EPA. Polycyclic organic matter. United States Environmental Protection Agency; 2002 [Available online at <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/polycycl.html>]

VALAVANIDIS, A. et al. Characterization of atmospheric particulates, particle-bound transition metals and polycyclic aromatic hydrocarbons of urban air in the centre of Athens (Greece). **Chemosphere**, v. 65, n. 5, p. 760-8, 2006.

VALENTINI, J. et al. Human erythrocyte delta-aminolevulinatase activity and oxidative stress in hemodialysis patients. **Clin Biochem**, v. 40, n. 9-10, p. 591-4, 2007.

VALLIUS, M. et al. Sources and elemental composition of ambient PM(2.5) in three European cities. **Sci Total Environ**, v. 337, n. 1-3, p. 147-62, 2005.

VASCONCELOS, S. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quím Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VOGEL, C. F. et al. Induction of proinflammatory cytokines and C-reactive protein in human macrophage cell line U937 exposed to air pollution particulates. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 11, p. 1536-41, 2005.

WAGENKNECHT, L. E. et al. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes, and carotid wall thickness: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. **Diabetes Care**, v. 21, n. 11, p. 1812-8, 1998.

WANG, G.; FOWLER, B. A. Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 233, n. 1, p. 92-9, 2008.

WEAVER, V. M. et al. Associations of lead biomarkers with renal function in Korean lead workers. **Occup Environ Med**, v. 60, n. 8, p. 551-62, 2003.

WIEBERT, P. et al. Occupational exposure to particles and incidence of acute myocardial infarction and other ischaemic heart disease. **Occup Environ Med**, v. 69, n. 9, p. 651-7, 2012.

WILSON, M. R. et al. Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 184, n. 3, p. 172-9, 2002.

World Health Organization (WHO). Trace elements in human nutrition and health. International Atomic Energy Agency, WHO Library Publication Data, Geneva, 1996.

World Health Organization (WHO). Air guidelines for Europe. 2.ed. Copenhagen, 2000. http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf Acessado em 28/01/ 2012.

World Health Organization (WHO). Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulphur dioxide, 2005. http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/78638/E90038.pdf, 2005. Acessado em 28/01/2012.

World Health Organization (WHO). Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet nº 317, March 2013. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html> Acessado em 26/10/2013.

XUE, W.; WARSHAWSKY, D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 206, n. 1, p. 73-93, 2005.

YANG, W. I. et al. Relationship between paraoxonase-1 activity, carotid intima-media thickness and arterial stiffness in hypertensive patients. **J Hum Hypertens**, v. 24, n. 7, p. 492-4, 2010.

YOON, H. S. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon (1-OHPG and 2-naphthol) and oxidative stress (malondialdehyde) biomarkers in urine among Korean adults and children. **Int J Hyg Environ Health**, v. 215, n. 4, p. 458-64, 2012.

YOSHIDA, T. et al. Urban aerosols induce pro-inflammatory cytokine production in macrophages and cause airway inflammation in vivo. **Biol Pharm Bull**, v. 33, n. 5, p. 780-3, 2010.

ZAGURY, E.; LE MOULLEC, Y.; MOMAS, I. Exposure of Paris taxi drivers to automobile air pollutants within their vehicles. **Occup Environ Med**, v. 57, n. 6, p. 406-10, 2000.

ZANOBETTI, A.; SCHWARTZ, J. Cardiovascular damage by airborne particles: are diabetics more susceptible? **Epidemiology**, v. 13, n. 5, p. 588-92, 2002.

ZANOBETTI, A.; SCHWARTZ, J. The effect of particulate air pollution on emergency admissions for myocardial infarction: a multicity case-crossover analysis. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 8, p. 978-82, 2005.

ZEKA, A. et al. Inflammatory markers and particulate air pollution: characterizing the pathway to disease. **Int J Epidemiol**, v. 35, n. 5, p. 1347-54, 2006.

ZOU, B. et al. Air pollution exposure assessment methods utilized in epidemiological studies. **J Environ Monit**, v. 11, n. 3, p. 475-90, 2009.

ANEXO I

<https://www1.ufrgs.br/PortalServidor/Pesquisa/>

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Solange Cristina Garcia

Projeto Nº: 20322

Título: EXPOSICAO HUMANA A XENOBIOTICOS AMBIENTAIS E SUA INTER-RELACAO COM DANOS OXIDATIVOS E A FUNCAO CARDIOVASCULAR.

COMITE DE ETICA EM PESQUISA DA UFRGS: Parecer

Projeto aprovado, a maioria das diligências foram atendidas.

ANEXO II



INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO RIO GRANDE DO SUL
FUNDAÇÃO UNIVERSITÁRIA DE CARDIOLOGIA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Porto Alegre, 30 de abril de 2010.

Pesquisador Colaborador
Prof. Dr. Iran Castro
Coordenação
Prof. Dra. Solange Cristina Garcia
c/c
Divisão de Produção Científica
Unidade de Pesquisa
Sra. Maria Del Carmem Stefani
Nesta Instituição

Ref. Projeto de Pesquisa – UP n° 4333.09 encaminhado para apreciação e julgamento ao Comitê de Ética em Pesquisa do IC/FUC.

O Comitê de Ética em Pesquisa analisou o Projeto de Pesquisa “*Avaliação Clínico-Laboratorial dos Efeitos Toxicológicos da Poluição Ambiental sobre a Saúde Humana*”

Projeto de Pesquisa, de cunho interdisciplinar, apresenta uma proposta em toxicologia clínico-laboratorial, a qual pretende analisar os níveis de poluentes que indivíduos estão expostos ambientalmente, avaliando os possíveis reflexos desta exposição para o sistema cardiovascular, bem como a sua relação com o estresse oxidativo, na tentativa de obter informações clínicas e laboratoriais qualificadas sobre os efeitos da poluição ambiental na saúde humana que possam ser fundamentais na elaboração de políticas voltadas à melhoria das questões relacionadas à poluição e a saúde.

Parecer: Projeto Aprovado em 28 de abril de 2010.

Dr. Ari Tadeu Lino dos Santos
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa
IC/FUC

ANEXO III

**Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos
participantes do estudo****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu,.....fui convidado(a) pelos professores Prof Dra. Solange Cristina Garcia (UFRGS) e Dr. Iran Castro (FUC) a fazer parte de um trabalho científico com o título “**EXPOSIÇÃO HUMANA À XENOBIÓTICOS AMBIENTAIS E SUA INTER-RELAÇÃO COM DANOS OXIDATIVOS E A FUNÇÃO CARDIOVASCULAR**”. Neste trabalho serão realizados exames clínico-laboratoriais com o objetivo de avaliar as possíveis alterações cardiovasculares através de exames laboratoriais, toxicológicos e por imagem. Além de analisar outros parâmetros que possam ser relacionados a exposição ambiental. Além destes exames serão realizadas entrevistas com questionário sobre o uso de medicamentos e o estado de saúde. Fui esclarecido que minha participação é de livre e espontânea vontade e que caso aceite será realizado uma coleta de sangue venoso (10 mL) com o mínimo de risco já conhecido para esta técnica, sem custo para o voluntário, além de uma amostra de urina (50 mL).

Estou ciente de que receberei os resultados dos exames sem custo, mas não receberei nenhuma outra forma de pagamento e que poderei desistir de fazer parte do trabalho a qualquer momento, sem qualquer tipo de constrangimento, restrições ou consequências.

Eu terei garantia da não identificação e do caráter confidencial dos resultados. Terei garantia de acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimento de eventuais dúvidas sobre os procedimentos, riscos e benefícios, contatando a Prof^a Dr^a Solange Cristina Garcia (51) 33085297, responsável pelo projeto. Também pode contatar a secretaria do

Comitê de Ética em pesquisa da UFRGS (51) 33083629 para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

Este estudo obteve aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (Nº 20322/2011).

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas por mim, descrevendo o estudo.

Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer hora, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

_____ Data:

Assinatura do paciente ou responsável

_____ Data:

Assinatura do responsável pela pesquisa

ANEXO IV**QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO**

Data: ___/___/___

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Telefone: _____

Idade: _____ Data de nascimento: ___/___/___ Estado civil: _____

Endereço: _____ Bairro: _____

Entrevistador: _____

DADOS GERAIS

Profissão: _____

Local de Trabalho (Bairro/Ponto): _____

Tempo que exerce a função: _____

Número de horas diárias de permanência no trabalho? _____

Turno: (1) Manhã (2) Tarde (3) Noite

AVALIAÇÃO DO AMBIENTE DE TRABALHO

1. Estação do ano

 Inverno Verão Primavera Outono

2. Temperatura

 Confortável Desconfortável Estável

3. Movimento do ar

 Muito parado Médio Bastante movimento**ALTERAÇÕES RESPIRATÓRIAS**

Você apresenta algum sintoma crônico ou recorrente listado abaixo?

Rinites: (1) Sim (2) Não

Realiza tratamento?

Sinusites: (1) Sim (2) Não

Realiza tratamento?

Gripes, resfriados e “dores de garganta” freqüentes: (1)Sim (2)Não
 Tosse crônica (seca), alérgica: (1)Sim (2)Não
 Pigarro pela manhã: (1) Sim (2)Não
 Espirros freqüentes: (1) Sim (2) Não
 Coceira (nariz ou garganta): (1)Sim (2)Não
 Bronquite asmática: (1) Sim (2)Não Uso de bombinhas?(1) Sim (2)Não
 Pneumonias pregressas: (1) Sim (2) Não
 Falta de ar aos esforços: (1) Sim (2) Não
 Informações adicionais: _____

OUTRAS ALTERAÇÕES:

Apresenta algum sintoma crônico ou recorrente?
 Palpitação: (1) Sim (2) Não
 Dor no peito: (1) Sim (2) Não
 Arritmias: (1) Sim (2) Não
 diagnosticadas (episódio:.....)
 Infarto: (1) Sim (2) Não
 (episódio:.....)
 Tonturas, escurecimento da visão: (1) Sim (2) Não
 Pressão arterial alterada: (1) Sim (2) Não
 Dores de cabeça: (1) Sim (2) Não
 Convulsões: (1) Sim (2) Não
 Perda de sensibilidade em alguma parte do corpo: (1) Sim (2) Não
 Sensação de formigamento nos braços/pernas: (1) Sim (2) Não
 Câimbras: (1) Sim (2) Não
 Dores ou paralisias relacionadas a nervos (facial, ciático...): (1) Sim (2) Não
 Diabetes Mellitus: (1) Sim (2) Não Realiza tratamento? (1) Sim (2) Não
 Uso de Medicamentos (Quais e tempo de uso)? _____
 Polivitamínicos? _____
 Algum sintoma frequente?
 Outros: _____

HISTÓRICO FAMILIAR

Hipertensão arterial: (1) Sim (2) Não

Infarto do miocárdio: (1) Sim (2) Não

Doenças do coração: (1) Sim (2) Não

Derrame cerebral: (1) Sim (2) Não

Diabetes mellitus: (1) Sim (2) Não

HÁBITOS DE VIDA

FUMO: () Nunca fumou () Fumante () Ex-fumante

Se sim, quantos cigarros por dia? ____

Com que idade começou a fumar? _____ anos

Ex-fumante

Se sim, quantos cigarros por dia? _____

Há quanto tempo parou de fumar? _____ anos ____ meses

Você mora com pessoas fumantes?(fuma dentro de casa)? (1) Sim (2) Não

ETILISMO

Faz uso de bebidas alcoólicas? () Sim () Não

Qual a frequência, a quantidade e o tipo de bebida (por semana)? _____

Fez uso de bebidas alcoólicas nos últimos 2 dias? Qual? _____

Alimentação	Vezes/semana	
Churrasco		Assador: Sim () Não ()
Chimarrão		
Frutas e vegetais		

ATIVIDADES FÍSICAS

Pratica regularmente atividades físicas (1) Sim (2) Não

Qual atividade e com que frequência?

EXAME FÍSICO

Pressão arterial na jornada de trabalho:

Saturação de O₂: