

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Roseana Böek Carvalho**

**Avaliação da Exposição de  
Motociclistas Profissionais aos  
Poluentes Atmosféricos Urbanos.**

**UFCSPA**

Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

**Porto Alegre**

**2017**

Roseana Böek Carvalho

# **Avaliação da Exposição de Motociclistas Profissionais aos Poluentes Atmosféricos Urbanos.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Cláudia Ramos Rhoden  
Coorientador: Dr. Sérgio Luis Amantéa

**Porto Alegre**

**2017**

Carvalho, Roseana Böek

Avaliação da Exposição de Motociclistas Profissionais aos Poluentes Atmosféricos Urbanos / Roseana Böek Carvalho. -- 2017.

135 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2017.

Orientador(a): Claudia Ramos Rhoden ; coorientador(a): Sérgio Luis Amantéa.

1. Poluição do ar. 2. Exposição ocupacional. 3. Estresse oxidativo. 4. Dano ao DNA. 5. Metais pesados. I. Título.

Dedico este trabalho ao meu pai, que, mesmo não estando mais presente fisicamente aqui, sempre incentivou e motivou meus estudos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, e que não soe clichê, pois sei que sem Ele a caminhada até aqui não teria sido possível.

Aos meus pais, Adão (*in memoriam*) e Renilda, incansáveis para que eu atingisse êxito nos meus estudos. Foram eles que formaram a pessoa que sou, meus exemplos de vida, conduta e caráter.

Ao meu noivo Fábio, por sempre ter palavras de motivação nas horas que o cansaço e desânimo queriam ser maiores, por me fazer acreditar que eu era capaz e sempre podia me superar.

À Professora Dra. Cláudia Ramos Rhoden, por toda a confiança depositada em mim e por me acolher tão bem em seu laboratório, aceitando no seu grupo de pesquisa uma aluna até então “desconhecida”. Por todos os nossos encontros e discussões cheios de ensinamentos científicos e profissionais. Por toda a sua alegria, que contagiava todos ao seu redor, e que fez com que a jornada até aqui fosse muito mais leve e feliz.

Ao Professor Dr. Sérgio Luis Amantéa pela orientação e apoio na elaboração deste trabalho, principalmente no que tange a parte da pesquisa com humanos.

À técnica de laboratório Camila, que nesse percurso demonstrou ser muito mais do que uma funcionária da Instituição, se mostrou uma colega e amiga, fazendo muito mais do que deveria por nós alunos, sempre disposta a ajudar, sempre pensando em como melhorar uma técnica, sempre dando o seu melhor.

Às colegas Bruna e Caroline, por TODA a ajuda nesses 2 anos de convivência e aprendizado, sem dúvida alguma, o mestrado se tornou muito mais alegre e fácil com vocês. Obrigado pelas conversas, desabafos, estudos e tanta experiência compartilhada.

Bruna, minha *personal* nutri e companheira de café, obrigado pelos nossos momentos de discussões e devaneios *fashion-fitness-científicos*, desenvolvemos uma peculiar habilidade de unir ciência, mundo *fit* e moda com muita destreza.

Carol, não existem palavras para agradecer toda tua ajuda, especialmente nos inúmeros momentos de coletas, as quais sem você não teriam sido possíveis.

À estagiária Júlia, chegou de mansinho, sem esperarmos, e quando percebemos já era um braço direito para todos. Obrigada pela ajuda e dedicação, tu é uma guria de ouro.

Ao estagiário Douglas, sempre pró-ativo, ajudando em tudo e a todos, sempre comprometido e presente em todas as atividades do laboratório.

À Dra. Maria Fernanda, que mesmo de longe esclareceu inúmeras dúvidas, ajudou de forma imprescindível na análise dos metais e se mostrou em todo tempo extremamente prestativa e atenciosa com tudo que precisei.

A todos os voluntários que aceitaram participar desta pesquisa, vocês são o motivo deste trabalho! Aos funcionários da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e a todos os *motoboys* conveniados ao Sindicato dos Motociclistas Profissionais de Porto Alegre (Sindimoto).

Ao Sindimoto, na pessoa do Presidente Valter e do Diretor Samuel, que não mediram esforços para auxiliar esta pesquisa.

Ao Laboratório de Poluição Atmosférica, minha segunda casa, e a todos os colegas que compartilharam dele, contribuindo para o crescimento e aprimoramento de todos.

À Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, especificamente a Cris, nossa secretaria querida, que sempre foi muito ágil e atenciosa com toda e qualquer solicitação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio da bolsa de Mestrado.

Enfim, muito obrigada a todos que contribuíram de alguma forma para esta conquista!

*“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”.*

- John F. Kennedy –

## RESUMO

A poluição atmosférica pode ser definida como a presença no ar de contaminantes tóxicos que quando inalados podem afetar a saúde humana. Na atmosfera são encontrados diversos materiais poluentes, os quais já foram extensamente estudados demonstrando que a exposição de longo prazo a esses intoxicantes associa-se com: alta morbimortalidade, aumento do risco de desenvolvimento de doenças agudas respiratórias, câncer de pulmão, resistência à insulina (diabetes tipo II), problemas no sistema reprodutor, aparecimento de doenças cardiovasculares e exacerbação de doenças obstrutivas pulmonares. Os veículos desempenham um importante papel na vida moderna da população, entretanto, eles também geram danos ao ambiente e à saúde humana devido a queima dos combustíveis fósseis. Indivíduos ocupacionalmente expostos permanecem durante longos períodos em contato com essas substâncias tóxicas. O presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração dos gases poluentes  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$ , através de monitoramento passivo, determinar a concentração de elementos acumulados em unhas, com uso de ICP-MS, e avaliar o dano genotóxico e oxidativo de motociclistas profissionais da cidade de Porto Alegre (Brasil), comparados com profissionais administrativos. O estudo transversal foi realizado durante janeiro a dezembro de 2016. A exposição ao  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$ , dano genético e parâmetros de estresse oxidativo foram maiores nos motociclistas profissionais do que nos funcionários administrativos ( $p < 0,05$ ). Além disso, os níveis de  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$  demonstraram uma correlação positiva muito forte com a lipoperoxidação plasmática ( $p < 0,0001$  e  $r = 0,8849$  e  $0,8995$ ) e uma correlação positiva forte com a frequência de micronúcleos em células bucais ( $p < 0,0001$  e  $r = 0,7683$  e  $0,7280$ ). Os motociclistas profissionais também demonstraram maiores concentrações de Sb, Pt, As, Cd, V, Mn e Co nas unhas do que o grupo não exposto ( $p < 0,05$ ). O conteúdo de Pb, Cr e Ni não demonstrou diferença entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Tais resultados sugerem que os motociclistas profissionais fazem parte de um grupo que está permanentemente em risco devido à exposição prolongada aos poluentes do ar, relacionados especificamente com o tráfego intenso. Essa exposição ocupacional está intimamente ligada ao desenvolvimento de uma grande gama de efeitos deletérios sobre a saúde desses profissionais.

**Palavras-chave:** Poluição do Ar. Exposição Ocupacional. Estresse Oxidativo. Dano ao DNA. Metais Pesados. Metalóides.



## ABSTRACT

Air pollution can be defined as the presence of toxic contaminants in the air that when inhaled can affect human health. Several polluting materials are found in the atmosphere and have been extensively studied; showing that long-term exposure to these toxicants is associated with high mortality and morbidity, increased risk of developing acute respiratory diseases, exacerbation of pulmonary obstructive diseases, lung cancer development, insulin resistance development (type II diabetes), problems in the reproductive system, development of cardiovascular diseases, among others. Vehicles play an important role in modern life. However, they also generate hazards to the environment and human health by fossil fuel combustion. Occupational exposed subjects are in long-term contact with these harmful substances. The present study had as objective to determine the concentration of NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> pollutants gases, by passive monitor, to determine the concentration of trace elements in fingernails, by ICP-MS and to evaluate the genetic and oxidative damage in exposed professional motorcyclists in Porto Alegre (Brazil) compared with office workers. The cross-sectional study was carried during January and December 2016. Exposure to NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, genotoxic damage rate and oxidative stress factors were statistically higher in professional motorcyclists than in office workers ( $p < 0.05$ ). Moreover, NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> levels showed a very strong positive correlation with plasmatic lipid peroxidation ( $p < 0.0001$  and  $r = 0.8849$  and  $0.8995$ ) and a strong positive correlation with buccal micronuclei frequency ( $p < 0.001$  and  $r = 0.7683$  and  $0.7280$ ). Professional motorcyclists showed higher concentrations of Sb, Pt, As, Cd, V, Mn and Co in fingernails than the nonexposed group ( $p < 0.05$ ). Fingernails content of Pb, Cr and Ni did not differ between groups ( $p > 0.05$ ). Results suggest that professional motorcyclists are a group permanently at risk by exposition to traffic-related toxics production, which implies in a large range of harmful health effects.

**Keywords:** Air pollution. Occupational exposure. Oxidative stress. DNA damage. Heavy metals. Metalloids.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais doenças pulmonares mundiais e suas causas _____	15
Figura 2 – Evolução estimada da frota brasileira de veículos, por categoria, até o ano de 2012 _____	16
Figura 3 – Apresentações dos poluentes atmosféricos _____	20
Figura 4 – Representação da classificação dos poluentes atmosféricos segundo a fonte. _____	20
Figura 5 – Mecanismos de ação dos poluentes atmosféricos _____	27
Figura 6 – Representação esquemática do sistema antioxidante enzimático _____	28
Figura 7 – Desenho esquemático de um amostrador passivo _____	35
Figura 8 – Representação esquemática da formação de micronúcleos _____	41
Figura 9 – Fotomicrografia de célula esfoliada de mucosa bucal humana contendo MN com aumento de 500 vezes _____	41

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Recomendações de Padrões de Qualidade do Ar, segundo a OMS, para os principais poluentes atmosféricos _____	29
Quadro 2 – Recomendações do CONAMA sobre os principais poluentes atmosféricos _____	31
Quadro 3 – Índice de Qualidade do Ar e Níveis de Cautela sobre a saúde humana do NO <sub>2</sub> e O <sub>3</sub> _____	32
Quadro 4 – Monitoramento da qualidade do ar nas diferentes regiões do Brasil ____	33
Quadro 5 - Estratégias de implantação do PROMOT (Fases “M”) _____	50

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ag – Prata

CAT – Catalase

Cd – Cádmió

CO – Monóxido de carbono

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cr – Cromo

DF – Distrito Federal

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica

ER – Espécie reativa

GPx – Glutathione peroxidase

HC - Hidrocarboneto

Hg – Mercúrio

IQA – Índice de qualidade do ar

MDA – Malondialdeído

MN - Micronúcleo

Mn – Manganês

MP – Material particulado

MP2,5 – Material particulado fino

MP10 – Material particulado grosso

Ni – Níquel

NO – Óxido nítrico

NO<sub>2</sub> – Dióxido de Nitrogênio

NO<sub>x</sub> – Óxidos de Nitrogênio

O<sub>2</sub> – Gás Oxigênio

O<sub>2</sub><sup>-</sup> – Ânion superóxido

O<sub>3</sub> – Ozônio

OH – Radical hidroxil

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONOO<sup>-</sup> – Peróxinitrito

Pb – Chumbo

PI – Partículas inaláveis

PQA – Padrões de qualidade do ar

PROCONVE – Programa de Controle de Poluição do Ar por Veículos Automotores

PROMOT – Programa de Controle da Poluição do Ar por Motociclos e Veículos Similares

PRONAR – Programa Nacional de Controle da Qualidade do Ar

PTS – Partículas totais em suspensão

RS – Rio Grande do Sul

SO<sub>2</sub> – Dióxido de enxofre

SOD – Superóxido dismutase

UF – Unidades federativas

V – Vanádio

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
1.1 POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA	14
1.1.1 Poluição atmosférica <i>outdoor</i> e <i>indoor</i>	17
1.1.2 Clima & Poluição atmosférica	18
1.1.3 Poluentes atmosféricos	19
1.1.3.1 <i>Material Particulado</i>	21
1.1.3.2 <i>Dióxido de Nitrogênio</i>	22
1.1.3.3 <i>Ozônio</i>	23
1.2 MECANISMOS DE TOXICIDADE DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA	25
1.3 PADRÕES DE QUALIDADE DO AR	29
1.4 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR	33
1.4.1 Monitoramento passivo	35
1.5 BIOMONITORAMENTO HUMANO	38
1.5.1 Ensaio do Micronúcleo	40
1.5.2 Análise de Metais Pesados e Metalóides	43
1.6 TRÂNSITO & POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA	44
1.6.1 Frota Brasileira	48
1.6.2 Motociclistas Profissionais & Exposição Ocupacional	51
<b>2 JUSTIFICATIVA</b>	54
<b>3 OBJETIVOS</b>	55
3.1 OBJETIVO GERAL	55
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	56
<b>5 ARTIGO CIENTÍFICO</b>	76
<b>6 CONCLUSÃO</b>	106
<b>7 ANEXOS</b>	107
7.1 NORMAS DA REVISTA ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES	107
7.2 CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	132

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

A poluição do ar pode ser definida, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2006) como:

A contaminação da atmosfera com qualquer agente químico, físico e/ou biológico que modifica as características originais da mesma, podendo representar riscos à saúde humana e ao ambiente.

Segundo a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente 003/1990 (BRASIL, 1990) a poluição do ar é conceituada como:

Qualquer forma de matéria ou energia com intensidade, concentração, tempo ou características que possam tornar o ar impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde, inconveniente ao bem-estar público, danoso aos materiais, à fauna e à flora ou prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade e à qualidade de vida da comunidade.

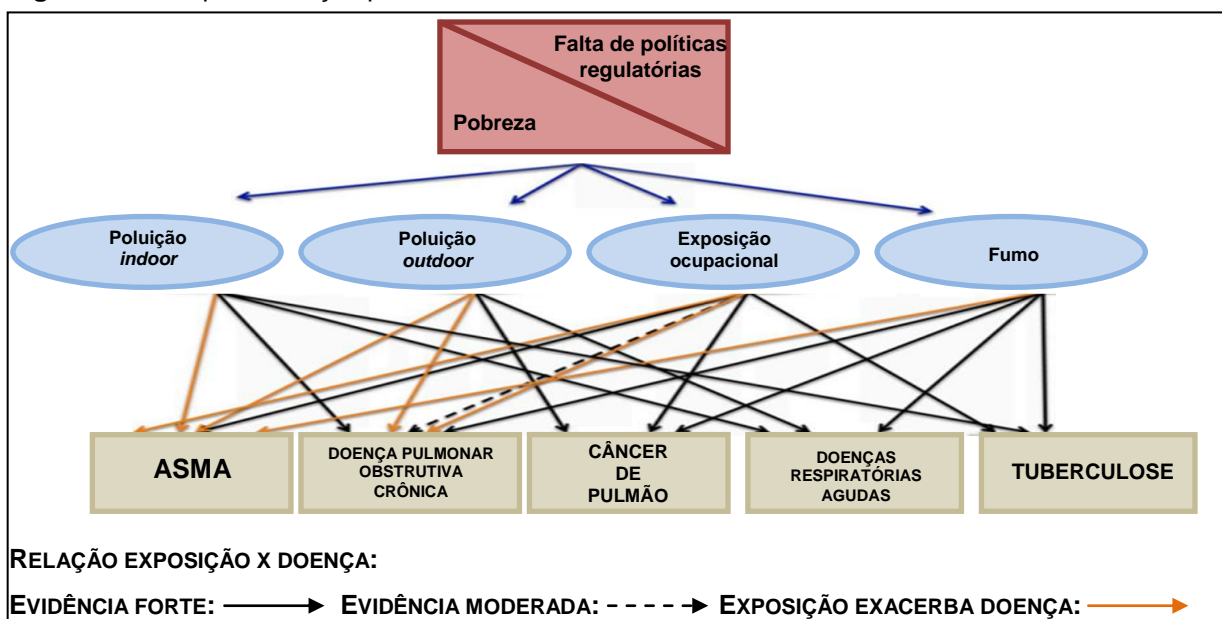
Conhecendo essas definições podemos concluir que a exposição a uma atmosfera poluída faz com que não inalemos apenas o oxigênio necessário à manutenção da vida, mas também poeira, fumaça, produtos químicos, micro-organismos e outras partículas danosas que estão suspensas no ar (RIOS & BOECHAT, 2011).

Com o rápido desenvolvimento econômico e o aumento da população mundial, uma vasta quantidade de recursos tem sido necessária para manter a sociedade, possibilitando que esta possa sustentar suas atividades domésticas e industriais (LEUNG, 2015). No final do XVIII a Revolução Industrial iniciou no Reino Unido, gerando a emissão de grande quantidade de poluentes decorrente do uso de carvão em residências e indústrias, desde então essas emissões vêm aumentando e preocupando a sociedade (SEINFELD & PANDIS, 2016). Segundo a OMS (2016), em 2012, no Brasil, aproximadamente 32.000 mortes ocorreram em decorrência da exposição à poluição do ar, em nível mundial esse número foi de aproximadamente 3,7 milhões de mortes. Na China, a taxa de mortalidade atribuída à poluição do ar é mais elevada, em ordem de magnitude, do que a taxa atribuída a acidentes de trânsito e a Síndrome da imunodeficiência adquirida (YANG *et al.*, 2013).

Nos dias de hoje, a atmosfera é muito diferente da que existia antes da Revolução Industrial (em termos de composição química), se considerarmos que uma “atmosfera natural” é aquela limpa, livre de agentes poluidores, então isto significa que uma atmosfera assim não é encontrada em nenhum lugar atualmente (ZANNETTI, 2007; SEINFELD & PANDIS, 2016). Um dos resultados da evolução industrial e econômica mundial é indiscutivelmente a geração e liberação de uma grande gama de poluentes atmosféricos, por outro lado, ações e estudos que visam conhecer e mitigar a ação desses poluentes também têm aumentado e atraído grande preocupação mundial, devido a todos os prejuízos atrelados a exposição de longo prazo a poluição do ar (GIANICOLO; MANGIA; CERVINO, 2016).

Os poluentes originados pela ação do homem têm sido exaustivamente explorados desde 1970 e assim, com base em inúmeros estudos, associados ao desenvolvimento e/ou piora de condições patológicas (GIANICOLO; MANGIA; CERVINO, 2016). Sabe-se que a exposição à poluição atmosférica pode causar inúmeras doenças pulmonares, como asma, obstrutiva pulmonar crônica (DPOC), câncer de pulmão, doenças respiratórias agudas e tuberculose, sendo que tais desfechos se relacionam intimamente com a falta de políticas regulatórias e a grande pobreza observada em diversos locais do mundo (Figura 1) (BURNETT *et al.*, 2014).

**Figura 1** - Principais doenças pulmonares mundiais e suas causas.



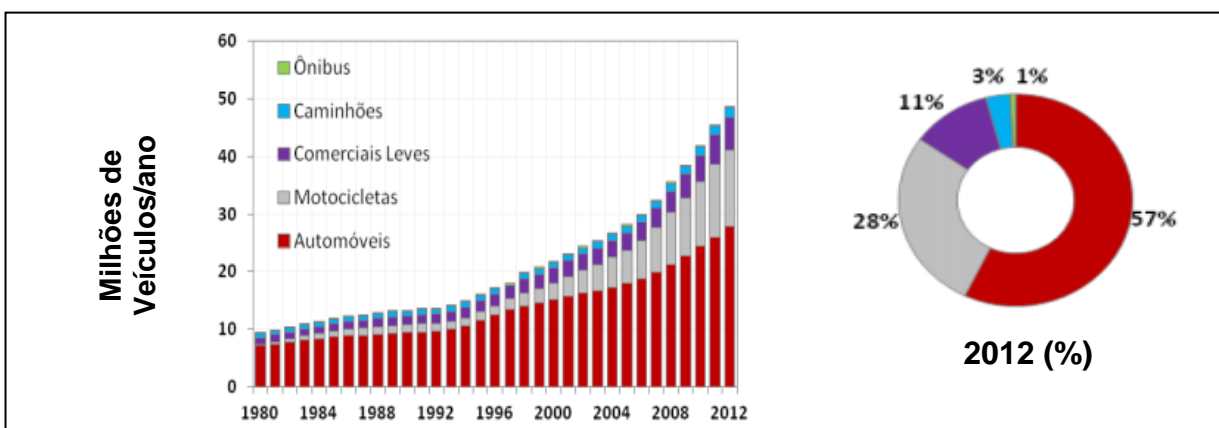
Fonte: Adaptado de SCHLUGER; KOPPAKA, 2014.



Porém, os males causados pelos poluentes atmosféricos vão além dos efeitos sobre o sistema cardio-respiratório, o qual foi primeiro e exaustivamente avaliado. Estudos demonstraram evidências de relação da exposição à poluição do ar com o desenvolvimento de síndrome metabólica e obesidade, infertilidade masculina, autismo, diabetes, Alzheimer e Parkinson (CALDERÓN-GARCIDUEÑAS *et al.*, 2016; DZHAMBOV; DIMITROVA, 2016; FLORES-PAJOT *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2016; MAHALINGAIAH *et al.*, 2016; WEI *et al.*, 2016).

Apesar do aumento dos esforços para minimizar os efeitos deletérios da poluição do ar, proveniente principalmente de fontes antropogênicas, nossa sociedade ainda depende fortemente de combustíveis fósseis para geração de energia em várias aplicações, tais como transportes, indústrias, aquecimento, entre outras (LEUNG, 2015; WEI *et al.*, 2016). Atualmente, os poluentes liberados pelos motores veiculares tornaram-se a questão mais preocupante relacionada à poluição do ar, estudos de monitoramento têm demonstrado que se não pensarmos e agirmos com cautela, a poluição veicular pode causar danos irreversíveis no ambiente que vivemos e diminuir drasticamente a qualidade de vida das futuras gerações, fato esse evidenciado de forma clara no aumento drástico ocorrido na frota veicular do Brasil nos últimos anos (Figura 2) (KHEIRBEK *et al.*, 2016; WEI *et al.*, 2016).

**Figura 2** - Evolução estimada da frota brasileira de veículos, por categoria, até o ano de 2012.



Fonte: Adaptado de BRASIL, 2014.

Além disso, é importante ressaltar que os poluentes do ar afligem a sociedade como um todo, não só em países industrializados, mas também aqueles em desenvolvimento, sendo que a consequência advinda dessa degradação da qualidade do ar traz prejuízos não só à saúde humana, mas a

todo o ecossistema, ao patrimônio histórico cultural, ao sistema econômico e ao clima (DA SILVA *et al.*, 2000; LANDESBURG, 2006).

Com o aumento do conhecimento sobre os danos decorrentes da poluição atmosférica, observamos também o aumento de novas políticas públicas que visam diminuir os níveis de poluentes do ar. Porém, a grande problemática introjetada nessas ações é a escassez de avaliações de efetividade sobre essas novas intervenções (BOOGAARD *et al.*, 2012).

Reduzir o impacto negativo da poluição do ar sobre a saúde humana requer o conhecimento das principais fontes poluidoras, bem como ações de autoridades políticas em diferentes níveis hierárquicos (WANG *et al.*, 2014). A importância de ações que promovam a diminuição de poluentes no ar mostrou-se clara no estudo de Lelieveld e colaboradores (2016), onde os achados sugeriram que aproximadamente 1 milhão de vidas poderiam ser salvas a cada ano se reduzíssemos os níveis de poluentes liberados na atmosfera.

#### 1.1.1 Poluição atmosférica *outdoor* e *indoor*

A poluição atmosférica *outdoor* é definida como aquela presente em ambientes externos, ou seja, que está ao ar livre, já a poluição atmosférica *indoor* é aquela presente no interior de edificações (SOKHI, 2011).

A poluição *outdoor* contempla diversos poluentes, incluindo o material particulado (MP), o dióxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>) e o ozônio (O<sub>3</sub>), os quais foram associados a efeitos adversos, oriundos da exposição em curto prazo, na função pulmonar de idosos, crianças e pacientes com DPOC ou asma crônica (YOUNG *et al.*, 2014). A mistura de poluentes *outdoor* varia consideravelmente no espaço e no tempo, levando em consideração não somente a fonte geradora, mas também o efeito de processos atmosféricos, como variáveis climáticas e processos de oxidação (LOOMIS *et al.*, 2013).

Apesar do grande conhecimento dos efeitos deletérios da exposição à poluição *outdoor*, apenas no ano de 2013 a mesma foi considerada pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) como carcinogênica para humanos, sendo alocada no grupo 1, aquele onde há evidência científica suficiente para estabelecer uma relação de causa e efeito (LOOMIS *et al.*, 2013).

Estudos em pessoas ocupacionalmente expostas a poluição outdoor mostraram aumento na frequência de aberrações cromossômicas e micronúcleos (DEMARINI, 2013). A exposição ao ar exterior poluído em ambientes de exposição ocupacional ou em áreas urbanas/industriais também está associado a alterações na expressão de genes envolvidos em reparação de danos ao DNA, inflamação, resposta imune e estresse oxidativo (SOMERS, 2011).

Em relação à poluição *indoor*, somente a partir dos anos 90 as pesquisas passaram a analisar os ambientes internos, considerando-os também como um local expressivo de concentração de poluentes (SOKHI, 2011). Em nível mundial, quase 3 milhões de pessoas usam combustíveis para cozinhar e aquecer suas casas (ANENBERG *et al.*, 2013). Com o aumento do conhecimento sobre poluição *indoor*, uma nova síndrome foi descrita, a Síndrome do Prédio Doente, a qual é utilizada para descrever situações nos quais os ocupantes de uma mesma edificação vivenciam sintomas agudos de saúde semelhantes, que parecem estar ligados ao tempo demandado na edificação, sem que uma doença específica ou causa possa ser identificada (KELVIN *et al.*, 2016). Estes sintomas incluem: dor de cabeça, náuseas, irritação nos olhos, nariz e/ou garganta, tosse seca, pele seca podendo ser seguida de coceiras, dificuldade de concentração, fadiga, sensibilidade aos odores, rouquidão da voz, alergias, sintomas de resfriado, gripe, aumento da incidência de ataques de asma e alterações de personalidade (JOSHI, 2008).

Diversos estudos destacaram que a poluição *outdoor* pode influenciar na *indoor*, sendo que a intensidade dessa influência irá depender de algumas particularidades, como por exemplo: o tempo que uma janela fica aberta, o tipo de sistema de circulação de ar do ambiente interno, o sistema de vedação do mesmo, entre outros (SARKHOSH *et al.*, 2012; CHOWDHURY *et al.*, 2013).

### 1.1.2 Clima & Poluição atmosférica

Variáveis climáticas como temperatura, umidade, velocidade e direção do vento e altura da camada de mistura, desempenham um importante papel na determinação dos padrões de qualidade do ar sobre diferentes escalas de tempo e espaço (KINNEY, 2008). As relações entre essas variáveis podem atuar na

mudança das emissões de poluentes do ar e, conseqüentemente, nos seus níveis de deposição e concentração na atmosfera (KINNEY, 2008).

Diversos estudos já evidenciaram, por exemplo, que temperaturas elevadas aceleram as reações químicas que levam à formação do O<sub>3</sub>, que ventos calmos e o ar frio do inverno limitam a dispersão de poluentes oriundos de tráfego veicular durante a hora do *rush* que ocorre pela parte da manhã, que emissões de usinas de energia aumentam substancialmente durante ondas de calor (devido ao pico de aumento no uso de ar condicionado), que a chuva pode “limpar” a atmosfera dos poluentes levando-os para os solos ou para águas superficiais (HOGREFE *et al.*, 2005; CCCC, 2006; VANOS *et al.*, 2016).

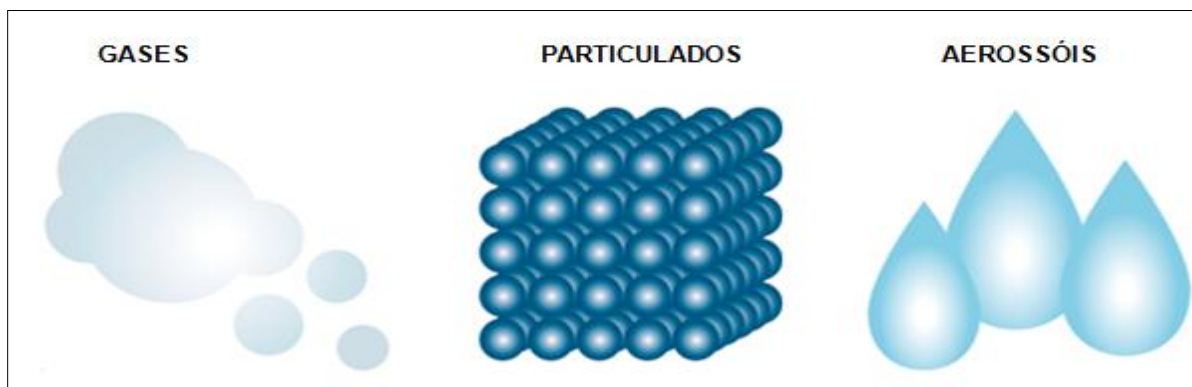
Além disso, um fenômeno muito importante relacionado à dispersão de poluentes é a inversão térmica, processo que ocorre quando o ar frio (mais denso) é impedido de circular por uma camada de ar quente (menos denso), resultando em excessiva presença de poluentes do ar que ficaram abaixo do nevoeiro e são impossibilitados de circular (SPEDDING, 2002; LENZI; FAVERO, 2011).

Já está bem documentada a complexa relação existente entre clima, poluição do ar e desfechos específicos sobre a saúde humana, sabemos que as alterações climáticas induzidas pelo homem são capazes de alterar a distribuição dos poluentes do ar ao longo do tempo e do espaço, sendo assim é importante entender essas influências para melhor compreender a magnitude dos impactos dessas mudanças sobre a qualidade do ar e, conseqüentemente, sobre a qualidade de vida das pessoas expostas à poluição atmosférica (PINKERTON & ROM, 2013; VANOS *et al.*, 2014).

### 1.1.3 Poluentes atmosféricos

Os poluentes atmosféricos podem apresentar-se em diferentes formas, sendo elas: forma gasosa (dióxido de nitrogênio, dióxido de enxofre, monóxido de carbono e ozônio), pequenas partículas sólidas (material particulado) ou em pequenas gotas de líquidos dispersas no ar (aerossóis como os compostos orgânicos voláteis) (Figura 3) (HINRICHS & KLEINBACH, 2011).

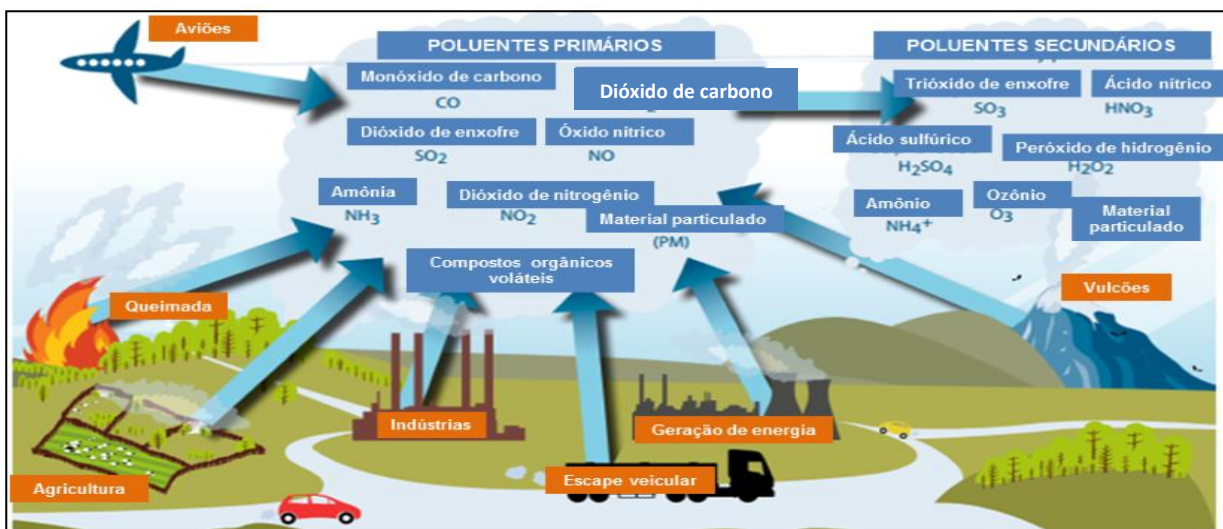
**Figura 3** - Apresentações dos poluentes atmosféricos.



Fonte: Adaptado de SEPA, 2012.

As fontes que emitem poluentes são numerosas e diversas, podendo ser classificadas em naturais, aquelas que incluem os fenômenos da natureza (por exemplo: vulcões em atividade), ou em antropogênicas, aquelas que são resultado da ação direta do homem (por exemplo: uso de veículos automotores) (TORRES; ROCHA; RIBEIRO, 2008). Podemos classificar os poluentes atmosféricos também em relação à mobilidade de sua fonte geradora, podendo ser ela fixa ou móvel (TORRES; ROCHA; RIBEIRO, 2008). Por fim, ainda há a possibilidade de classificar os poluentes do ar em primários ou secundários (ZHANG *et al.*, 2014). Os poluentes primários são definidos como aqueles liberados diretamente da fonte poluidora, já os secundários são aqueles resultantes da interação entre os diferentes compostos químicos presentes na atmosfera e a luz solar (Figura 4) (PHALEN, 2012).

**Figura 4** – Representação da classificação dos poluentes atmosféricos segundo a fonte.



Fonte: Adaptado de SEPA, 2012.

Podemos dizer que os poluentes primários que reagem na atmosfera são os precursores dos poluentes secundários, com isso, sabendo que cada poluente secundário surge de uma reação química específica envolvendo um primário, devemos controlar os poluentes secundários através do controle da quantidade de poluentes primários que geramos e emitimos (ZHANG *et al.*, 2014).

### 1.1.3.2 Material Particulado

O material particulado (MP) refere-se a uma mistura complexa de compostos orgânicos e inorgânicos suspensos no ar em estado sólido ou líquido (SÁNCHEZ-CCOYLLO *et al.*, 2008). O tamanho da partícula de MP é inversamente proporcional ao dano causado quando inalada, isso porque quanto menor a partícula poluente maior é a eficiência da mesma para se infiltrar no sistema respiratório, conseguindo atingir os alvéolos e, conseqüentemente, a circulação sistêmica (ANDRADE *et al.*, 2012).

A fração fina do MP (MP<sub>2,5</sub>) é composta principalmente por sulfatos, amônio, nitrato, compostos de carbono, metais pesados e metalóides, como por exemplo: o mercúrio (Hg), o chumbo (Pb), o cádmio (Cd), o vanádio (V), o cromo (Cr), o manganês (Mn), a prata (Ag), o níquel (Ni), entre outros (KAMPA & CASTANAS, 2008). Apesar de serem componentes naturais da crosta terrestre, esses elementos não podem ser degradados ou destruídos, mas podem ser transportados pelo ar chegando também a outros compartimentos do ambiente. A entrada desses poluentes na atmosfera ocorre por uma ampla gama de fontes, que incluem principalmente os processos de combustão (JARUP, 2003).

Em pequenas quantidades os metais são necessários para as reações metabólicas humanas, no entanto, em concentrações mais elevadas, tornam-se tóxicos (JARUP, 2003). A grande problemática dos metais pesados está na capacidade de bioacumulação que eles apresentam, ou seja, ao longo do tempo há um aumento na concentração de metais em organismos biológicos, que não é evidenciada no ambiente, isso porque esses poluentes são absorvidos e armazenados de forma muito mais rápida do que são metabolizados e/ou excretados (KAMPA & CASTANAS, 2008).

### 1.1.3.2 Dióxido de Nitrogênio

O dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ) é um gás de cor marrom alaranjada, muito tóxico à saúde humana, possui um odor desagradável muito característico, sendo forte e irritante (VESILIND; MORGAN, 2015). O  $\text{NO}_2$  formado naturalmente na atmosfera contribui apenas com 1% de toda a quantidade desse gás encontrada no ar, sendo que os 99% restantes são majoritariamente produto da queima de combustível fóssil em veículos automotores, processos industriais e usinas termoelétricas (DMAP, 2005).

Além de causar danos diretos à saúde humana, o  $\text{NO}_2$  também é um dos responsáveis pela chuva ácida, a qual é resultado da emissão de dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) e óxidos de nitrogênio para a atmosfera (PILEGAARD, 2013). Esses gases reagem com água, oxigênio e outros compostos, formando ácido sulfúrico e ácido nítrico, os quais se juntam a água e a outros materiais antes de precipitarem-se e atingirem o solo (PILEGAARD, 2013).

Em áreas urbanas, onde está concentrada a maior parte da população exposta ao  $\text{NO}_2$ , a maior fonte de emissão deste poluente são os veículos automotores, tanto pela emissão direta de  $\text{NO}_2$  quanto pela rápida reação entre o óxido nítrico (NO) e o ozônio (CYRYS *et al.*, 2012; DEDELE & MISKINYTE, 2015). Por esse motivo o  $\text{NO}_2$  tem sido amplamente utilizado como marcador de tráfego veicular, sabendo que sua variação espacial em centros urbanos está estreitamente relacionada com a proximidade ou não de rodovias (DEDELE & MISKINYTE, 2015).

Diversos estudos epidemiológicos encontraram associações entre as concentrações de  $\text{NO}_2$  na atmosfera e as taxas de morbimortalidade, evidenciando os efeitos adversos causados pela exposição aguda ou crônica ao  $\text{NO}_2$  (CEPA, 2007; OMS, 2013). A exposição de longo prazo ao  $\text{NO}_2$  resulta basicamente no aparecimento ou piora do quadro de tosse crônica, asma e bronquite (NEAS *et al.*, 1991). Mills e colaboradores (2016) desenvolveram uma metanálise sobre os efeitos deletérios da exposição ao  $\text{NO}_2$ , concluindo que um aumento diário de  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  deste poluente está associado com um aumento de 0,71% do risco de morte por causas diversas. Muitas evidências também relacionaram a exposição ao  $\text{NO}_2$  com o desenvolvimento de câncer de pulmão. Hamra e colaboradores (2015) demonstraram que a distância entre o local de

exposição à poluição do ar e as rodovias é inversamente proporcional, ou seja, quanto mais perto de um local de grande tráfego veicular um indivíduo estiver e/ou permanecer, maior o risco do mesmo desenvolver câncer de pulmão.

Além dos danos ao sistema respiratório, os quais são bastante estudados, algumas pesquisas revelaram dados interessantes sobre a exposição ao NO<sub>2</sub>. Chang e colaboradores (2014) associaram exposição a este poluente com aumento do desenvolvimento do risco de demência em uma população de Taiwan (China). Outro estudo desenvolvido na China, na cidade de Guangzhou, demonstrou uma associação positiva entre risco de suicídio e níveis de NO<sub>2</sub>, com um *odds ratio* de 1.15 (95% IC: 1,03 – 1,28) (LIN *et al.*, 2016). O risco de suicídio relacionado com a poluição do ar foi mais elevado em homens com maior nível de escolaridade, sendo que efeitos significativos da poluição foram encontrados em suicídios considerados mais violentos e em estações mais frias (LIN *et al.*, 2016).

Brandt e colaboradores (2014) desenvolveram um estudo de valoração de crise de asma infantil, relacionando a exposição destas crianças ao NO<sub>2</sub>. Tal pesquisa demonstrou que o benefício monetário da diminuição da poluição é alto: mais de US\$ 8 milhões seriam economizados em apenas duas cidades do estado da Califórnia dos Estados Unidos da América (Riverside e Long Beach) em custos relacionados a tratamentos e admissões hospitalares de crianças asmáticas. Esses achados são corroborados por estudos que mostram a associação positiva entre os níveis de NO<sub>2</sub> e as admissões hospitalares, o que resulta no aumento dos gastos com tratamento de doenças respiratórias e cardiovasculares (ALESSANDRINI *et al.*, 2013; MILLS *et al.*, 2016).

É importante destacar que segundo alguns estudos, estima-se que os níveis globais de emissão de NO<sub>2</sub> devem dobrar até o ano de 2050, excedendo o nível considerado como limite crítico (GALLOWAY *et al.*, 2008; CHIUSOLO *et al.*, 2011; SALA *et al.*, 2010).

### 1.1.3.3 Ozônio

O ozônio (O<sub>3</sub>) é a forma triatômica do oxigênio, apresenta-se como um gás incolor e com forte odor ocre, o próprio nome do gás origina-se da palavra grega “*oler*”, que significa cheiro, justamente por essa particularidade (VESILIND; MORGAN, 2015). Embora a maior parte do O<sub>3</sub> da atmosfera esteja concentrado



na estratosfera (camada da atmosfera terrestre situada entre 11- 50 km de altitude), onde absorve radiação ultravioleta, este gás também está presente na troposfera (camada atmosférica mais próxima da superfície terrestre), onde torna-se uma ameaça à saúde humana e à vegetação, sendo também um importante gás responsável pelo efeito estufa (OMS, 2003; FOWLER *et al.*, 2009; LIM *et al.*, 2012; STEVENSON *et al.*, 2013). O O<sub>3</sub> troposférico é formado por uma reação fotoquímica produto da oxidação do radical hidroxil do monóxido de carbono ou de hidrocarbonetos metânicos e não metânicos na presença de óxidos de nitrogênio (SEINFELD & PANDIS, 2006).

O O<sub>3</sub> é também o principal componente do *smog* fotoquímico (névoa fotoquímica), termo originário do Inglês pela união de duas palavras: *smoke* (fumaça) e *fog* (neblina) (WANG *et al.*, 2014). Este fenômeno fotoquímico caracteriza-se pela formação de uma neblina constituída por gases poluentes, como o O<sub>3</sub>, e uma fase líquida constituída de compostos orgânicos e inorgânicos solúveis em água na forma de partículas suspensas (MONKS *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2014). Na maioria das vezes, o *smog* forma-se em grandes cidades com alta densidade populacional, alto fluxo veicular e alta taxa de industrialização, gerando um efeito visual muito característico, uma camada de ar densa e cinza, que quando em situações extremas pode inviabilizar o trânsito terrestre e/ou aéreo (LI *et al.*, 2014). Em 1940, na cidade de Los Angeles (EUA), o *smog* fotoquímico foi identificado pela primeira vez, sendo que o episódio mais conhecido desse fenômeno ocorreu em Londres (1952), onde na época estimou-se a ocorrência de 4 mil mortes decorrentes do efeito agudo da névoa de poluição (MONKS *et al.*, 2015). Estudos mais recentes sugeriram que houve mais de 12 mil mortes entre os anos de 1952 e 1953, em decorrência dos efeitos agudos e persistentes da névoa de poluição (BELL & DAVIS, 2001; KNOX, 2008).

A distribuição do O<sub>3</sub> na superfície terrestre não ocorre uniformemente, em regiões de clima temperado, com estações do ano bem definidas, as concentrações do poluente tendem a ser menores durante os meses frios de inverno e maiores durante os meses quentes do verão (AINSWORTH, 2016). Em relação ao tempo de vida do O<sub>3</sub> na atmosfera, esse gás persiste por algumas horas, já em atmosferas poluídas, como as das regiões urbanas, onde as concentrações de seus gases precursores são altas, o tempo estimado de vida do O<sub>3</sub> troposférico é de algumas semanas (STEVENSON *et al.*, 2006; YOUNG *et al.*,

2013). Salienda-se, porém, que tal acontecimento não ocorre apenas em áreas urbanas, pois a produção e distribuição do O<sub>3</sub> são regidas por reações não-lineares, fazendo com que altos níveis de concentração deste gás sejam encontrados em locais afastados das grandes metrópoles, onde a produção por emissões locais seria ínfima (MEIRA; DUCATI; TEIXEIRA, 2009).

O O<sub>3</sub>, quando em altas concentrações na atmosfera e inalado, age como um oxidante não fisiológico muito poderoso, cujos efeitos são observados quase de imediato no sistema respiratório pela indução de inflamação, sendo que os quadros de rinite, laringite, sinusite e ardência nos olhos estão estreitamente relacionados a este poluente secundário (GIODA & GIODA, 2006; BROMBERG, 2016). Estima-se que as mortes relacionadas a exposição ao O<sub>3</sub> representam de 5-20% das mortes relacionadas a poluição do ar, sendo que estudos epidemiológicos já associaram a exposição a níveis elevados de O<sub>3</sub> com o aumento das taxas de morbidade e mortalidade (BATES, 2005; SILVA *et al.*, 2013).

As concentrações de O<sub>3</sub> troposférico mais do que dobraram desde a Revolução Industrial, no final do século XVIII a média diária mundial desse poluente era de 10 µg/m<sup>3</sup>, sendo que nos dias atuais esse valor encontra-se em 40-50 µg/m<sup>3</sup> (BRAUER *et al.*, 2013; MONKS *et al.*, 2015).

## 1.2 MECANISMOS DE TOXICIDADE DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

O tema que relaciona saúde humana e concentração de poluentes atmosféricos tem ganhado cada vez mais ênfase pelo fato de que 1/3 da população mundial vive em locais onde esses tóxicos estão presentes em níveis elevados (CHRISTOPHERSON, 2012). Os poluentes atmosféricos diferem entre si em relação à composição e propriedades de reações químicas, tempo de metabolização e habilidade em difundirem-se em pequenas ou longas distâncias, podendo gerar efeitos a curto e longo prazo na saúde humana, afetando um grande e vasto número de órgãos e sistemas (KAMPA & CASTANAS, 2008).

O estudo de Dockery e colaboradores (1993) foi o primeiro a investigar a associação entre poluição do ar e mortalidade, tendo como referência a concentração de poluentes usuais em uma cidade. Este estudo é popularmente conhecido como “*Harvard six cities*”, referindo-se à Universidade de Harvard, local

onde o estudo foi desenvolvido, e as seis cidades americanas que foram avaliadas (Portage, Topeka, Watertown, Saint Louis, Harriman e Steubenville) (DOCKERY, *et al.*, 1993).

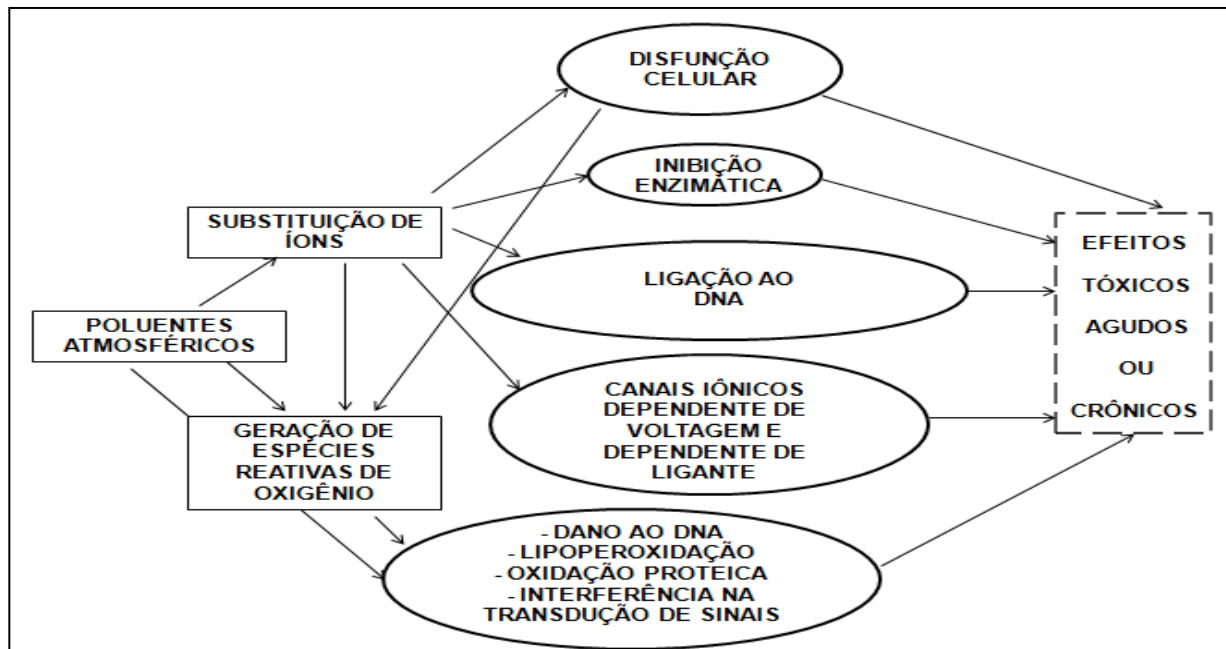
A pele, os olhos, o nariz e os ouvidos são tanto portas de entrada como barreiras para os poluentes atmosféricos, sendo que a forma de exposição mais comum aos poluentes ocorre principalmente por inalação, seguida de absorção e posterior deposição em diferentes tecidos (THRON, 1996; MADDEN; FOWLER, 2000). A diferente composição dos poluentes atmosféricos, a dose e o tempo de exposição e o fato de estarmos expostos a uma mistura de poluentes, e não a um elemento isolado, é um fator chave no grau do efeito deletério sobre a saúde humana (HUANG; GHIO, 2006; SHARMA; AGRAWAL, 2005). Estes efeitos podem variar de sintomas como náuseas, dificuldade para respirar ou irritações cutâneas, até o desenvolvimento de câncer (KUNZLI; TAGER, 2005). Eles também incluem o desenvolvimento de deformidades congênitas, atrasos no desenvolvimento cognitivo de crianças e redução da atividade do sistema imunológico, o que leva ao desenvolvimento de uma série de doenças (KUNZLI; TAGER, 2005; DAVID & GAO, 2016). Além disso, existem vários fatores individuais de suscetibilidade aos poluentes atmosféricos, como idade, estado nutricional e doenças pré-existentes (DAVID & GAO, 2016).

Os mecanismos relacionados aos efeitos deletérios à saúde humana, advindos da exposição à poluição atmosférica, são relacionados com estresse oxidativo e inflamação (Figura 5) (LODOVICI; BIGAGLI, 2011; KELLY, FUSSELL, 2015). O estresse oxidativo é definido como um distúrbio no balanço entre a produção de espécies reativas (ERs), como as de oxigênio e/ou nitrogênio (ERONS) e as defesas antioxidantes, resultando em um dano tecidual (BETTERIDGE, 2000).

Podemos definir as ERs como qualquer espécie química que contém elétrons não pareados, e com isso uma reatividade elevada, tal característica faz com que essas espécies estejam sempre doando ou aceitando elétrons de outras moléculas na busca de estabilidade. Dependendo da molécula com que a ER interage o resultado pode ser, lipoperoxidação lipídica, dano proteico, dano ao DNA, entre outros (BETTERIDGE, 2000, MOLLER *et al.*, 2010; FRAUNBERGER *et al.*, 2016). Como exemplos de ER podemos citar o radical hidroxil (OH), ânion

superóxido ( $O_2^-$ ), metais de transição, como ferro e cobre, óxido nítrico (NO) e peróxinitrito ( $ONOO^-$ ) (FRAUNBERGER *et al.*, 2016).

**Figura 5** – Mecanismos de ação dos poluentes atmosféricos.



Fonte: Adaptado de KAMPA & CASTANAS, 2008.

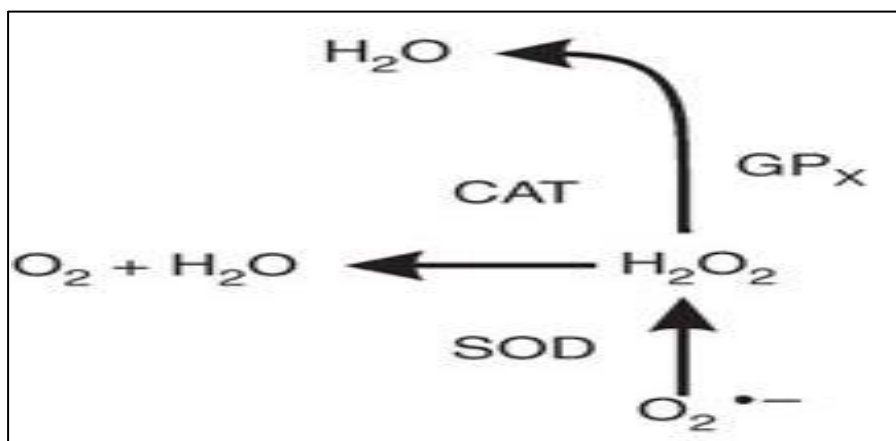
As ERs são formadas em grande quantidade nos seres humanos, como produto de diversos processos bioquímicos imprescindíveis a vida, além disso as ERs também podem ser geradas como uma resposta a exposição à radiação, por exemplo, ou adquiridas diretamente, como na exposição direta a poluentes atmosféricos oxidantes, como o  $NO_2$  e o  $O_3$  (BETTERIDGE, 2000).

Inicialmente, a inflamação atua como um mecanismo protetor que remove o estímulo de injúria e produz ERs que podem induzir morte celular (JAESCHKE, 2011). Nessa fase inicial da inflamação, o estresse oxidativo não é a causa direta de dano celular, pelo contrário, pode induzir a transcrição de genes que codificam antioxidantes (JAESCHKE, 2011; FRAUNBERGER *et al.*, 2016). O dano tecidual é na verdade causado pela liberação adicional de mediadores inflamatórios (como as citocinas) na ausência de real necessidade, devido a exposição a níveis elevados de agentes poluidores, fazendo com que a amplificação dessa resposta gere injúria ao tecido (KELLY, FUSSELL, 2015).

Devido aos agravos teciduais decorrentes dos mecanismos acima citados, desenvolvemos mecanismos de defesa antioxidante capazes de adiar ou inibir o processo oxidativo (GUTTERIDGE, 1995). As defesas antioxidantes celulares

incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) (GUTTERIDGE, 1995). A SOD catalisa a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio, este é considerado um oxidante fraco e relativamente estável, entretanto essa molécula pode rapidamente se difundir nas membranas celulares, e na presença de metais de transição ser convertida no radical hidroxil, pela Reação de Fenton (RISOM; MÖLLER; LOFT, 2005). Dois sistemas enzimáticos podem levar a conversão desse radical em água, a GPx presente no citosol e mitocôndria e a CAT, presente nos peroxissomos (Figura 6) (RISOM; MÖLLER; LOFT, 2005).

**Figura 6** – Representação esquemática do sistema antioxidante enzimático.



Fonte: Adaptado de WEYDERT & CULLEN, 2010.

Além do sistema antioxidante enzimático, temos também o sistema não enzimático, no qual podemos destacar a vitamina C que atua como *scavenger* de ERs e por ser mais hidrossolúvel tem maior ação no plasma sanguíneo, a vitamina A e E que atuam em nível de membrana, por serem mais lipossolúveis, quebrando as cadeias das ERs, e o resveratrol, um composto polifenólico que reduz a geração de ERs (NIMSE; PAL, 2015).

Está claro que o estresse oxidativo é um processo paulatino e complexo, o qual culmina em diferentes níveis de danos celulares (HALLIWELL & WHITEMAN, 2004). Monitorar esse processo não é algo fácil, visto que as ERs são moléculas muito instáveis e, conseqüentemente, difíceis de mensurar (HALLIWELL & WHITEMAN, 2004).

A determinação de macromoléculas que sofreram danos provenientes das ERs tem sido a técnica mais comumente utilizada como medida indireta de mensuração do estresse oxidativo (BRYAN & GRISHAM, 2007). A quantificação

de malondialdeído (MDA), um marcador de lipoperoxidação lipídica, e a quantificação da proteína carbonil, formada durante a oxidação, são alguns exemplos de moléculas que podem ser utilizadas para a avaliação do cenário oxidativo (BOZKUS *et al.*, 2013). Outra forma empregada na verificação do balanço oxidativo consiste na determinação direta de enzimas antioxidantes endógenas, as quais constituem a defesa primária contra as ERs, atuando como detoxificadoras do agente antes que o mesmo cause uma lesão (HALLIWELL & WHITEMAN, 2004; BOZKUS *et al.*, 2013).

### 1.3 PADRÕES DE QUALIDADE DO AR

Com o aumento do desenvolvimento econômico a emissão antropogênica de gases e partículas poluentes tem aumentado progressivamente na atmosfera, sendo que diversas dessas substâncias exercem efeitos deletérios comprovados sobre a saúde humana e o ambiente (IEMA, 2012). Com isso, tornou-se imprescindível o estudo de níveis seguros de exposição aos poluentes atmosféricos, sendo que estes são referência básica para o estabelecimento de Padrões de Qualidade do Ar (PQA) (IEMA, 2012). Os PQA podem ser definidos como “o nível máximo de um poluente na atmosfera, permitido por uma autoridade regulatória” (WHO, 2006) ou “a referência quantitativa dos níveis máximos de contaminação, coerentes com os riscos tidos como aceitáveis para a proteção da saúde e do ambiente” (BRASIL, 1990).

Os PQA são normatizados por meio de *guidelines*, os quais são utilizados como referência, recomendação e/ou indicação para a proteção da saúde humana e do ambiente, no caso dos humanos, os valores de referência buscam concentrações ambientais abaixo das quais não há efeitos adversos, ou nenhum efeito deletério significativo (WHO, 2000). Cabe salientar que apesar das recomendações da OMS tenham aplicação a nível mundial, cada país deve estabelecer seus próprios PQA em função das suas características e circunstâncias específicas, como desenvolvimento do país, dos riscos pré-existentes, da geografia, da economia e outros fatores sociais e políticos (WHO, 2006).

Em 2005, a OMS elaborou a última atualização de suas recomendações de PQA, incluindo o MP10, o MP2,5, o SO<sub>2</sub>, o O<sub>3</sub> e o NO<sub>2</sub> (Quadro 1), sendo que os

valores deste último poluente não sofreram alteração em relação ao *guideline* do ano de 2000 devido à ausência de novas evidências para tal alteração (WHO, 2006).

**Quadro 1** – Recomendações de Padrões de Qualidade do Ar, segundo a OMS, para os principais poluentes atmosféricos.

Poluente atmosférico	Tempo de amostragem				
	10 minutos	1 hora	8 horas	24 horas	Annual
MP2,5	--	--	--	25 µg/m <sup>3</sup>	10 µg/m <sup>3</sup>
MP10	--	--	--	50 µg/m <sup>3</sup>	20 µg/m <sup>3</sup>
O <sub>3</sub>	--	--	100 µg/m <sup>3</sup>	--	--
NO <sub>2</sub>	--	200 µg/m <sup>3</sup>	--	--	40 µg/m <sup>3</sup>
SO <sub>2</sub>	500 µg/m <sup>3</sup>	--	--	20 µg/m <sup>3</sup>	--

Fonte: Adaptado de WHO, 2006.

Em relação ao MP e o O<sub>3</sub>, a revisão de 2005 não foi capaz de definir valores de referência que garantam proteção completa, ou seja, não foi possível identificar valores abaixo dos quais não se observam efeitos prejudiciais (WHO, 2006).

No que diz respeito à Legislação Brasileira e os PQA, no ano de 1989, por meio da Resolução 005/1989, foi instituído o Programa Nacional de Controle da Qualidade do Ar (PRONAR), o qual tem como objetivo ser uma ferramenta que permita o desenvolvimento econômico e social seguro do país, limitando os níveis de poluentes atmosféricos liberados no processo de crescimento tecnológico (BRASIL, 1989). O PRONAR definiu a classificação dos PQA em dois tipos (BRASIL, 1989):

- primários: concentrações de poluentes atmosféricos que, ultrapassadas, poderão afetar a saúde da população, podendo ser entendidos como níveis máximos toleráveis de concentração de poluentes atmosféricos;
- secundários: concentrações de poluentes atmosféricos abaixo das quais se prevê o mínimo efeito adverso sobre o bem-estar da população, podendo ser entendidos como níveis desejados de concentração de poluentes.

Em 1990, pela Resolução 003 do CONAMA, foram definidos os valores recomendados para os seguintes poluentes: partículas totais em suspensão (PTS), referente às partículas com tamanho menor que 100µm, fumaça, partículas inaláveis (MP10), NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, CO e O<sub>3</sub> (Quadro 2) (BRASIL, 1990). Os estados e o Distrito Federal (DF) podem estabelecer PQA próprios, já que segundo a Constituição Federal de 1988, art.24, VI:

Art. 24. Compete à União, aos Estados e ao Distrito Federal legislar concorrentemente sobre:

VI - florestas, caça, pesca, fauna, conservação da natureza, defesa do solo e dos recursos naturais, proteção do meio ambiente e controle da poluição.

**Quadro 2** – Recomendações do CONAMA sobre os principais poluentes atmosféricos.

Poluente atmosférico	Tempo de amostragem			
	1 hora	8 horas	24 horas	Annual
PTS			240 µg/m <sup>3</sup> § 150 µg/m <sup>3</sup> #	80 µg/m <sup>3</sup> § 60 µg/m <sup>3</sup> #
PI (MP10)	--	--	150 µg/m <sup>3</sup> §#	50 µg/m <sup>3</sup> §#
Fumaça	--	--	365 µg/m <sup>3</sup> § 100 µg/m <sup>3</sup> #	80 µg/m <sup>3</sup> § 40 µg/m <sup>3</sup> #
O <sub>3</sub>	160 µg/m <sup>3</sup> §#	--	--	--
NO <sub>2</sub>	320 µg/m <sup>3</sup> § 190 µg/m <sup>3</sup> #	--	--	100 µg/m <sup>3</sup> § 100 µg/m <sup>3</sup> #
SO <sub>2</sub>	--	--	365 µg/m <sup>3</sup> § 100 µg/m <sup>3</sup> #	80 µg/m <sup>3</sup> § 40 µg/m <sup>3</sup> #

§ padrão primário

# padrão secundário

Fonte: Adaptado de BRASIL, 1990.

Salienta-se, porém, que, quando necessário, os limites máximos de emissão de poluentes atmosféricos podem ter valores mais rígidos, os quais devem ser fixados em esfera estadual ou pelo DF (BRASIL, 1990). O estado de São Paulo é o único estado brasileiro que revisou os padrões nacionais vigentes,



e apresentou novas metas de PQA que vão ao encontro dos padrões definidos pela OMS (SÃO PAULO, 2013).

Para simplificar a divulgação dos dados sobre qualidade do ar para a população, no que diz respeito aos efeitos sobre a saúde humana, utiliza-se uma ferramenta matemática nomeada de Índice de Qualidade do Ar (IQA), esta foi baseada no “*Pollutant Standards Index*”, índice desenvolvido pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA, 2014). Este índice transforma as medidas de diferentes poluentes em um único valor, convertendo a concentração do poluente em um número inteiro na escala de 0 a 500, o valor 100 é aplicado ao limite aceitável de qualidade do ar estabelecido pelo CONAMA, um valor maior que esse demonstra que certo poluente ultrapassou a concentração aceitável, e um valor menor que 100 demonstra que a concentração do poluente está satisfatória (Quadro 3) (BRASIL, 1990; USEPA, 2014). Assim, o IQA funciona como uma escala informativa que possibilita que a população planeje atividades diárias de acordo com a característica do ar em dado momento, e serve também como base para tomadas de decisão de políticas públicas relativas à gestão de emissões atmosféricas (GOLD; SAMET, 2013).

**Quadro 3** – Índice de Qualidade do Ar e Níveis de Cautela sobre a saúde humana do NO<sub>2</sub> e O<sub>3</sub>.

QUALIDADE	ÍNDICE	NO <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	O <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	NÍVEIS DE CAUTELA SOBRE A SAUDE
<b>BOA</b>	0 – 50	0 – 100	0 – 80	Seguro a saúde
<b>REGULAR</b>	51 – 100	101 – 320	81 -160	Tolerável
<b>INADEQUADA</b>	101 – 199	321 – 1129	161 – 399	Insalubre para grupos sensíveis
<b>MÁ</b>	200 – 299	1130 – 2259	400 – 799	Muito insalubre (Nível de atenção)
<b>PÉSSIMA</b>	>299	2260 – 2999	800 – 999	Perigoso (Nível de Alerta)
<b>CRÍTICA</b>	400 ou maior	> 3000	> 1000	Muito Perigoso (Nível de Emergência)

Fonte: Adaptado de CETESB, 2013.

## 1.4 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR

Monitorar a qualidade do ar é de suma importância para o gerenciamento do controle de emissões de poluentes atmosféricos, isso porque o monitoramento do ar tem como finalidade quantificar poluentes e avaliar a qualidade da atmosfera em relação aos limites de poluentes aceitáveis, valores estes já pré-estabelecidos nos *guidelines* e leis específicas (SIRBU *et al.*, 2015). Concomitantemente a esse monitoramento, estudos e pesquisas também são indispensáveis para elucidar as causas e as consequências da poluição do ar, propondo formas de controle das emissões de poluentes e da melhoria da qualidade de vida das populações expostas (SIRBU *et al.*, 2015).

Conforme a Resolução CONAMA 003/1990, art. 5º, a execução do monitoramento da qualidade do ar é atribuição dos Estados, visto que os órgãos ambientais têm se esforçado em realizar as determinações estabelecidas na legislação, no entanto, nem sempre há recursos financeiros e técnicos, suficientes para desenvolver o monitoramento em todas as regiões do país (BRASIL, 1990).

O Brasil é constituído de 26 Estados e do DF, estes são alocados em cinco regiões, sendo que a presença de monitoramento da qualidade do ar ocorre em apenas 40% dessas unidades federativas (UF), ou seja, em 11 de um total de 27 (Quadro 4) (VORMITTAG *et al.*, 2014).

**Quadro 4** – Monitoramento da qualidade do ar nas diferentes regiões do Brasil.

	<b>SEM MONITORAMENTO</b>	<b>COM MONITORAMENTO</b>
<b>Centro-Oeste</b>	Mato Grosso do Sul	Goiás, Mato Grosso e Distrito Federal
<b>Nordeste</b>	Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte	Bahia, Sergipe
<b>Norte</b>	Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins	
<b>Sudeste</b>		Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo
<b>Sul</b>	Santa Catarina	Paraná, Rio Grande do Sul

Fonte: Adaptado de VORMITTAG *et al.*, 2014.

As informações referentes à qualidade do ar são resultado de um total de 252 estações de monitoramento, das quais 76% estão localizadas da região Sudeste e 13% na região Sul (VORMITTAG *et al.*, 2014). Em relação às cidades, apenas 1,7% dos municípios brasileiros possuem estações de monitoramento, destas destacam-se São Paulo, com 25 estações, e após, o Rio de Janeiro, com 22 estações (VORMITTAG *et al.*, 2014).

Cabe salientar que, apesar de 11 UF realizarem o monitoramento do ar, nem todos os poluentes atmosféricos são monitorados em cada uma delas, por exemplo, o MP10 e o MP2,5 são monitorados em 82% das estações, já o O<sub>3</sub>, em apenas 46% (VORMITTAG *et al.*, 2014). Além disso, nem todas as 252 estações de monitoramento da qualidade do ar estão ativas. No estado do Rio Grande do Sul, por exemplo, das 8 estações sobre responsabilidade da Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler (FEPAM) apenas 1 equipamento está em operação, este localiza-se na base aérea da cidade de Canoas (FEPAM, 2017). Atualmente, dados referentes a qualidade do ar no Rio Grande do Sul são apenas aqueles coletados por 6 estações sob responsabilidade de empresas situadas na Região Metropolitana de Porto Alegre (FEPAM, 2017). Isso porque o controle pelas companhias é obrigatório para a obtenção do licenciamento ambiental (FEPAM, 2017). Em relação a cidade de Porto Alegre, a mesma possui 3 estações de monitoramento da qualidade do ar sob responsabilidade da Secretaria Municipal do Meio Ambiente (SMAM) localizadas na Estação Centro, Estação Azenha e Estação Humaitá (SMAM, 2017). Porém, deste total nem todas encontram-se ativas (SMAM, 2017).

Em relação à metodologia utilizada para monitorar a qualidade do ar, estas podem ser divididas em (VORMITTAG *et al.*, 2014):

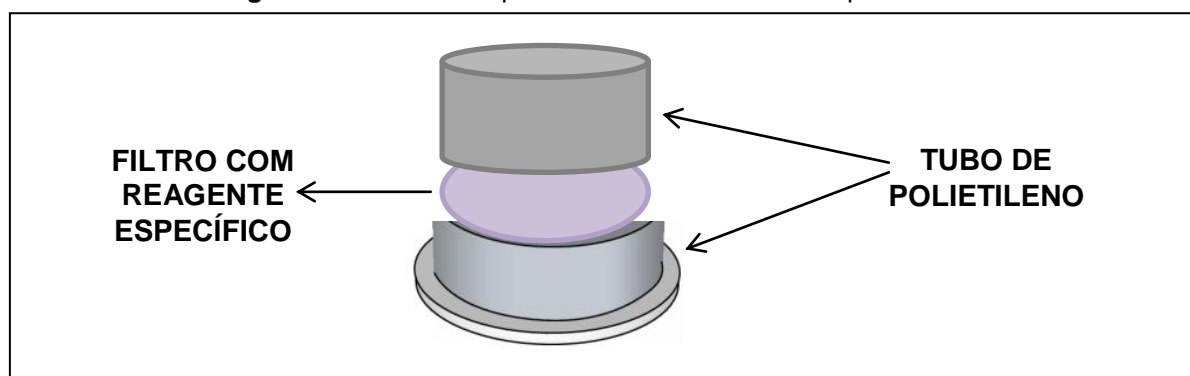
- passiva: não requer movimento ativo do ar por uma bomba, sendo os gases coletados por processo físico, como por exemplo, a difusão, através de uma camada estática de ar ou permeação por uma membrana. As amostras coletadas são levadas para análise em laboratórios com o objetivo de obter-se uma média do poluente atmosférico em determinado período de tempo;
- ativa: requer o uso de uma bomba de amostragem, a qual puxa o ar ativamente. A determinação dos poluentes é realizada por um equipamento específico, na própria estação de monitoramento e em tempo real, ocorrendo assim uma geração contínua de dados.

### 1.4.1 Monitoramento passivo

Os amostradores passivos têm sido largamente utilizados para determinar a qualidade do ar nos locais de trabalho, nos ambientes *indoor* e nos ambientes *outdoor*, onde as pessoas residem e/ou passam grande parte do seu tempo (KRUPAA; LEGGEB, 2000). A amostragem passiva pode ser considerada um dos maiores passos tecnológicos do monitoramento da qualidade do ar nos últimos anos, tendo sido utilizada pela primeira vez na área da saúde e segurança pelos pesquisadores Palmes e Gunninson, os amostradores utilizados por estes cientistas ficaram mundialmente conhecidos como “*Palmes-tubes*” (1973) (GOUIN *et al*, 2005). Ao passo que as aplicações desta tecnologia cresceram e mudaram ao longo dos anos, o número e tipos de amostradores passivos comercialmente disponíveis também aumentaram, tornando-se um componente chave entre as diversas alternativas de dispositivos de amostragem do ar (GOUIN *et al*, 2005).

A coleta passiva do poluente atmosférico pode ser feita por absorção química ou adsorção física, sendo que em geral os amostradores que utilizam a primeira forma são constituídos de um tubo de polietileno cilíndrico, selado na parte superior para evitar o transporte por convecção e a ação da chuva, e um filtro (celulose, fibra de vidro) impregnado com um reagente específico (Figura 7) (CRUZ *et al.*, 2005).

**Figura 7** - Desenho esquemático de um amostrador passivo.



Fonte: Desenvolvido pelo próprio autor.

O uso de filtros pré-tratados com um reagente próprio tem se mostrado como uma tendência em crescimento na amostragem passiva, sendo que nesse caso, o filtro atua como um substrato para o reagente químico, e o componente

de interesse, no caso o poluente atmosférico, difunde-se no filtro e combina-se com o reagente, o que produz um composto estável passível de posterior análise (KNUTSSON; RAUCH; MORRISON, 2014).

A grande maioria dos amostradores passivos, utilizados pelos profissionais da saúde, atuam sobre o princípio da difusão dos gases ao longo de um amostrador de dimensões definidas contendo um meio absorvente, de acordo com a lei de Fick. Esta lei explica o movimento aleatório de partículas a partir de uma região de maior concentração para uma região de baixa concentração, até que dado momento ambos locais se estabilizam com concentrações semelhantes (SOKHI, 1998; TANG; CAPE; SUTTON, 2001). Por esse motivo esses amostradores são também denominados de amostradores de difusão (GOUIN *et al.*, 2005).

Existem diversas questões que devem ser primeiramente consideradas, antes do uso de amostradores passivos, sendo elas:

- correlação ou comparação dos valores obtidos pelo monitoramento passivo com os obtidos pelo monitoramento ativo (MULIK *et al.*, 1991; MANNING *et al.*, 1996).
- linearidade na resposta do amostrador em diferentes concentrações de poluentes (ZHOU & SMITH, 1997)
- especificidade da resposta da reação do reagente absorvente ao poluente de interesse, sem interferências de outros constituintes químicos da atmosfera (KOUTRAKIS *et al.*, 1993);
- efeitos da turbulência do ar sobre a eficiência da coleta nos amostradores (KOUTRAKIS *et al.*, 1993).

Em relação aos efeitos da turbulência do ar sobre o monitoramento passivo, estes podem ser facilmente extinguidos pelo uso de um recurso de proteção, que atua bloqueando a ação do vento e da chuva, fazendo com que haja uma taxa de coleta constante mesmo com uma ampla gama de velocidade de ventos e chuva (KNUTSSON; RAUCH; MORRISON, 2014).

Quando comparado com o monitoramento ativo, a metodologia passiva apresenta algumas vantagens de uso, entre elas (YU; MORANDI; WEISEL, 2008):

- redução de custos;
- material utilizado é simples, compacto e portátil;

- redução de tempo de amostragem;
- redução da geração de resíduos;
- não há necessidade de fonte elétrica devido a inexistência de bomba para sugar o ar;
- permite a aferição dos níveis médios de poluentes atmosféricos ao longo de diversos períodos de tempo (horas a semanas ou meses);
- não requer supervisão depois de instalado;
- ótima opção para utilização em locais remotos e inóspitos;
- pode ser utilizado para medir tanto a poluição *indoor* quanto a *outdoor*.

O monitoramento da qualidade do ar com uso da metodologia de amostragem passiva tem sido amplamente utilizado em todo o mundo, gerando assim, numerosas pesquisas científicas que mensuram poluentes atmosféricos com a utilização desse método (GOUIN *et al*, 2005).

Dentre os inúmeros estudos existentes, podemos citar, por exemplo, o de Kenagy *et al.* (2016), realizado na cidade de Edimburgo (Escócia), o qual utilizou esta técnica de amostragem para mensurar as concentrações de NO<sub>2</sub> em diferentes alturas, com o objetivo de mimetizar a disparidade do contato com poluentes do ar entre crianças e adultos, observando ao final do estudo uma significativa diferença na inalação do poluente pelos diferentes grupos. Na Lituânia, mais especificamente na cidade de Kaunas, um grupo de pesquisadores avaliou as concentrações *indoor* de NO<sub>2</sub> em residências que utilizavam fogões elétricos e residências que utilizavam fogão a gás, sendo que, como imaginado na hipótese pré-pesquisa, as casas que possuíam fogões cuja energia é proveniente de fonte fóssil apresentaram os valores mais elevados do poluente estudado (DEDELE & MISKINYTE, 2016).

Como já citado anteriormente, a metodologia de amostragem passiva é também uma ótima escolha para obtenção de dados relativos à poluição em locais de acesso mais remoto (YU; MORANDI; WEISEL, 2008). Sabendo disso, Semple e colaboradores (2016) quantificaram as concentrações atmosféricas de O<sub>3</sub> no Monte Evereste (Nepal) utilizando a metodologia passiva e observaram que a quantidade deste poluente aumentou em consonância com o aumento da altitude.

Outro estudo, preocupado com a proximidade de escolas de ensino primário com rodovias de grande fluxo, na cidade de Eskisehir (Turquia), avaliou

as concentrações *outdoor* de poluentes atmosféricos presentes nos locais destinados à recreação das crianças (ALTUG *et al.*, 2014). Foi verificada uma significativa elevação nos níveis de poluentes (NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> e SO<sub>2</sub>) nesses locais, os quais foram associados ao aumento de casos de problemas respiratórios das crianças que estudam nessas escolas, quando comparadas a outro grupo cujas escolas estão situadas distantes de um grande tráfego veicular (ALTUG *et al.*, 2014).

### 1.5 BIOMONITORAMENTO HUMANO

A exposição humana a diversos compostos químicos, naturais ou não, tem aumentado o nível de atenção a este tópico, visto que o mesmo tem crescido vertiginosamente e traz consigo a necessidade de monitorar amostras humanas com o objetivo de avaliar o resultado da exposição a compostos perigosos (BONEFELD-JORGENSEN, 2010). O contato com poluentes atmosféricos pode ocorrer por diferentes rotas, como inalação, ingestão e absorção dérmica (BONEFELD-JORGENSEN, 2010). A quantidade absorvida do poluente é denominada como “dose absorvida”, sendo que a carga corporal total de um tóxico específico é determinada por diversos fatores como, a concentração do poluente em um ambiente específico, suas propriedades físicas e químicas e o tempo de exposição, e por fatores individuais de cada sujeito, como taxas de absorção, de metabolismo e de excreção (EEA, 2017).

A partir da compreensão desses conhecimentos, tornou-se necessária a busca de métodos que medissem com precisão não somente o contato com o poluente, mas também a absorção do mesmo pelo organismo vivo (HAYS & AYLWARD, 2008). Primeiramente foram usados métodos mais simplistas e indiretos, como por exemplo: questionários, entrevistas e monitoramento da população, sendo que os resultados dessas metodologias foram um tanto quanto frustrantes (SEXTON; NEEDHAM; PIRKLE, 2004). Uma segunda abordagem foi então proposta: obter a medida direta do poluente no ambiente usando, por exemplo, um monitor portátil que registra a quantidade de produtos químicos no ar ao qual uma pessoa é exposta (SEXTON; NEEDHAM; PIRKLE, 2004). O problema desta técnica está no fato de que apesar dos monitores registrarem a exposição ao poluente, eles não disponibilizam informação relativa à absorção do

poluente pelo indivíduo, o que é essencial para avaliar o risco à saúde (SEXTON; NEEDHAM; PIRKLE, 2004). Com o avanço tecnológico na área da saúde foi então desenvolvida uma nova abordagem: o biomonitoramento humano, definido como “*o método para avaliar a exposição humana a produtos químicos, ou seus efeitos, através da medição destes produtos químicos ou de seus metabólitos em matrizes humanas*” (SEXTON; NEEDHAM; PIRKLE, 2004). Este método tornou-se o padrão ouro para avaliar a exposição humana a produtos químicos, os quais incluem os poluentes atmosféricos (WHO, 2015).

A metodologia do biomonitoramento humano faz uso de biomarcadores, os quais são definidos como “*qualquer substância, estrutura ou processos que são medidos para indicar exposição ou suscetibilidade prevendo assim a incidência ou resultado de determinada doença*” (TONIOLO *et al.*, 1997). Os biomarcadores são classificados em (TONIOLO *et al.*, 1997):

- biomarcadores de exposição: usados para confirmar e avaliar a exposição individual ou de um grupo, para uma substância em particular, estabelecendo uma ligação entre a exposição externa e a quantificação da exposição interna - também conhecidos como bioacumuladores;
- biomarcadores de efeito: usados para documentar alterações pré-clínicas ou efeitos adversos à saúde decorrente da exposição e absorção de uma substância química – também conhecidos como bioindicadores sensíveis.

Os bioindicadores utilizados no biomonitoramento humano compreendem uma vasta gama de matrizes, como por exemplo, o sangue, a urina, a saliva, o leite materno, o suor, as fezes, o cabelo, os dentes, as unhas, entre outras (ALIMONTI *et al.*, 2010). Os dados provenientes do biomonitoramento humano refletem diretamente a carga corporal total do poluente ou o efeito biológico resultante de todas as vias de exposição ao mesmo, além de disponibilizar as taxas individuais de cada pessoa afetada em relação à exposição, ao metabolismo e a excreção (ANGERER *et al.*, 2011). Essas informações são com frequência as mais importantes para avaliar o impacto na saúde dos poluentes atmosféricos, especialmente aqueles bioacumuláveis, que são armazenados por um longo período de tempo no organismo (ANGERER *et al.*, 2011).

O uso do biomonitoramento humano possui diversas vantagens em relação a outros métodos mais tradicionais, onde podemos citar com destaque:



- amostras biológicas revelam os efeitos agregados ao contato repetido com os poluentes;
- possibilidade de contemplar todas as vias de exposição;
- diferentes matrizes biológicas refletem as influências modificadoras da fisiologia, biodisponibilidade e bioacumulação, que podem aumentar as concentrações de alguns químicos ambientais o suficiente para elevá-los acima do limiar de detecção;
- auxílio no estabelecimento de correlações entre exposição e doença nos indivíduos (ANGERER *et al.*, 2006; CHOI *et al.*, 2015).

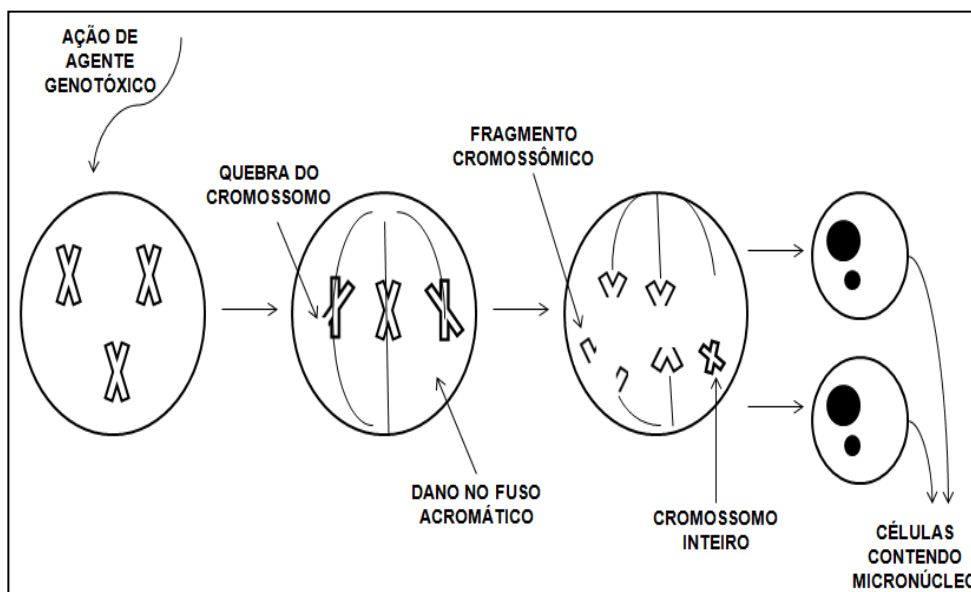
Os riscos e efeitos da exposição humana a contaminantes do ar e o desenvolvimento de efeitos negativos a saúde têm se tornado uma preocupação crescente nos últimos tempos (NEEDHAM; CALAFAT; BARR, 2007). Uma resposta a tal preocupação pode ser percebida pelo aumento de estudos que usam a metodologia do biomonitoramento humano, evidenciado a partir de meados dos anos 80 (NEEDHAM; CALAFAT; BARR, 2007).

O biomonitoramento humano possui um papel essencial na saúde ambiental e na avaliação dos níveis de poluição na população, em grupos populacionais ou em indivíduos (PELUSO *et al.*, 2008). Dentre os métodos mais utilizados podemos citar o ensaio do micronúcleo, um indicador de genotoxicidade, e o uso de unhas como matriz biológica para a avaliação da exposição ambiental a metais pesados e metalóides (HUSSEIN *et al.*, 2008; XIONG *et al.*, 2016).

### 1.5.1 Ensaio do Micronúcleo

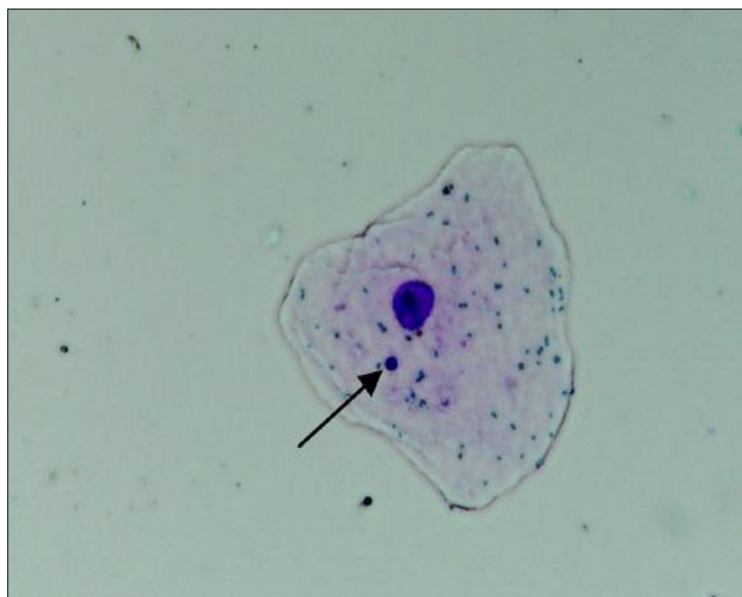
Micronúcleos (MN) são estruturas originadas de fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros que são deixados para trás durante a divisão celular (mitose ou meiose), mais especificamente na fase de anáfase (Figura 8 e 9) (FENECH; CROTT, 2002). O índice de MN encontrados em células humanas tornou-se um dos padrões mais utilizados na toxicologia genética, um dos fatores que contribui para isso é o fato de que os MN podem ser facilmente encontrados em diferentes amostras, como por exemplo, em eritrócitos, linfócitos e em células epiteliais esfoliadas, sendo classificados como bioindicadores sensíveis (mucosa oral, nasal) (SPIVACK *et al.*, 2004).

**Figura 8** – Representação esquemática da formação de micronúcleos.



Fonte: Desenvolvido pelo próprio autor.

**Figura 9** – Fotomicrografia de célula esfoliada de mucosa bucal humana contendo MN com aumento de 500 vezes.



Fonte: Adaptado de Nersesyan *et al.*, 2006.

Em relação às células epiteliais da mucosa bucal, salienta-se que essas são a primeira barreira encontrada pelos poluentes quando os mesmos são inalados ou ingeridos (AUTRUP *et al.*, 1985; ROSIN, 1992). Tal conhecimento explica o fato de que aproximadamente 90% dos cânceres são originados de células epiteliais, tornando possível afirmar que estas células representam um

alvo de preferência para ocorrência de eventos genotóxicos de fases iniciais (AUTRUP *et al.*, 1985; ROSIN, 1992).

Nesse cenário, ainda que o valor preditivo do ensaio do MN no desenvolvimento de câncer esteja sob avaliação, essa é provavelmente uma metodologia promissora para fornecer informações relativas a dano cumulativo ao DNA, como por exemplos, aneuploidias, quebras cromossômicas e modificações no tamanho de telômeros (CAVALLO *et al.*, 2009; THOMAS *et al.*, 2009).

Além do desenvolvimento de neoplasias, os danos genotóxicos são, provavelmente, também a causa fundamental e mais importante no desenvolvimento de doenças degenerativas, sendo resultado, principalmente, do estilo de vida (uso de álcool, tabagismo, estresse, sedentarismo), de fatores genéticos e da exposição ambiental humana a substâncias tóxicas, destacando-se aqui os poluentes atmosféricos (SPEIT; SCHMID, 2003).

Com isso, é essencial possuímos biomarcadores confiáveis e minimamente invasivos para aprimorar o diagnóstico e tratamento de doenças causadas, ou associadas, com dano genético, sendo o ensaio do MN, com uso de células esfoliadas da mucosa bucal, um candidato excelente para esse posto (BENOVA *et al.*, 2002). A coleta dessas células é indiscutivelmente o método menos agressivo disponível atualmente para quantificação de dano ao DNA em humanos, especialmente quando comparamos a outras formas de coletas possíveis, como a de sangue periférico ou a de biópsia de tecidos (HOLLAND *et al.*, 2008).

O ensaio do MN foi proposto pela primeira vez em 1983, e desde então vem ganhando popularidade como um biomarcador de genotoxicidade de inúmeras aplicações, entre elas a relação entre o dano ao DNA e a exposição a ambientes com níveis elevados de poluição atmosférica (STICH; SAN; ROSIN, 1983; HOLLAND *et al.*, 2008). Diversos estudos foram desenvolvidos avaliando a frequência de MN em células de mucosa bucal de crianças expostas a poluentes atmosféricos, demonstrando que as aquelas que viviam em locais com alto nível de poluentes, devido tanto ao grande tráfego veicular quanto a grande quantidade de queimadas florestais, apresentaram uma frequência de MN significativamente mais elevada do que aquelas que não eram expostas a altos níveis de poluição atmosférica (HUEN *et al.*, 2006; HOLLAND *et al.*, 2011; SISENANDO *et al.*, 2012). Outros estudos utilizaram o ensaio do MN para avaliar a exposição

ocupacional de adultos a poluição do ar, sendo observada a mesma tendência dos estudos anteriormente citados, ou seja, quando comparados a trabalhadores não expostos aos poluentes do ar, a frequência de MN nos trabalhadores expostos apresentou valores significativamente mais altos (CELIK; KANIK, 2006; CAVALLO *et al.*, 2009; BARTH *et al.*, 2016).

### 1.5.2 Análise de Metais Pesados e Metalóides

A análise da concentração de elementos químicos em matrizes humanas (como por exemplo, cabelo, unha, sangue, saliva e urina) possui uma relação direta com o índice médio de contaminação por metais ou metalóides no organismo como um todo, sendo classificada como um bioacumulador (ZIELHUIS; HENDERSON, 1986). Em relação ao tipo de matriz, a simplicidade da coleta, transporte e manejo, além das concentrações mais elevadas do que em outros locais, torna as amostras de unhas e cabelo a escolha mais apropriada para monitorar a exposição a esses elementos tóxicos (SUKUMAR; SUBRAMANIAN, 2006).

As unhas são filamentos que guardam a memória da exposição do organismo, ou seja, podem refletir alterações metabólicas de muitos elementos durante longos períodos de tempo, diferentemente de fluidos corporais, como o sangue, por exemplo, que fornece informação de concentrações transitórias (KLEVAY *et al.*, 1997; BARBOSA *et al.*, 2005). O crescimento dessa matriz humana ocorre de forma contínua durante toda a vida, possuindo uma taxa média de crescimento de 0,05-1,2mm por semana, as unhas possuem raízes que são altamente influenciadas pelo estado de saúde das células, fornecendo um registro fidedigno de todo o sistema em questão (WERE *et al.*, 2009).

A análise de metais pesados e metalóides em amostras de unhas é considerada uma técnica simples, porém eficiente para monitorar a resposta do organismo frente às diferentes exposições ambientais, as quais incluem as emissões de poluentes do ar e conseqüente poluição atmosférica ao redor do mundo (AYODELE; BAYERO, 2009). Além disso, o uso de amostras de unhas possui a vantagem de as mesmas não sofrerem influência, na sua concentração de elementos tóxicos, decorrentes de flutuações rápidas do ambiente (AYODELE; BAYERO, 2009).

Este tipo de biomonitoramento, usado para indicar a exposição ambiental a elementos tóxicos, tem recebido muita atenção na literatura científica, ao passo que, muitos pesquisadores já estabeleceram correlações entre a concentração de metais em amostras de unha com a concentração total no corpo humano e a exposição deste a altos níveis de poluição atmosférica (NOWAK; CHMIELNICKA, 2000; WERE *et al.* 2008; FLECK *et al.*, 2017).

Quando ingeridos ou inalados, em uma quantidade excessiva, os metais pesados e metaloides podem afetar o fígado, o cérebro, os ossos e os pulmões, embora cada metal específico cause seus sintomas característicos (BESSER *et al.*, 2007). Exposições prolongadas a pequenas desses elementos, salientando aqui o poder nocivo do MP que em sua composição heterogênea é abundante em metais pesados, podem provocar doenças respiratórias crônicas, câncer, comprometimento neurológico, anormalidades ósseas e infertilidade (JARUP & AKESSON, 2009; WERE *et al.*, 2009; SHAN & IKRAM, 2012, ROBERTS *et al.*, 2013).

## 1.6 TRÂNSITO & POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

O papel dos transportes no desenvolvimento econômico e social das nossas cidades é entendido como fundamental, pois oferece oportunidades para interagir uns com os outros e participar da sociedade, movimentando pessoas e bens de forma eficiente, apoiando uma economia forte (GUDMUNDSSON *et al.*, 2015). Por outro lado, a mobilidade urbana é também considerada a principal fonte de poluição atmosférica em grandes centros, em particular, pelo fato da população utilizar veículos de passeio sem atingir a lotação máxima do mesmo (MRAIHIA *et al.*, 2015). Tal hábito aumenta o número de meios de transporte nas ruas, e assim, conseqüentemente, o número de fontes emissoras de poluentes (MRAIHIA *et al.*, 2015).

Os níveis de poluição do ar, resultantes de fontes veiculares, são influenciados por diversos fatores, como por exemplo: a idade média e tipo de combustível usado nos veículos, as condições de tráfego, a infraestrutura das rodovias e a posição e altura dos prédios (MRAIHIA *et al.*, 2015). O resultado decorrente da relação entre o aumento de veículos e a poluição atmosférica vem em encontro com a ocorrência de vários efeitos deletérios sobre a saúde e a

qualidade de vida da população, principalmente aquelas que vivem em grandes áreas urbanas com maior densidade populacional e desenvolvimento econômico (MRAIHIA *et al.*, 2015).

A poluição veicular ocorre devido à queima do combustível fóssil, utilizado para a geração de energia, em presença de um comburente, neste caso o  $O_2$ , o qual está disponível na atmosfera na proporção de 21% (ARMAROLI; BALZANI, 2011). A quantidade deste gás irá determinar se a combustão será completa ou não, na combustão completa há um excesso de  $O_2$ , formando produtos como o  $CO_2$  e água, já na combustão incompleta, onde o  $O_2$  disponível não é suficiente, ocorre uma oxidação parcial, podendo formar produtos como CO, HC,  $NO_x$ ,  $SO_2$ , entre outros (ARMAROLI; BALZANI, 2011).

Diante dos agravos causados pelos poluentes veiculares, é de grande relevância que as autoridades governamentais foquem na implementação de políticas públicas que visem à mobilidade sustentável e a qualidade de vida da população, visto que a forma como projetamos nossas cidades pode resultar, ou não, em benefícios aos habitantes (MRAIHIA *et al.*, 2015). O desenvolvimento de políticas de transporte e circulação, que se destinam a possibilitar o acesso ilimitado e igualitário do espaço urbano, tem rapidamente se tornado um dos grandes desafios, tanto para países desenvolvidos, como para aqueles em desenvolvimento (EPTING, 2016). Porém, a preocupação dos governantes frente a esta problemática ainda não é satisfatória ao ponto de gerar políticas públicas realmente eficientes e efetivas na resolução desse contexto; muitas vezes parece existir uma ênfase muito pequena no papel dos meios de transportes sobre a saúde pública, apesar da crescente evidência sobre os impactos negativos ambientais, sociais e econômicos associados às práticas atuais de planejamento de mobilidade urbana (EPTING, 2016).

A demanda global de atividades que envolvem transporte (tanto de pessoas como de mercadorias) está crescendo de forma muito acelerada, tanto que estudos preveem um aumento de 100% nesse ramo até o ano de 2050 (ZHAO, 2010). Acredita-se que a frota mundial de veículos deverá multiplicar de 3-4 vezes nas próximas décadas, em contraste a este aumento, melhorias tecnológicas (como veículos mais eficientes em termos de combustível e fontes de energia alternativas) que vão de encontro com as necessidades geradas a partir desse crescimento não são desenvolvidas rapidamente, causando assim

um desbalanço entre os benefícios e os prejuízos da motorização urbana (ZHAO, 2010).

A poluição atmosférica decorrente dos veículos automotores raramente ocorre de uma forma isolada, consistindo em uma complexa mistura de partículas e gases tóxicos dispersos de forma desigual no ambiente (SANCINI *et al.* 2010). Nas últimas décadas observou-se um exponencial aumento no tráfego veicular, sendo que estimativas apontam os veículos automotores como responsáveis pela emissão de aproximadamente  $\frac{1}{4}$  das emissões mundiais de CO<sub>2</sub> (KAMPA & CASTANAS, 2008). No Brasil, as emissões de combustíveis fósseis aumentaram em 63,5%, sendo responsáveis pela emissão de 189.635 Gg de CO<sub>2</sub> em 1990 e de 309.978 Gg de CO<sub>2</sub> em 2005 (BRASIL, 2014; EPTING, 2016).

Os impactos negativos gerados pela exposição humana à atmosfera contaminada vão desde dificuldade em respirar e náuseas até inflamação pulmonar e aumento dos níveis de mortalidade (KAMPA & CASTANAS, 2008). A exposição aos poluentes veiculares está também associada ao aumento dos relatos de casos de asma, rinite e eczema, além de aumentar a mortalidade por doenças cardiovasculares (BRUNEKREEF *et al.*, 2011; HABERMANN *et al.*, 2012). Pesquisadores da Universidade de Berkley (Califórnia) realizaram um estudo mostrando que em regiões com altas concentrações de O<sub>3</sub>, formado basicamente pelos óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) e hidrocarbonetos liberados durante a queima dos combustíveis fósseis, a probabilidade de uma pessoa morrer por problemas respiratórios aumenta 30%, e a cada 10 pontos percentuais de aumento na concentração de O<sub>3</sub> este índice aumenta em 4% (JERRETT *et al.*, 2009).

A distribuição dos poluentes no ar pode variar significativamente dentro de uma mesma cidade, isso porque a dispersão dos poluentes pode ser restringida por obstáculos, como por exemplo, os grandes prédios erguidos nas grandes metrópoles (HERTEL *et al.*, 2008). Dessa forma, pode ocorrer a formação de “*hot spots*”, pontos específicos de grande concentração de poluentes do ar, os quais muitas vezes não são inseridos e quantificados nas redes de monitoramento da qualidade do ar dos municípios (HERTEL *et al.*, 2008). A identificação desses pontos é importante ao que tange o desenvolvimento de medidas mitigadoras para o segmento da população exposta a concentrações mais elevadas de poluentes (HERTEL *et al.*, 2008).

A exposição ao ar poluído, enquanto nos movimentamos em uma cidade, depende muito do tipo de transporte escolhido, bem como da rota escolhida (HERTEL *et al.*, 2008). Uma das grandes dificuldades para a conscientização das pessoas que vivem em grandes centros urbanos, em relação aos perigos da poluição do ar, deve-se ao fato de que suas consequências não são visíveis em curto prazo, e mesmo em longo prazo, muitas vezes não relacionamos os distúrbios de saúde adquiridos com essa exposição (HERTEL *et al.*, 2008).

A poluição veicular é responsável por inúmeras mortes precoces e por diversas alterações climáticas negativas que ocorrem em escala mundial (EWING & CERVERO, 2010). Calcula-se que a emissão de poluentes no ar, por veículos automotores, é a responsável direta pela ocorrência mundial de 184.000 mortes por ano, destas, 91.000 mortes devido a doenças isquêmicas cardíacas, 59.000 mortes devido a acidente vascular cerebral e 34.000 mortes devido a infecções respiratórias, doenças pulmonares obstrutivas crônicas e câncer de pulmão (BHALLA *et al.*, 2014). Estima-se que a emissão de poluentes veiculares é responsável por 5%-10% de todas as mortes prematuras que ocorrem no mundo devido à poluição do ar (LELIEVELD *et al.*, 2015; WALTON *et al.*, 2015).

No Brasil, o crescimento desordenado de médias e grandes cidades tem causado a deterioração da qualidade de vida da população (DE ASSIS; SILVA, 2012). Atualmente, a mobilidade das pessoas no espaço urbano é ameaçada pelo congestionamento que ocorre principalmente nas áreas centrais das cidades nos dias e horários de pico (períodos em que a maioria das pessoas está se deslocando de casa para o trabalho ou vice-versa), momento no qual as concentrações de poluentes no ar aumentam de forma rápida e drástica (SARMIENTO *et al.*, 2010; DE ASSIS; SILVA, 2012).

Hertel e colaboradores (2008) demonstraram que o deslocamento urbano, quando fora de períodos que são considerados horas de *rush*, pode reduzir a exposição individual a poluentes atmosféricos primários em 10% a 30%, e a poluentes secundários de 5% a 20%. Porém, mesmo com todo esse conhecimento, ainda esbarramos em grandes dificuldades para colocar em prática métodos que visem à diminuição desses tóxicos na atmosfera, fato este que está intimamente ligada à inexistência de transporte público de qualidade e a cultura de valorização do transporte individual (DE ASSIS; SILVA, 2012).



### 1.6.1 Frota Brasileira

Usualmente as pessoas associam a concentração de poluentes atmosféricos nas ruas com o trânsito de veículos velhos e grandes, ou seja, quanto mais veículos deste tipo nas ruas, maior é o juízo de poluição do ar (CARVALHO *et al.*, 2011). Esse fato deve-se a liberação de fumaça extremamente preta por esse tipo de veículo, a qual é resultado da emissão do MP, o poluente mais visível no ambiente urbano (CARVALHO *et al.*, 2011). O problema que temos aqui é considerar apenas um poluente como culpado pela poluição atmosférica nos centros urbanos, sendo que sabemos que na verdade há uma heterogeneidade de substâncias tóxicas responsáveis pela degradação desse ambiente (CARVALHO *et al.*, 2011). Para termos uma ideia, em relação à emissão de poluentes, um ônibus com capacidade para 70 passageiros equivale a 50 automóveis de passeio, o problema presente aqui é que destes automóveis, provavelmente, a maioria esmagadora estaria transitando com apenas um passageiro, sendo assim, um total de 20 automóveis a mais seriam necessários para transportar a quantidade equivalente do ônibus (CARVALHO *et al.*, 2011).

A frota brasileira de veículos tem crescido desde o ano de 1980, atingindo em Abril/2017 a quantidade total de 94.812,640 milhões de veículos, sendo 94% da frota constituída por veículos leves (89.107,640 milhões de veículos) e apenas 6% por veículos pesados (5.705,000 milhões de veículos) (BRASIL, 2017). No que diz respeito aos veículos pesados, observa-se uma predominância da frota de caminhões (2,87%) em comparação a frota de ônibus (0,64%) (BRASIL, 2016). Este último dado é um reflexo direto do aumento pela procura por transportes rodoviários de carga, fato este que não ocorre com a procura da população por transportes públicos coletivos (CARVALHO *et al.*, 2011; BRASIL, 2016). Para obter-se uma ideia ainda mais clara do aumento expressivo da frota veicular brasileira, dados do Departamento Nacional de Trânsito (DENATRAN) e do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que no período de 2012 a 2015 ocorreu um aumento de 2,73% na população juntamente com um aumento de 18,5% da frota de veículos leves, ou seja, um crescimento quase 7 vezes maior (BRASIL, 2012, BRASIL, 2015, BRASIL, 2017).

O estado do Rio Grande do Sul está entre os 5 estados brasileiros que mais contribuem com a frota veicular nacional (BRASIL, 2017). No ano de 2015 a

população do estado aumentou em 0,4%, por outro lado, a frota de veículos aumentou 6,4% (BRASIL, 2015). Dados mostram que o total de veículos circulante nas ruas do estado, até Abril/2017, atingiu um total de 6.450,292 milhões de veículos (BRASIL, 2017).

O padrão de crescimento acelerado da frota veicular do Brasil ocorreu, em grande parte, pela colaboração notável das motocicletas (ABRACICLO, 2016). No ano de 1986 a produção nacional das mesmas atingiu 166.994 unidades fabricadas, após 30 anos, em 2016, a produção alcançou a quantidade de 854.839 motocicletas fabricadas, ou seja, um aumento de quase 412% (BRASIL, 2014; ABRACICLO, 2016; BRASIL, 2016). No Brasil, em 1998, o total de motocicletas circulando nas ruas era de 2.792,824, já em 2016 este número chegou a 25.144,845, o que representa um incremento de mais de 800%, em apenas 18 anos (ABRACICLO, 2016; BRASIL, 2016). No estado do Rio Grande do Sul, atualmente, há um total de 1.135,138 motocicletas circulantes, valor este contrastante aos dados referentes ao ano de 1998, onde a frota de motocicletas no estado era de 244.071, essa diferença representa um aumento deste tipo de veículo em aproximadamente 500% neste período (ABRACICLO, 2016; BRASIL, 2016).

O aumento expressivo e constante da frota veicular do país, fato este destacado até aqui, resultou no desenvolvimento de programas específicos para controlar e minimizar as emissões poluentes originárias de veículos automotores (BRASIL, 1986; BRASIL, 2003).

Em 1986 foi criado o Programa de Controle de Poluição do Ar por Veículos Automotores (PROCONVE), este programa tem como pressuposto definir limites para a emissão de poluentes por automóveis e assim conseqüentemente diminuir a liberação de tóxicos atmosféricos pelos mesmos (BRASIL, 1986). Além disso, o PROCONVE também acaba estimulando os fabricantes de automóveis e/ou insumos a buscarem maior desenvolvimento científico e tecnológico para sua linha de produção, um exemplo disso é a nova adequação requerida pelo programa, a qual exige que todas as indústrias nacionais automotivas e de combustíveis usem apenas o padrão de motores e combustível europeu para o desenvolvimento de novos automóveis e/ou combustíveis (BRASIL, 1986).

A mesma preocupação ambiental ocorreu em relação aos efeitos tóxicos das partículas liberadas pelas motocicletas no ar, assim, em 2002, surgiu o

Programa de Controle da Poluição do Ar por Motociclos e Veículos Similares (PROMOT), o qual veio em encontro com a necessidade de maior regulamentação específica para o segmento das motocicletas, levando em consideração o aumento expressivo das mesmas, ocorrido em grande parte pelo desenvolvimento do segmento econômico de prestação de serviços relacionado a entregas rápidas em regiões urbanas (BRASIL, 2002). O PROMOT está atualmente dividido em 4 fases: M1, M2, M3 e M4 (Quadro 5), sendo que apenas a partir da fase M3 (implantada em 2009) as exigências requeridas culminaram na fabricação de novas motocicletas que quase se equiparam aos automóveis, em relação a emissão de poluentes (BRASIL, 2002).

**Quadro 5** – Estratégias de implantação do PROMOT (Fases “M”)

<b>FASE</b>	<b>IMPLANTAÇÃO</b>	<b>CARACTERÍSTICA</b>
<b>M1</b>	2003 - 2005	Estabelecimento de limites iniciais máximos de emissão de gases
<b>M2</b>	2006 - 2008	Redução de 83% da emissão de CO e 60% de HC + NOx
<b>M3</b>	2009 - 2013	Reduções de emissões que chegaram até mais de 50% dos limites previstos na fase anterior
<b>M4</b>	2014 - atual	Reduções nas emissões de HC + NOx e um limite rigoroso para a emissão evaporativa (vapor de combustível)

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2002.

O cenário da frota ativa de motocicletas do país que é consideravelmente antiga, e assim conseqüentemente mais poluidora, é corroborado com o uso do simulador *on-line* da Associação Nacional de Transportes Públicos (ANTP), o qual fornece resultados provenientes da mudança entre um meio de transporte para outro, em uma cidade específica do país (ANTP, 2017). Se utilizarmos Porto Alegre – RS como base para a simulação podemos observar que, se 100% do transporte efetuado pelas motocicletas fosse transferido para automóveis, ainda

assim teríamos uma diminuição de 8% na emissão de poluentes locais, já se o transporte por motocicletas fosse totalmente transferido para os ônibus, a redução de poluentes atmosféricos chegaria a 12%. (ANTP, 2017).

O desafio encontrado na relação entre frota de motocicletas e poluição atmosférica ocorre justamente pela diferença de idade entre o PROCONVE e o PROMOT, havendo uma lacuna de tempo de 16 anos entre suas criações (BRASIL, 1986; BRASIL, 2002). Este atraso no desenvolvimento do PROMOT, e consequentemente de uma legislação que exigisse aparatos tecnológicos que diminuíssem a produção de gases poluentes nas motocicletas e seus similares, culminou no alto tráfego de motocicletas antigas, muito mais poluidoras do que os veículos.

Cabe aqui ressaltar que a idade do veículo, a tecnologia do motor, a composição do combustível, a regulagem e a manutenção do veículo influenciam diretamente nas taxas de emissões de poluentes, fato este facilmente comprovado ao compararmos as motocicletas produzidas até 2008, as quais emitem em média 2,3g de CO/km, enquanto que os carros produzidos no mesmo ano liberam apenas 0,34g CO/km (TEIXEIRA *et al.*, 2008; BLACK, 2010).

#### 1.6.2 Motociclistas Profissionais & Exposição Ocupacional

A exposição a compostos químicos estranhos ao organismo humano, que estão normalmente presentes no ambiente, afeta toda a população, porém, uma parcela desta, que desenvolve seu exercício profissional nesse ambiente insalubre, e assim demanda muito mais horas em contato direto e permanente com a atmosfera poluída, acabam absorvendo os agentes tóxicos em uma quantidade muito maior, e, consequentemente, apresentam reações aos seus efeitos tóxicos muito mais pronunciadas quando comparados com a população em geral (OGA *et al.*, 2008).

A intensidade da exposição ocupacional irá depender de diversos fatores, entre eles: aqueles ligados ao poluente, como sua concentração na atmosfera e suas características físico-químicas, além de fatores ligados ao indivíduo, como idade, gênero, etnia, suscetibilidade genética, tempo e frequência de exposição do indivíduo ao longo da vida, estado nutricional, doenças crônicas, entre outros (FRITSCHI, 2009).

Dentre os grupos que estão ocupacionalmente expostos a poluição do ar, destacamos aqueles que têm as ruas como local de trabalho, como por exemplo, carteiros, fiscais de trânsito, vendedores de ruas (ambulantes), arrecadadores de pedágio e motoristas profissionais (MILLER-SCHULZE *et al.*, 2010).

Pesquisas realizadas com fiscais de trânsito mostraram que esses profissionais estão expostos a altas concentrações de MP10, O<sub>3</sub>, CO e benzeno, possuindo um maior risco de desenvolvimento de câncer e de sintomas intensos de fadiga, bem como o aumento de parâmetros de pressão arterial, quando comparados a um grupo de pessoas que trabalham em ambiente fechado (CHIARELLI *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2013; BORGIE *et al.*, 2014; JAZANI *et al.*, 2015). Estudos desenvolvidos com carteiros evidenciaram que essa classe profissional possui uma maior prevalência de bronquite crônica e sinusite, quando comparados a trabalhadores de escritório, além de uma clara relação entre a exposição ao NO<sub>2</sub> e o decréscimo de funções pulmonares, bem como a exposição ao MP10 e O<sub>3</sub> e sintomas típicos de rinite (ZUSKIN *et al.*, 2000; KARAKATSANI *et al.*, 2010). Em relação aos motoristas profissionais, estudos com taxistas mostraram níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias e de marcadores de dano oxidativo (EKPENYONG *et al.*, 2012; BRUCKER *et al.*, 2013).

Se focarmos um pouco mais, e dermos destaque aos motociclistas profissionais (*motoboys*), os quais realizam serviços de entregas de pequenas mercadorias (principalmente em cidades com alto grau de congestionamento), podemos observar que estes possuem uma longa jornada de trabalho diária, permanecendo expostos por grandes períodos a uma ampla gama de tóxicos atmosféricos (ALQUIMIM *et al.*, 2012). Além disso, os *motoboys* não possuem um ponto e/ou local definido durante sua jornada de trabalho, diferente da grande maioria das outras profissões que permitem ao trabalhador exercer suas funções em locais climatizados e agradáveis (ALQUIMIM *et al.*, 2012).

Ao contrário disso, os motociclistas passam muitas horas do dia no trânsito sendo expostos não só aos poluentes atmosféricos, mas também a variações climáticas bruscas e a péssimas condições de tráfego (ALQUIMIM *et al.*, 2012). Em relação especificamente aos poluentes do ar, pesquisadores japoneses identificaram dentro das cabines de automóveis novos em movimento um total de até 162 compostos tóxicos provenientes da atmosfera exterior, levando em consideração de que os *motoboys* estão diretamente expostos aos poluentes

atmosféricos, pois diferentemente de carros, caminhões e ônibus, não possuem na motocicleta uma cabine que os “proteja” do ar exterior, esse aspecto torna-se outro ponto delicado e prejudicial a essa classe profissional (TOSHIAKI; ICHIRO, 2006).

Um estudo experimental desenvolvido por Chen e colaboradores (2013), relatou que ratos expostos a fumaça oriunda do escape de motocicletas tiveram um aumento do volume cardíaco e diminuição nas enzimas antioxidantes cardíacas (GPx, SOD), achados histopatológicos revelaram a presença de degeneração e necrose do tecido cardíaco, bem como infiltração de células mononucleares e fibrose. Em estudos com humanos, os *motoboys* parecem estar mais expostos a concentrações elevadas de CO, quando comparados a trabalhadores administrativos, apresentando níveis de função pulmonar diminuídos (LAWIN, *et al.*, 2016). Além disso, outro estudo revelou que a depuração mucociliar de *motoboys* é menor do que em outros grupos profissionais, e que grande parte deles apresenta acidificação de vias aéreas e sintomas de problemas pulmonares (BRANT *et al.*, 2014).

## 2. JUSTIFICATIVA

Atualmente, ambientes urbanos possuem um cenário caracterizado por altos níveis de poluição do ar, decorrente de um processo histórico insustentável de urbanização, industrialização e principalmente de desenvolvimento dos meios de transporte. O ar que respiramos não gera impacto apenas em nossa saúde e qualidade de vida, a boa qualidade do ar é um ponto crítico e imprescindível para a manutenção da vida de todos os seres vivos.

Indivíduos expostos ocupacionalmente a poluição do ar são particularmente mais suscetíveis aos efeitos nocivos da mesma. Nesse cenário, levando em consideração o expressivo aumento das frotas veiculares, ocorrido em grande parte pelo substancial incremento de motocicletas circulantes, devemos enfatizar também o aumento dos motociclistas profissionais os quais utilizam a motocicleta como fonte de renda. Tais profissionais surgiram a partir de bases informais, o que levou essa classe trabalhadora a se sujeitar a inúmeras condições adversas para aumentar sua produtividade e lucro, ficando exposta a vários fatores prejudiciais a qualidade de vida, principalmente ao alarmante aumento nos níveis de emissões veiculares de poluentes no ar, tornando assim a saúde desses trabalhadores mais vulnerável.

Considerando os escassos trabalhos direcionados a exposição ocupacional aos poluentes presentes no ar, ainda mais especificamente aos motociclistas profissionais, e, a grande complexidade e alcance da poluição atmosférica como um problema de saúde pública mundial, acreditamos na grande relevância deste trabalho. Tal fato é embasado em sua originalidade, sendo o primeiro trabalho da literatura científica a abordar o tema visando explorar não apenas as doenças advindas da poluição do ar, uma vez que já estão estabelecidas nos motociclistas profissionais, mas também as prévias modificações genéticas e bioquímicas que podem ser observadas nesses indivíduos ainda antes do estabelecimento de doenças originárias do ar contaminado, bem como suas relações com a concentração específica dos principais poluentes liberados pelos veículos automotores.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a exposição ocupacional de motociclistas profissionais e de funcionários administrativos aos poluentes atmosféricos em uma região urbana com elevado fluxo veicular.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração de exposição individual aos poluentes atmosféricos  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$ , através de amostragem passiva;
- Determinar a concentração de metais pesados e metalóides através de espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente em unhas;
- Avaliar o dano oxidativo plasmático através da quantificação da atividade enzimas catalase e superóxido dismutase e do composto malondialdeído;
- Avaliar o efeito genotóxico através do ensaio do micronúcleo em células de mucosa bucal;
- Correlacionar a concentração de exposição individual aos poluentes atmosféricos  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$  com os danos genotóxicos e oxidativos.



#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, E. A. Understanding and improving global crop response to ozone pollution. **Plant J**, v. 90, p. 886-97, Out 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27739639>>.

ALESSANDRINI, E. R. et al. Air pollution and mortality in twenty-five Italian cities: results of the EpiAir2 project. **Epidemiol Prev**, v. 37, n. 4-5, p. 220-9, Jul-Out 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24293488>>.

ALIMONTI, A. et al. Italian network for human biomonitoring of metals: preliminary results from two regions. **Ann Ist Super Sanità**, v. 46, n. 3, p. 259-65, Jan 2010. Disponível em: <[http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-25712010000300006](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-25712010000300006)>

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, Ago 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22899155>>.

ALTUG, H. et al. Effects of ambient air pollution on respiratory tract complaints and airway inflammation in primary school children. **Sci Total Environ**, v. 1, p. 479-80, Mai 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24561926>>.

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, Mar 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22408695>>.

ANENBERG, S. C. et al. Cleaner cooking solutions to achieve health, climate, and economic cobenefits. **Environ Sci Technol**, v. 47, n. 9, p. 3944-952, Mai 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551030>>.

ANGERER, J. et al. Human biomonitoring assessment values: approaches and data requirements. **Int J Hyg Environ Health**, v. 214, n. 5, p. 348-60, Set 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21764371>>.

ANGERER, J. et al. Strategic biomonitoring initiatives: moving the science forward. **Toxicol Sci**, v. 93, n. 1, p. 3-10, Set 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16785253>>.

ARMAROLI, N.; BALZANI, V. The legacy of fossil fuels. **Chem Asian J**, v. 6, n. 3, p. 768-84; Mar 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed21290606>>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE MOTOCICLETAS, CICLOMOTORES, MOTONETAS, BICICLETAS E SIMILARES (ABRACICLO). Dados do setor: motocicletas. São Paulo, 2016. Disponível em: <<http://www.abraciclo.com.br/dados-do-setor>>.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE TRANSPORTES PÚBLICOS (ANTP). Simulador de Impactos Ambientais. Disponível em: <<http://www.antp.org.br/simulador/impactos-ambientais/>>.

AUTRUP, H. et al. Metabolism of Benzo[a]pyrene by cultured rat and human buccal mucosa cells. **Carcinogenesis**, v. 6, n. 12, p. 1761-5, Dez 1985. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4064251>>.

AYODELE, J. T.; BAYERO, A. S. Lead and zinc concentrations in hair and nail of some Kano inhabitants. **African J. Environ Sci. and Tech**, v. 3, n. 6, p. 164-70, Jun 2009. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/ajest/article/view/135246/124739>>.

BARBOSA, F. et al. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 12, p. 1669-74, Dez 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16330345>>.

BARTH, A. et al. Association between inflammation processes, DNA damage, and exposure to environmental pollutants. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 24, n. 1, p. 353-62, Jan 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27718115>>.

BATES, D. V. Ambient ozone and mortality, **Epidemiology**, v. 16, n. 4, p. 427- 9, Jul 2005. Disponível em: <[http://journals.lww.com/epidem/Citation/2005/07000/Ambient\\_Ozone\\_and\\_Mortality.2.aspx](http://journals.lww.com/epidem/Citation/2005/07000/Ambient_Ozone_and_Mortality.2.aspx)>.

BELL, M. L.; DAVIS, L. D. Reassessment of the lethal London fog of 1952: novel indicators of acute and chronic consequences of acute exposure to air pollution. **Environ Health Perspect**, v. 109, n. 3, p. 389-394, Jun 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427388>>.

BENOVA, D. et al. Cytogenetic effects of hexavalent chromium in Bulgarian chromium platers, **Mutat Res**, v. 514, n. 1-2, p. 29-38, Fev 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11815242>>.

BESSER, J. M. et al. Sensitivity of mottled sculpins (*Cottus bairdi*) and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of cadmium, copper, and zinc. **Environ Toxicol Chem**, v. 26, n. 8, p. 1657-65, Ago 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17702339>>.

BETTERIDGE, D. J. What Is Oxidative Stress? **Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 3-8, Fev 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049500800773?showall%3Dtrue%26via%3Dihub#>>.

BHALLA, K. et al. Transport For Health: The Global Burden of Disease From Motorized Road Transport. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2014. Disponível em: <<http://documents.worldbank.org/curated/en/2014/01/19308007/transport-health-global-burden-disease-motorized-road-transport>>.

BONEFELD-JORGENSEN, E. C. Biomonitoring in Greenland: human biomarkers of exposure and effects – a short review. **Rural Remote Health**, v. 10, n. 2, p. 1362, Abr-Jun 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20572746>>.

BOOGAARD, H. et al. Impact of low emission zones and local traffic policies on ambient air pollution concentrations. **Sci Total Environ**, v. 435-436, p. 132-40, Out 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22846773>>.

BORGIE, M. et al. Traffic-related air pollution. A pilot exposure assessment in Beirut, Lebanon. **Chemosphere**, v. 96, p. 122-8, Fev 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24184043>>.

BOZKUS, F. et al. Evaluation of total oxidative stress parameters in patients with nasal polyps. **Acta Otorhinolaryngol Ital**, v. 33, n. 4, p. 248-53, Ago 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24043912>>.

BLACK, W. R. Sustainable transportation: problems and solutions. 1ª ed. Nova Iorque: Guilford Press; 2010.

BRAGA, B. et al., Introdução a Engenharia Ambiental. 2ª ed. Brasil: Prentice Hall; 2005.

BRANDT, S. et al. Cost of near-roadway and regional air pollution-attributable childhood asthma in Los Angeles County. **J Allergy Clin Immunol**, v. 135, n. 5, p. 1028-35, Nov 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25439228>>.

BRANT, T. C. et al. Mucociliary clearance, airway inflammation and nasal symptoms in urban motorcyclists. **Clinics**, v. 69, n. 12, p. 867-70, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25628001>>.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 18, de 1986. Institui, em caráter nacional, o Programa de Controle da Poluição do Ar por Veículos Automotores - PROCONVE. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res1886.html>>.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 05, de 1989. Dispõe sobre o Programa Nacional de Controle da Poluição do Ar - PRONAR. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=81>>.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 03, de 1990. Dispõe sobre padrões de qualidade do ar, previstos no PRONAR. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=100>>.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 297, de 2002. Estabelece os limites para emissões de gases poluentes por ciclomotores, motocicletas e veículos similares novos. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=294>>.

BRASIL. Ministério das Cidades. Departamento Nacional de Trânsito - DETRAN. Frota de Veículos, 2012. Disponível em: <<http://www.denatran.gov.br/index.php/estatistica/237-frota-veiculos>>.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Mudanças Climáticas e Qualidade Ambiental. Departamento de Mudanças Climáticas. Gerência de Qualidade do Ar. 1º Inventário nacional de emissões atmosféricas por veículos automotores rodoviários, 2014. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/163/publicacao/163\\_publicacao27072011055200.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/163/publicacao/163_publicacao27072011055200.pdf)>.

BRASIL. Ministério das Cidades. Departamento Nacional de Trânsito - DETRAN. Frota de Veículos, 2017. Disponível em: <<http://www.denatran.gov.br/index.php/estatistica/237-frota-veiculos>>.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação, 2017. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>>.

BRAUER, M. et al. Traffic-Related Air Pollution and Otitis Media. **Environ Health Perspect**, v. 114, n. 9, p. 1414-8, Set 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16966098>>.

BRAUER, M. et al. Ambient Air Pollution Exposure Estimation for the Global Burden of Disease 2013. **Environ. Sci Techno**, v. 50, n. 1, p. 79-88, Jan 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26595236>>.

BROMBERG, P. A. Mechanisms of the acute effects of inhaled ozone in humans. **Biochim Biophys Acta**, v. 1860, n. 12, p. 2771-81, Dez 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416516302628>>.

BRUNEKREEF, B. et al. Self-reported truck traffic on the street of residence and symptoms of asthma and allergic disease: a global relationship in ISAAC phase 3. **Environ Health Perspect**, v. 117, n. 11, p. 1791-8, Nov 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20049134>>.

BRYAN, N. S.; GRISHAM, M. B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. **Free Radic Biol Med**, v. 43, n. 5, p. 645-57, Set 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17664129>>.

BURNETT, R. T. et al. An integrated risk function for estimating the Global Burden of Disease attributable to ambient fine particulate matter exposure. **Environ Health Perspect**, v. 122, n. 4, p. 397-403, Abr 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24518036>>.

CALDERÓN-GARCIDUENAS, L. et al. Prefrontal white matter pathology in air pollution exposed Mexico City young urbanites and their potential impact on neurovascular unit dysfunction and the development of Alzheimer's disease. **Environ Res**, v. 146, p. 404-17, Abr 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26829765>>.

CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (CEPA). Review of the California ambient air quality standard for nitrogen dioxide. Sacramento: California Environmental Protection Agency Air resources Board, 2007. Disponível em: <<http://www.arb.ca.gov/research/aaqs/no2-rs/no2-doc>>.

CARVALHO, C. H. R. emissões relativas de poluentes do transporte motorizado de passageiros nos grandes centros urbanos brasileiros. Brasília: Ipea, 2011 (Boletim regional, urbano e ambiental, n. 5). Disponível em: <[http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/5574/1/BRU\\_n05\\_emiss%C3%B5es.pdf](http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/5574/1/BRU_n05_emiss%C3%B5es.pdf)>.

CAVALLO, D. et al. Evaluation of a Suitable DNA Damage Biomarker for Human Biomonitoring of Exposed Workers. **Environ Mol Mutagen**, v. 50, n. 9, p. 781-90, Dez 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19449396>>.

CELIK, A.; KANIK, A. Genotoxicity of occupational exposure to wood dust: micronucleus frequency and nuclear changes in exfoliated buccal mucosa cells. **Environ Mol Mutagen**, v. 47, n. 9, p. 693-8, Dez 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17078100>>.

CETESB (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO). Padrões de Qualidade do Ar. São Paulo, Brasil: Sistema Ambiental Paulista. São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://ar.cetesb.sp.gov.br/padroes-de-qualidade-do-ar/>>.

CHANG, K. H. et al. Increased risk of dementia in patients exposed to nitrogen dioxide and carbon monoxide: a population-based retrospective cohort study. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. 103078, Ago 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25115939>>.

CHEN, T. L. et al. Induction of cardiac fibrosis and transforming growth factor- $\beta$ 1 by motorcycle exhaust in rats. **Inhal Toxicol**, v. 25, n. 9, p. 525-35, Ago 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23905969>>.

CHIARELLI, P. S. et al. The association between air pollution and blood pressure in traffic controllers in Santo André, São Paulo, Brazil. **Environ Res**, v. 111, n. 5, p. 650-5, Jul 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21570068>>.

CHIUSOLO, M. et al. Short-term effects of nitrogen dioxide on mortality and susceptibility factors in 10 Italian cities: the EpiAir study. **Environ Health Perspect**, v. 119, n. 9, p. 1233-8, Set 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21586369>>.

CHOI, J. et al. Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety. **EFSA J**, v. 12, n. 2, Fev 2015. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-724>>.

CHOWDHURY, Z. et al. Measurement and modeling of indoor air pollution in rural households with multiple stove interventions in Yunnan, China. **Atmos Environ**, v. 67, p. 161-169, Mar 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231012010230>>.

CHRISTOPHERSON, R. W. Geossistemas: uma introdução à geografia física. 7ª ed. Porto Alegre: Bookman; 2012.

CRUZ, L. P. S. et al. Laboratory validation of a passive sampler for SO<sub>2</sub> atmospheric monitoring. **J Braz Chem Soc**, v. 16, n. 1, Jan-Fev 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S01030532005000100008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01030532005000100008)>.

CYRYS, J. et al. Variation of NO<sub>2</sub> and NO<sub>x</sub> concentrations between and within 36 European study areas: results from the ESCAPE study. **Atmos Environ**, v. 62, p. 374–390, Dez 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231012007716>>.

DALY, A.; ZANNETTI P. Air pollution modeling - An overview. In: ZANNETTI, P.; AL-AJMI, D.; AL-RASHIED, S. (Eds) **Ambient air pollution**. \_\_\_\_\_: The Arab School for Science and Technology and The EnviroComp Institute, 2007. p. 15-28. Disponível em: <<http://home.iitk.ac.in/~anubha/Modeling.pdf>>.

DA SILVA, L. C. et al. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n.4, p. 385-93, Dez 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-4042000000400004&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-4042000000400004&script=sci_abstract&tlng=es)>

DAVID, N.; GAO, H. O. Using Cellular Communication Networks to Detect Air Pollution. **Environ Sci Technol**, v. 50, n. 17, p. 9442–51, Set 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27490182>>.

DE ASSIS, U. W.; SILVA, G. W. VLT: a sustainable solution to urban mobility, in João Pessoa-PB. **Work**, v. 41, n. 1, p. 2169-74, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22317037>>.

DEDELE, A.; MISKINYTE, A. Estimation of inter-seasonal differences in NO<sub>2</sub> concentrations using a dispersion ADMS-Urban model and measurements. **Air Qual Atmos Health**, v. 8, p. 123-133, Fev 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11869-014-0272-9>>.

DEDELE, A.; MISKINYTE A. Seasonal variation of indoor and outdoor air quality of nitrogen dioxide in homes with gas and electric stoves. **Environ Sci Pollut Res**

**Int**, v. 23, n. 17, p. 17784-92, Set 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27250086>>.

DEMARINI, D. M. Genotoxicity biomarkers associated with exposure to traffic and near-road atmospheres: a review. **Mutagenesis**, v. 28, n. 5, p. 485-505, Set 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23945473>>.

DOCKERY, D. W. et al. An Association between Air Pollution and Mortality in Six U.S. Cities. **N Engl J Med**, v. 329, n. 4, p. 1753-759, Dez 1993. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8179653>>.

THE CALIFORNIA CLIMATE CHANGE CENTER (CCCC). DRECHSLER, D. M. et al. (Eds.). Public health-related impacts of climate change in California, Mar 2006. Disponível em: <<http://www.energy.ca.gov/2005publications/CEC-500-2005-197/CEC-500-2005-197-SF.PDF>>.

DZHAMBOV, A. M.; DIMITROVA, D. D. Exposures to road traffic, noise, and air pollution as risk factors for type 2 diabetes: A feasibility study in Bulgaria. **Noise Health**, v. 18, n. 82, p. 133-42, Mai-Jun 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157686>>.

EPTING, S. The Peñalosa Principle of Transportation Democracy: Lessons from Bogotá on the Morality of Urban Mobility. **Sci Eng Ethics**, Dez 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27909953>>.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY (EEA). The role of human biomonitoring in assessing and managing chemical risks, 2017. Disponível em: <<http://www.eea.europa.eu/downloads/4785ab28a17544cbb0e83761fe61a8de/1488537551/introduction.pdf>>.

EWING, R.; CERVERO, R. Travel and the built environment: a meta-analysis. **J Am Plann Assoc**, v. 76, n. 3, p. 265-94, Jun 2010. Disponível em: <<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-77954069125&origin=inward&txGid=BB94CBD77261A014255A6D21B2E0AA5D.wsnAw8kcdt7IPYLO0V48gA%3a2>>.

FENECH, M.; CROTT, J. W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. **Mutat Res**, v. 504, n. 1-2, p. 131-6, Jul 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1210665>>.

FLECK, ADA. S. et al. The use of tree barks and human fingernails for monitoring metal levels in urban areas of different population densities of Porto Alegre, Brazil. **Environ Sci Pollut R**, v. 24, n. 3, p. 2433-441, Jan 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-016-7832-5>>.

FLORES-PAJOT, M. C. et al. Childhood autism spectrum disorders and exposure to nitrogen dioxide, and particulate matter air pollution: A review and meta-

analysis. **Environ Res**, v. 151, p. 763-776, Nov 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27609410>>.

FOWLER, D. et al. Atmospheric composition change: Ecosystems-Atmosphere interactions. **Atmos Environ**, v. 43, p. 5193–5267, Out 2009. Disponível em: <<https://hungary.pure.elsevier.com/en/publications/atmospheric-composition-change-ecosystems-atmosphere-interactions>>.

FRAUNBERGER, E. A.; SCOLA, G.; LALIBERTÉ, V. L. M. Redox Modulations, Antioxidants, and Neuropsychiatric Disorders. **Oxid Med Cell Longev**, 2016. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/4729192/>>.

FRITSCHI, L. Shift work and cancer. **Br Med J**, v. 339, Jul 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19605423>>.

GALLOWAY, J. N. et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions and potential solutions. **Science**, v. 320, n. 5878, p. 889-92, Mai 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18487183>>.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ ROESSLER (FEPAM). Qualidade Ambiental – Monitoramento da Qualidade do Ar, 2017. Disponível em: <[http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/monitor\\_ar](http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/monitor_ar)>.

GIANICOLO, E. A.; MANGIA, C.; CERVINO, M. Investigating mortality heterogeneity among neighbourhoods of a highly industrialised Italian city: a meta-regression approach. **Int J Public Health**, v. 61, n. 7, p. 777-85, Set 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27469353>>.

GIODA, A.; GIODA, F. R. A Influência da Qualidade do Ar nas Doenças Respiratórias. **Health And Environment Journal**, v. 7, n. 1, Jun 2006. Disponível em: <<http://periodicos.univille.br/index.php/RSA/article/view/81>>.

GOLD, D. R.; SAMET, J. M. Air Pollution, Climate, and Heart Disease. **Circulation**, v. 128, n. 21, p. 411-4, Nov 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24249623>>.

GOUIN, T. et al. Passive and Active Air Samplers as Complementary Methods for Investigating Persistent Organic Pollutants in the Great Lakes Basin. **Environ Sci Technol**, v. 39, n. 23, p. 9115-22, Nov 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es051397f>>.

GUTTERIDGE, J. M. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clin Chem**, v. 41, n. 12, p. 1819-28, Dez 1995. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7497639>>.

GUDMUNDSSON, H. et al. Sustainable transportation - Indicators, frameworks and performance management. eBook, 2015. Disponível em: <<http://www.bog-ide.dk/productsamples/9788759324585.pdf>>.



HABERMANN, M. et al. Socioeconomic inequalities and exposure to traffic-related air pollution in the city of São Paulo, Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 30, n. 1, p.119-125, Jan 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24627019>>.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Br. J. Pharmacol**, v. 142, n. 2, p. 231-55, Mai 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15155533>>.

HAMRA, G. B. et al. Lung Cancer and Exposure to Nitrogen Dioxide and Traffic: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Environ Health Perspect**, v. 123, n. 11, p. 1107-12, Nov 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25870974>>.

HAYS, S. M.; AYLWARD, L. L. Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. **J Appl Toxicol**, v. 29, n. 4, p. 275-88, Mai 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19115313>>.

HERTEL, O. et al. A proper choice of route significantly reduces air pollution exposure – a study on bicycle and bus trips in urban streets. **Sci Total Environ**, v. 389, n. 1, p. 58-70, Jan 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17936337>>.

HINRICHS, R. A.; KLEINBACH, M. Energia e Meio Ambiente. 4ª ed. São Paulo: Cengage Learning; 2011.

HOGREFE, C. et al. Considering climate change in US air quality management. **Environ Manag**, p. 19-23, 2005.

HOLLAND, N. et al. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 51-56, Jan 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21164182>>.

HOLLAND, N. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutat Res**, v. 659, n. 1-2, p. 93-108, Jul-Ag 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18514568>>.

HUANG, Y. C.; GHIO, A. J. Vascular effects of ambient pollutant particles and metals. **Curr Vasc Pharmacol**, v. 4, n. 3, p. 199-203, Jun 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16842137>>.

HUEN, K. et al. Application of a geographic information system to explore associations between air pollution and micronucleus frequencies in African American children and adults. **Environ Mol Mutagen**, v. 47, n. 4, p. 236-46, Mai 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16416421>>.

HUSSEIN, W. F. *et al.* Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. **Sci Total Environ**, v. 393, n. 2-3, p. 376-84, Abr 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18243277>>.

INSTITUTO DE ENERGIA E MEIO AMBIENTE (IEMA). Padrões de qualidade do ar: Experiência comparada Brasil, EUA e União Europeia. São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.energiaeambiente.org.br/wp-content/uploads/2015/09/padrees-final01.pdf>>.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Outdoor air pollution a leading environmental cause of cancer deaths. Lyon: WHO, 2013. Disponível em: <[http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/pr221\\_E.pdf](http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/pr221_E.pdf)>.

JAESCHKE, H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: present concepts. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 26, n. 1, p. 173-9, Jan 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21199529>>.

LANDSBERG, H. E. O clima das cidades. **Revista do Departamento de Geografia**, v. 18, n.3, p. 95-111, 2006. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rdg/article/view/47269/51005>>.

LENZI, E.; FAVERO, L. O. B. Introdução à Química da atmosfera. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

JARUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **Br Med Bull**, v. 68, p. 167-82, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14757716>>.

JARUP, L.; AKESSON, A. New Insights into the mechanisms of cadmium toxicity-advances in cadmium research. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 238, n. 3, p. 191-326, Ago 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/0041008X/238>>.

JAZANI, R. K.; SAREMI, M.; REZAPOUR, T. Influence of traffic-related noise and air pollution on self-reported fatigue. **Int J Occup Saf Ergon**, v. 21, n. 2, p. 193-200, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/263237778>>.

JERRETT, M. *et al.* Long-Term Ozone Exposure And Mortality. **N Engl J Med**, v. 360, n. 11, p. 1085-95, Mar 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4105969/>>.

JOSHI, S. M. The sick building syndrome. **Indian J Occup Environ Med**, v. 12, n. 2, p. 61-4, Ago 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20040980>>.

KAMPA, M.; CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. **Environ Pollut**, v. 151, n. 2, p. 362-7, Jan 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17646040>>.

KARAKATSANI, A.; KAPITSIMADIS, F.; PIPIKOU, M. Ambient air pollution and respiratory health effects in mail carriers. **Environ Res**, v. 100, n. 3, p. 278-85, Abr 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20047736>>.

KELLY, F. J.; FUSSELL, J. C. Linking ambient particulate matter pollution effects with oxidative biology and immune responses. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1340, p. 84-94, Mar 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25716617>>.

KENAGY, H. S. et al. Greater nitrogen dioxide concentrations at child versus adult breathing heights close to urban main road kerbside. **Air Qual Atmos Health**, v. 9, p. 589-95, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27547272>>.

KHEIRBEK, I. et al. The contribution of motor vehicle emissions to ambient fine particulate matter public health impacts in New York City: a health burden assessment. **Environ Health**, v. 15, n. 1, p. 89, Ago 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27566439>>.

KINNEY, P. L. Climate Change, Air Quality, and Human Health. **Am J Prev Med**, v. 35, n. 5, p. 459-67, Nov 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18929972>>.

KLEVAY, L. M. et al. Hair analysis in clinical and experimental medicine. **Am J Clin Nutr**, v. 46, n. 2, p. 233-6, Ago 1987. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3303896>>.

KNOX, E. G. Atmospheric pollutants and mortalities in English local authority areas. **J Epidemiol Community Health**, v. 62, n. 5, p. 442-7, Mai 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18413458>>.

KNUTSSON, J.; RAUCH, S.; MORRISON, G. M. Estimation of Measurement Uncertainties for the DGT Passive Sampler Used for Determination of Copper in Water. **Int J Anal Chem**, v. 2014, p. 1-7, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25258629>>.

KOUTRAKIS, P. et al. Measurement of ambient ozone using a nitrite-coated filter. **Anal Chem**, v. 65, n. 3, p. 209-214, 1993. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00051a004>>.

KRUPAA, S. V.; LEGGEB, A. H. Passive sampling of ambient, gaseous air pollutants: an assessment from an ecological perspective. **Environ Pollut**, v. 107, n.1, p. 31-45, Jan 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15093006>>.

KUNZLI, N.; TAGER, I. B. Air pollution: from lung to heart. **Swiss Med Wkly**, v. 135, n. 47-48, p. 697-702, Dez 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16511705>>.

LAWIN, H. et al. A cross-sectional study with an improved methodology to assess occupational air pollution exposure and respiratory health in motorcycle taxi

driving. **Sci Total Environ**, v. 550, p. 1-5, Abr 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26803678>>.

LELIEVELD, J. et al. The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale. **Nature**, v. 525, n. 7569, p. 367-71, Set 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26381985>>.

LEUNG, D. Y. C. Outdoor-indoor air pollution in urban environment: challenges and opportunity. **Front Environ Sci**, Jan 2015. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/272390698>>.

LI, J et al. Fast increasing of surface ozone concentrations in Pearl River Delta characterized by a regional air quality monitoring network during 2006-2011. **J Environ Sci (China)**, v. 26, n. 1, p. 23-36, Jan 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24649688>>.

LIM, Y. H. et al. Air pollution and symptoms of depression in elderly adults. **Environ Health Perspect**, v. 120, n. 7, p. 1023-8, Jul 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22514209>>.

LIMA, T. M. et al. pH in exhaled breath condensate and nasal lavage as a biomarker of air pollution-related inflammation in street traffic-controllers and office-workers. **Clinics (São Paulo)**, v. 68, n. 12, p. 188-94, Dez 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24473505>>.

LIN, G. Z. et al. The impact of ambient air pollution on suicide mortality: a case-crossover study in Guangzhou, China. **Environ Health**, v. 15, n. 1, p. 90, Ago 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27576574>>.

LIU, R. et al. Ambient Air Pollution Exposures and Risk of Parkinson Disease. **Environ Health Perspect**, v. 124, n. 11, p. 1759-65, Nov 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27285422>>.

LENZI, E.; FAVERO, L. O. B. Química da atmosfera. Rio de Janeiro: LTC; 2011.

LODOVICI, M.; BIGAGLI, E. Oxidative Stress and Air Pollution Exposure. **J Toxicol**, v. 2011, p. 1-9, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21860622>>.

LOOMIS, D. et al. The carcinogenicity of outdoor air pollution. **Lancet Oncol**, v. 14, n. 13, p. 1262-3, Dez 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25035875>>.

MADDEN, E. F.; FOWLER, B. A. Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations: a review. **Drug Chem Toxicol**, v. 23, n. 1, p. 1-12, Fev 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10711385>>.

MAHALINGAIAH, S. et al. Adult air pollution exposure and risk of infertility in the Nurses' Health Study II. **Hum Reprod**, v. 31, n. 3, p. 638-47, Mar 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26724803>>.

MANNING, W. J. et al. Ambient ozone (O<sub>3</sub>) in three Class I wilderness areas in the northeastern USA: measurements with Ogawa passive samplers. **Environ Pollut**, v. 91, n. 3, p. 399-403, 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15091433>>.

MEIRA, L.; DUCATI, J. R.; TEIXEIRA, E. C. Avaliação do impacto da resolução espacial de modelos digitais de elevação sobre a estimativa de formação de ozônio superficial usando Models-3. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 24, n. 4, p. 390-98, Dez 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010277862009000400002&script=sci\\_abstr act&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010277862009000400002&script=sci_abstr act&tlng=pt)>.

MILLER-SCHULZE, J. P. et al. Exposures to particulate air pollution and nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons among taxi drivers in Shenyang, China. **Environ Sci Techno**, v. 44, n. 1, p. 216-21, Jan 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20039750>>.

MILLS, I. C. et al. Quantitative systematic review of the associations between short-term exposure to nitrogen dioxide and mortality and hospital admissions. **BMJ Open**, May 2015. Disponível em: <<http://bmjopen.bmj.com/content/5/5/e006946>>.

MOLLER, P.; LOFT, S. Oxidative damage to DNA and lipids as biomarkers of exposure to air pollution. **Environ Health Perspect**, v. 118, n. 8, p.1126-36, Ago 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20423813>>.

MONKS, P. S.; ARCHIBALD, A. T.; COLETTE, A. Tropospheric ozone and its precursors from the urban to the global scale from air quality to short-lived climate forcer. **Atmos Chem Phys**, v. 15, p. 8889-973, Ago 2015. Disponível em: <<http://www.atmos-chem-phys.net/15/8889/2015/acp-15-8889-2015.pdf>>.

MRAIHIA, R.; HARIZIB R.; MRAIHIC, T. Urban air pollution and urban daily mobility in large Tunisia's cities. **Renew Sust Energ Rev**, v. 43, p. 315-30, Mar 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032114009538>>.

MULIK, J. D. et al. Using passive sampling devices to measure selected air volatiles for assessing ecological change. In: **Proceedings of the 1991 US EPA/A&WMA International Symposium**. Petersburg: Air & Waste Management Association, 1991. p. 285-90.

NEEDHAM, L. L.; CALAFAT, A. M.; BARR, D. B. Uses and issues of biomonitoring. **Int J Hyg Environ Health**, v. 210, n. 3-4, p. 229-38, Mai 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17157561>>.

NERSESYAN, A. et al. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 15, n. 10, p. 1835-40, Out 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17035390>>.

NIMSE, S. B.; PALB, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **Chem Sci**, v. 5, 2015. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/ra/c4ra13315c>>.

NOWAK, B.; CHMIELNICKA, J. Relationship of lead and cadmium to essential elements in hair, teeth, and nails of environmentally exposed people. **Ecotoxicol Environ Saf.** v.46, n. 3, p. 265-74, Jul 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10903823>>.

OGA, S. Fundamentos da Toxicologia. 2ª ed. São Paulo: Etheneu; 2008.

PALMES, E. D.; GUNNISON A. F. Personal Monitoring Device for Gaseous Contaminants. **Am Ind Hyg Assoc J**, v. 34, n. 2, p. 78-81, Fev 1973. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4197577>>.

PELUSO, M. *et al.* DNA adduct formation among workers in a Thai industrial estate and nearby residents. **Sci Total Environ**, v. 389, n. 2-3, p. 283-8, Jan 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17935758>>.

PHALEN, R. F. Introduction to air pollution science: a public health perspective. 1ª ed. Burlington: Alpha Press; 2012.

PILEGAARD, K. Processes regulating nitric oxide emissions from soils. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 368, n. 1621, p. 213-26, Jul 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23713124>>.

PINKERTON, K. E.; ROM, W. N. Medical Global Climate Change and Public Health. 3ª ed. Nova Iorque: Humana Press; 2013.

RIOS, J. L.; BOECHAT, J. L. Indoor and outdoor pollution. **Rev Bras Alergia Immunopatol**, v. 34, n. 2, p. 42-8, 2011. Disponível em: <[http://www.asbai.org.br/revistas/vol342/poluicao\\_34\\_2-13.pdf](http://www.asbai.org.br/revistas/vol342/poluicao_34_2-13.pdf)>.

RISOM, L.; MOLLER, P.; LOFT, S. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. **Mutat Res**, v. 592, n. 1-2, p. 119-137, Dez 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16085126>>.

ROBERTS, A. L. *et al.* Perinatal air pollutant exposures and autism spectrum disorder in the children of Nurses' Health Study II participants. **Environ Health Perspect**, v. 121, n. 8, p. 978-84, Ago 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23816781>>.

ROSIN, M. P. The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents, **Mutat Res**, v. 267, n. 2, p. 265-76, Jun 1992. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1376429>>.

SALA, O. E. *et al.* Global biodiversity scenarios for the year 2100. **Science**, v. 287, n. 5459, p. 1770-74, Mar 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10710299>>.

SALDIVA, P. H. et al. Association between air pollution and mortality due to respiratory diseases in children in São Paulo, Brazil: a preliminary report. **Environ Res**, v. 65, n. 2, p. 218-25, Mai 1994. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8187738>>.

SÁNCHEZ-CCOYLLO, O. R. et al. Vehicular particulate matter emissions in road tunnels in Sao Paulo, Brazil. **Environ Monit Assess**, v. 149, n. 1-4, p. 241-9, Fev 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18228152>>.

SANCINI, A. et al. Pulmonary nodules in workers exposed to urban stressor. **Environ Res**, v. 110, n. 5, p. 519-25, Jul 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935110000654>>.

SÃO PAULO. Assembléia Legislativa. Decreto nº 59113, de 2013. Estabelece novos padrões de qualidade do ar e dá providências correlatas. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/norma/?id=170057>>.

SARKHOSH, M. et al. Indoor contaminants from Hardcopy Devices: Characteristics of VOCs in photocopy centers. **Atmos Environ**, v. 63, p. 307–312, Dez 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231012009296>>.

SARMIENTO, O. L. Quality of life, physical activity, and built environment characteristics among colombian adults. **J Phys Act Health**, v.7, n. 2, p. 181-95, Jul 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20702906>>.

SCHLUGER, N. W. et al. Lung disease in a global context. A call for public health action. **Ann Am Thorac Soc**, v. 11, n. 3, p. 407-16, Out 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25172226>>.

SCOTTISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (SEPA). Scottish statutory instruments: Environmental protection - The Pollution Prevention and Control (Scotland), n. 360, Dez 2012. Disponível em: <[http://www.legislation.gov.uk/ssi/2012/360/pdfs/ssi\\_20120360\\_en.pdf](http://www.legislation.gov.uk/ssi/2012/360/pdfs/ssi_20120360_en.pdf)>.

SECRETARIA MUNICIPAL DO MEIO AMBIENTE (SMAM). Controle da Qualidade do Ar em Porto Alegre, 2017. Disponível em: <[http://www2.portoalegre.rs.gov.br/smam/default.php?p\\_secao=130](http://www2.portoalegre.rs.gov.br/smam/default.php?p_secao=130)>.

SEINFELD, J. H.; PANDIS, S. N. Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change. 3ª ed. Nova Iorque: J Wiley; 2016.

SEMPLE, J. L. et al. High Concentrations of Ozone Air Pollution on Mount Everest: Health Implications for Sherpa Communities and Mountaineers. **High Alt Med Biol**, v. 17, n. 4, p. 365-9, Out 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27763773>>.

SEXTON, K.; NEEDHAM L. L.; PIRKLE, J. L. Human Biomonitoring of Environmental Chemicals. **Am Sci**, v. 92, n.1, Jan-Fev 2004. Disponível em: <<http://www.americanscientist.org/issues/page2/human-biomonitoring-of-environmental-chemicals>>.

SHAM, U.; IKRAM, N. Heavy metals in human scalp hair and nail samples from Pakistan: influence of working and smoking habits. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v. 1, p. 54-58, 2012. Disponível em: <[http://www.iscientific.org/Volume\\_1\\_2012/10%20IJCBS-12-1-07.pdf](http://www.iscientific.org/Volume_1_2012/10%20IJCBS-12-1-07.pdf)>.

SHARMA, R. K.; AGRAWAL M. Biological effects of heavy metals: an overview **J Env Biol**, v. 26, n. 2, p. 301-13, Jun 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16334259>>.

SILVA, R. A. et al. Global premature mortality due to anthropogenic outdoor air pollution and the contribution of past climate change. **Environ Res Letters**, v. 8, n. 3, 2013. Disponível em: <<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/8/3/034005>>.

SIRBU, A. et al. Participatory Patterns in an International Air Quality Monitoring Initiative. **PLoS One**, v. 10, n. 8, Ago 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26313263>>.

SISENANDO, H. A. et al. Micronucleus frequency in children exposed to biomass burning in the Brazilian Legal Amazon region: a control case study. **BMC Oral Health**, v. 12, n. 6, p. 1-7, Mar 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22400801>>.

SOKHI, R. S. Urban Air Quality: Monitoring and Modelling. Proceedings of the First International Conference on Urban Air Quality: Monitoring and Modelling University of Hertfordshire, Hatfield, U.K.; 1998.

SOKHI, R. S. World Atlas of Atmospheric Pollution. 1<sup>a</sup> ed. Nova Iorque: Anthen press; 2011.

SOMERS, C. M. Ambient air pollution exposure and damage to male gametes: human studies and in situ "sentinel" animal experiments. **Syst Biol Reprod Med**, v. 57, n. 1-2, p. 63-71, Fev 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21208146>>.

SPEDDING, D. J. Contaminación atmosférica. Barcelona: Reverté, 2002.

SPEIT, G.; SCHMID, O. Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells. **Mutat Res**, v. 613, n. 1, p. 1-9, Set 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16638643>>.

SPIVACK, S. D. et al. Gene-environment interaction signatures by quantitative mRNA profiling in exfoliated buccal mucosal cells. **Cancer Res**, v. 64, n. 18, p. 6805-13, Set 2004. ISSN 1538-7445. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15375000>>.

STEVENSON, D. S. et al. Multimodel ensemble simulations of present-day and near-future tropospheric ozone. **J Geophys Res Atmos**, v. 111, n. 8, Abr 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2005JD6338/abstract>>.



STEVENSON, D. S. et al. Tropospheric ozone changes, radiative forcing and attribution to emissions in the Atmospheric Chemistry and Climate Model Intercomparison Project (ACCMIP). **Atmos Chem Phys**, v. 13, p. 3063-85, 2013. Disponível em: <<https://ntrs.nasa.gov/archive/nasa/casi.ntrs.nasa.gov/20140011862.pdf>>.

STICH H. F.; SAN, R. H.; ROSIN, M. P. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells. **Ann. N. Y. Acad. Sci**, v. 407, p. 93-105, 1983. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6349490>>.

SUKUMAR, A.; SUBRAMANIAN, R. Relative element levels in paired samples of scalp hair and fingernails of patients from New Delhi. **Sci Total Environ**, v. 372, n. 2-3, p. 474-79, Jan 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17140638>>.

TANG, Y. S.; CAPE, J. N.; SUTTON, M. A. Development and Types of Passive Samplers for Monitoring Atmospheric NO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub> Concentrations. **Scientific World Journal**, v. 1, p. 513-29, Out 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12805844>>.

TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; DE SANTANA, R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande Do Sul. **Quim Nova**, v. 31, n. 2, p. 244-48, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-0422008000200010](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-0422008000200010)>.

THOMAS, P.; FENECH, M. Buccal micronucleus cytome assay. **Methods Mol Biol**, v. 682, p. 235-48, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21057932>>.

THRON, R. W. Direct and indirect exposure to air pollution. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 114, n. 2, p. 281-5, Fev 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8637751>>.

TONIOLO, P. et al. Application of Biomarkers in Cancer Epidemiology -- Workshop Report. **IARC Sci Publ**, n. 142, p. 1-18, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9354907>>.

TORRES, F. T. P.; ROCHA, G. C.; RIBEIRO, G. A. Geociência Aplicada – Diferentes Abordagens. Minas Gerais: Geographica; 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA), Office of Air Quality Planning and Standards, Outreach and Information Division, Research Triangle Park, NC. Air quality index: a guide to air quality and your healthy, Fev 2014. Disponível em: <<https://www3.epa.gov/>>.

VANOS, J. K.; HEBBERN, C.; CAKMAK, S. Risk assessment for cardiovascular and respiratory mortality due to air pollution and synoptic meteorology in 10

Canadian cities. **Environ Pollut**, v. 185, p. 322–332, Fev 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24355413>>.

VANOS, J.K. et al. Association of weather and air pollution interactions on daily mortality in 12 Canadian cities. **Air Qual Atmos Health**, v. 8, n. 3, p. 307-20, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26052369>>.

VESILIND, P. A.; MORGAN, S. M. Introdução à Engenharia Ambiental. 2ª ed. São Paulo: Cengage Learning; 2015.

VORMITTAG, E. M. P. A. A. et al. Instituto Saúde e Sustentabilidade, São Paulo; 2014. Disponível em: <<http://www.saudeesustentabilidade.org.br/site/wp-content/uploads/2014/07/Monitoramento-da-Qualidade-do-Ar-no-Brasil-2014.pdf>>.

WALLS, K. L.; BOUIC, M.; BODDY, J. W. The Built Environment - A Missing “Cause of the Causes” of Non-Communicable Diseases. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 10, Set 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27690064>>.

WALTON, H. et al. Understanding the Health Impacts of Air Pollution in London. Londres: King’s College London; 2015. Disponível em: <[https://www.london.gov.uk/sites/default/files/HIAinLondonKingsReport\\_14072015\\_final\\_0.pdf](https://www.london.gov.uk/sites/default/files/HIAinLondonKingsReport_14072015_final_0.pdf)>.

WANG, S. et al. Effectiveness of national air pollution control policies on the air quality in metropolitan areas of China. **J Environ Sci (China)**, v. 26, n. 1, p. 13-22, Jan 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24649687>>.

WANG, X. et al. Particle number concentration, size distribution and chemical composition during haze and photochemical smog episodes in Shanghai. **J Environ Sci**, v. 26, n. 9, p. 1894-902, Set 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25193840>>.

WEI, Y. et al. Chronic exposure to air pollution particles increases the risk of obesity and metabolic syndrome: findings from a natural experiment in Beijing. **FASEB J**, v. 30, n. 6, p. 2115-22, Jun 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891735>>.

WERE, F. H. et al. Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. **Sci Total Environ**, v. 393, n. 2-3, p. 376-84, Abr 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969708000120>>.

WERE, F. H. et al. Comparison of some essential and heavy metals in the toenails and fingernails of school-age children in Kenya. **Bull Chem Soc Ethiop**, v. 23, n. 1, p. 117-22, 2009. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/bcse/article/view/21308>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Air quality guidelines for Europe. WHO regional publications - European series, n. 91. Copenhagen: WHO, 2000. Disponível em: <[http://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0005/74732/E71922.pdf](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf)>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and Sulfur dioxide. Global update 2005. Geneva: WHO, 2006. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/handle/10665/107823>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Human biomonitoring: facts and figures. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. Disponível em: <<http://www.euro.who.int/en/media-centre/events/events/2015/04/ehp-mid-term-review/publications/human-biomonitoring-facts-and-figures>>.

YANG, G. et al. Rapid health transition in China, 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, v. 381, n. 9882, p. 1987-2015, Jun 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23746901>>.

YANG, Y. et al. The association between ambient air pollution and daily mortality in Beijing after the 2008 olympics: a time series study. **PLoS One**, v. 8, n. 10, Out 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24204670>>.

YOSHIDA, T.; MATSUNAGA, I. A case study on identification of airborne organic compounds and time courses of their concentrations in the cabin of new car for private use. **Environ Int**, v. 32, n. 1, p. 58-79, Jan 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15993490>>.

YOUNG, M. T. et al. Ambient air pollution exposure and incident adult asthma in a nationwide cohort of US women. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 190, n. 8, p. 914-21, Out 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25172226>>.

YOUNG, P. J. et al. Pre-industrial to end 21st century projections of tropospheric ozone from the Atmospheric Chemistry and Climate Model Intercomparison Project (ACCMIP). **Atmos Chem Phys**, v. 13, p. 2063–90, 2013. Disponível em: <<http://www.atmos-chem-phys.net/13/2063/2013/>>.

YU, C. H.; MORANDI M.T.; WEISEL C. P. Passive dosimeters for nitrogen dioxide in personal/indoor air sampling: a review. **J Expo Sci Environ Epidemiol**, v. 18, n. 5, p. 441-51, Set 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18446185>>.

XIONG, F. *et al.* Oxidative Stress and Genotoxicity of Long-Term Occupational Exposure to Low Levels of BTEX in Gas Station Workers. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 12, Dez 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5201353/>>.

ZHANG, J. et al. Investigation of carbon dioxide emission in China by primary component analysis. **Sci Total Environ**, v. 472, p. 239-47, Fev 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24295745>>.

ZHAO, P. Sustainable urban expansion and transportation in a growing megacity: Consequences of urban sprawl for mobility on the urban fringe of Beijing. **Habitat Int**, v. 34, n. 2, p. 236-43, Abr 2010. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/248524279\\_Sustainable\\_urban\\_expansion\\_and\\_transportation\\_in\\_a\\_growing\\_megacity\\_Consequences\\_of\\_urban\\_sprawl\\_for\\_mobility\\_on\\_the\\_urban\\_fringe\\_of\\_Beijing](https://www.researchgate.net/publication/248524279_Sustainable_urban_expansion_and_transportation_in_a_growing_megacity_Consequences_of_urban_sprawl_for_mobility_on_the_urban_fringe_of_Beijing)>.

ZHOU, J.; SMITH, S. Measurement of ozone concentrations in ambient air using a badge-type passive monitor. **J Air Waste Manag Assoc**, v. 47, n. 6, p. 697-703, Jun 1997. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10473289.1997.10463932>>.

ZIELHUIS, R. L.; HENDERSON, P. T. Definitions of monitoring activities and their relevance for the practice of occupational health. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 57, n. 4, p. 249-57, 1986. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3519469>>.

ZUSKIN, E. et al. Respiratory findings in mail carriers. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 73, n. 2, p. 136-43, Mar 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10741512>>.

## 5 ARTIGO CIENTÍFICO

5.1 Artigo científico a ser submetido à revista Environmental Health Perspectives.

**“The impact of occupational exposure to traffic-related air pollution among professional motorcyclists and its association with genetic and oxidative damage”**

Roseana Böek Carvalho<sup>1</sup>, Maria Fernanda Hornos Carneiro<sup>2</sup>, Fernando Barbosa Junior<sup>2</sup>, Bruno Lemos Batista<sup>3</sup>, Júlia Simoneti<sup>1</sup>, Sergio Luis Amantea<sup>4</sup>, Cláudia Ramos Rhoden<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Laboratório de Poluição Atmosférica, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil; <sup>2</sup> Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, <sup>3</sup> Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, <sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil

Address correspondence to Cláudia Ramos Rhoden, Rua Sarmiento Leite, 245, Porto Alegre, RS, Brazil, 90050-170. Telephone number: +555133038800. E-mail: crhoden@ufcspa.edu.br

Running title: Harmful effects of air pollution exposure among professional motorcyclists.

Roseana Böek Carvalho received grant support from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

## ABSTRACT

**Background:** Vehicles play an important role in modern life. However, they also generate hazards. Occupational exposed subjects, as professional motorcyclists, are in long-term contact with harmful products derived from engine combusting exhaust. This fact sets these professionals in a susceptible group to damage originating from air pollutants.

**Objectives:** To quantify individual exposure to pollutants gases (NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>) and chemical elements accumulated. To evaluate oxidative damage parameters and genetic damage in professional motorcyclists and office workers placed in an urban location.

**Methods:** We performed a cross-sectional study among professional motorcyclists and office workers from Porto Alegre, Brazil, between January and December 2016. Individual exposure to air pollutants was assessed by passive monitoring. Fingernails trace elements were determined by using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Oxidative stress biomarkers were quantified spectrophotometrically using plasma and genotoxicity was evaluated by micronuclei assay using exfoliated buccal cells.

**Results:** Individual exposure to NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, trace elements content (Sb, Pt, As, Cd, V, Mn and Co), oxidative stress factors and genetic damage were statistically higher in professional motorcyclists than in office workers ( $p < 0.05$ ). Moreover, NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> levels showed a very strong positive correlation with plasmatic lipid peroxidation ( $p < 0.001$  and  $r = 0.8849$  and  $0.8995$ ) and a strong positive correlation with buccal micronuclei frequency ( $p < 0.001$  and  $r = 0.7683$  and  $0.7280$ ).

**Conclusions:** Results suggest that professional motorcyclists are a group at high risk due to long-term atmospheric pollution exposure what can imply in the onset of a large range of harmful effects and worsening of pre-existent diseases.

**Keywords:** Air pollution; Occupational exposure; Oxidative stress, DNA damage; Heavy metals. Metalloids.

## INTRODUCTION

Road vehicle emissions became one of the most important and worrisome sources of human exposure to air pollution, occurring mainly as result of the large increase in the ownership and use of motor vehicles (Ghose et al. 2004; Huang et al. 2012). This increment in automotive fleet has led to severe traffic jam, which is aggravated during peak hours (Kamal et al. 2016). World population of vehicles increased drastically in last two decades, in 1994, worldwide population of passenger cars was 98.305 million and in 2012 the population reached about 773.323 million (Davis et al. 2014). By some estimates, the total number of vehicles worldwide could reach 2.5 billion by 2050 and the total number of motorcycles is provided to reach 50 million by 2020 (HEI 2010). Exposure to traffic-related pollutants occur inside vehicles, however higher and alarming levels are detected outside them (Dons et al. 2012). Environmental issues represent huge threats to public health, particularly the damage caused in occupationally exposed subjects, who are continuously exposed to environmental and chemical toxic compounds (Estévez-García et al. 2013).

In this respect, professional motorcyclists are at great risk of adverse health outcomes (Ekpenyong et al. 2012). These professionals are continuously exposed to vehicles emissions and consequently to a wide number of toxic agents in their workplace (Ekpenyong et al. 2012). Many studies have demonstrated that professionals exposed to air pollution tend to have a significant decrease in lung functions and mucociliary clearance, higher risk of developing cardiovascular and infectious diseases, more phlegm and presence of airway acidification (Ferreira et al. 2009; Wu et al. 2010; Ekpenyong et al. 2012; Brant et al. 2014; Lawin et al. 2016). Others lung measures used in subjects long-term exposed to air pollution are forced expiratory volume in 1 second, forced vital capacity and peak expiratory flow (Gehring et al. 2013). Otherwise, although this accumulating epidemiologic evidence showing that exposure to traffic-related air pollutants plays a central role in pulmonary and cardiovascular dysfunctions, there is still a lack in understanding the mechanism of such effects (Bae et al. 2010). There are no studies attempted to investigate the personal concentration of these pollutants in occupational exposed subjects, as well the first genotoxic and oxidative stress biomarkers change (HEI 2010).

The aim of the present study was to determine the levels of NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> motorcyclists are exposed during working hours, to evaluate the genotoxic rate and

biomarkers of oxidative stress in addition to the levels of traffic-related chemical elements accumulated in nails of professional motorcyclists and office workers from an urban location.

## **METHODS**

### ***Study design and sample collection***

This cross-sectional study was carried out between January and December 2016. The study was approved by the local ethics committee (CEP 1.331.721) and followed Helsinki Declaration premises.

We recruited professional motorcyclists, presumably exposed to high levels of air pollution, from Motorcyclists Labor Union of Porto Alegre – RS (Southern Brazil) and office workers, as a control group, from a private university located in the same city. Our choice to office workers as a control group has been largely used in others studies evaluating effects in outdoor workers, because these subjects are also exposed to similar environmental levels of air pollution (Wolkoff et al. 2015; Hou et al. 2016; Pradhan et al. 2016). This fact made office workers an appropriate control group for a comparison to evaluate changes in occupationally exposed professional motorcyclists.

Inclusion criteria for exposed and nonexposed groups were: to be a healthy male without any established pulmonary and/or cardiovascular disease, aged 18-45 years who were working 8-12 hours per day for at least 6 months in the current job. Subjects were excluded if they were taking medications (e.g., anti-oxidants) that might alter study outcomes. All professionals had to work in Porto Alegre downtown (latitude and longitude 30°01'59"S51°13'47"W) (Brazil) which is considered to have a heavy traffic flow. This city has approximately 1.409 million inhabitants (2.83 people per km<sup>2</sup>) and 93.597 thousand motor vehicles. The subjects were enrolled in this study after they gave their written informed consent and filled in a sociodemographic and a medical history questionnaire. Data from the questionnaires was used in order to confirm that subjects in both groups had similar characteristics and to control potential confounding factors.

In each air pollutants measurement periods biological samples were collected from both studied groups. Approximately 5ml venous blood was collected in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (1.5mg/ml of blood) (BD Vacutainer®). The plasma was separated from blood within 2 hours after collection and immediately stored at a –80°C freezer for later analyses. Fingernails samples were collected from hands using ceramic



scissors and were kept in metal-free conical centrifuge tubes (BD Falcon™ Tubes) at room temperature. Buccal cell collection started asking subjects to rinse their mouth twice with tap water, and then exfoliated cells from the buccal mucosa were collected using a sterile wooden spatula. The material was submerged in 10ml of fixation solution containing ethanol and acetic acid (3:1). All samples were coded so that confidentiality was maintained.

### *Air pollutants and meteorological parameters*

Air pollutants measurements occurred in Summer (8 to 15 February and 01 to 08 March), Fall (23 to 30 April and 16 to 23 May), Winter (01 to 08 June and 01 to 08 July) and Spring (13 to 20 September and 05 to 12 October). Air pollutants measurements were expressed in  $\mu\text{g}$  of  $\text{NO}_2/\text{m}^3/\text{h}$  and  $\mu\text{g}$  of  $\text{O}_3/\text{m}^3/8\text{h}$  to facilitate the analogy with the Air Quality Guidelines (WHO 2006). Meteorological parameters were monitored to ensure that they were adequate to the methodology and tube design chosen (Plaisance et al, 2004). These values were obtained from INMET (National Institute of Meteorology) recorded at José Luiz Carneiro Cruz public square (Porto Alegre, Brazil).

Passive sampling was based on Fick's 1<sup>st</sup> Law, which postulates that air progresses along a concentration gradient until there is an equalisation of concentration within a single phase. In this study cellulose filters (37 mm, Energética, Rio de Janeiro, Brazil) were used as a diffusive surface into a sampler where the gas molecules were collected onto a specific adsorbent, which gave us a concentration value integrated over time. Filters were placed in the motorcycles between handlebars and handgrip and in the work desk (controls). In order to prevent bias, the motorcyclists were advised to park the motorcycle with the filter, after work shift, in a closed place, and the office workers were advised to take the filter home.

Nitrogen dioxide measurements followed Lodge (1988) protocol. Cellulose filters were impregnated with triethanolamine (200  $\mu\text{L}$ ), as a liquid absorber solution, and then dried at 37° C for 24 hours. After this period, filters were placed in open plastic tubes and placed at monitoring spots for 7 days. Blank filters were acquired using filters in the same conditions as the exposed but with no atmosphere contact inside a closed ziplock bag. Nitrite ions, produced from the reaction of  $\text{NO}_2$  with triethanolamine, were extracted with methanol and reacted with ANSA (Sulfanilamide and 8-amino-1-naphthaleneSulfonic acid-ammonium salt). The solution obtained was analyzed by spectrophotometry at 550 nm (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil).

Ozone measurements followed Scheeren and Adema (1996) protocol. Cellulose filters were impregnated with indigo carmine as a liquid absorber solution in a dark ambient to prevent the degradation light effect. After impregnating the filters with 200  $\mu\text{L}$  of absorber solution they were left to dry for 4 minutes in room temperature before a second impregnating procedure (200  $\mu\text{L}$ ). After this period, filters were placed in dark open plastic tubes and placed at monitoring spots for 24 hours. Blank filters were acquired using filters in the same conditions as the exposed but with no contact with direct sunlight and atmosphere (inside an aluminum foil ziplock bag) contact. Indigo carmine reacts with ozone producing a color change that is proportional to the ozone concentration, the remaining blue reagent in filters was extracted with distilled water and completed in an ultrasonic bath in 5 minutes. The solution obtained was analyzed by spectrophotometry at 610 nm (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil).

#### ***Determination of chemical elements***

Trace elements quantification followed Li et al. (2006) protocol. Previously the nails were individually washed by agitation using: acetone (Sigma, purity > 99.9%) followed by a solution containing  $\text{HNO}_3$  0.5 % + Triton X 0.01% m/v. Then, the samples were weight (ranging from 50-190 mg) and micro-digested by using bi-distilled  $\text{HNO}_3$  (65% m/v, Sinth, Brazil). For this purpose, 300  $\mu\text{L}$  of purified  $\text{HNO}_3$  (DST 1000, Savillex, USA) were added to the samples, the vessels were closed and keep at 25° C during 24 hours for pre-digestion. After, the samples were heated in digester block (Easy Digest, Analab, France) at 80° C during 4 hours. The samples were left to cool, and the volume was made up to 6 mL. Blanks and hair certified reference materials QMEQAS05H-09 and ICP03H-09 from the *L'Institute National de Santé Publique du Quebec* (Canada) were treated following the same procedure.

The samples were analyzed by using an inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) Agilent 7900 (Hachioji, Japan). The calibration solutions to all elements (except Hg) were prepared by serial dilution of calibration standard calibration (10 mg  $\text{L}^{-1}$  PerkinElmer, USA) in  $\text{HNO}_3$  5 % v/v. The calibration standard solutions ranged from 1-200  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

#### ***Oxidative Stress Damage***

Catalase (CAT) activity was measured in plasma (30  $\mu\text{L}$ ) sample. The reaction mixture contained 2865  $\mu\text{L}$  of phosphate buffer (50 mM, pH 7.0) and 30  $\mu\text{L}$  of plasma

sample. After, 35  $\mu\text{L}$  of hydrogen peroxide (0.02 M) was added to the solution. The enzyme activity measurement was determined spectrophotometrically (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil) at room temperature, following Aebi (1984) protocol. This method is based in a decreasing absorbance at 240 nm, for 2 minutes, through hydrogen peroxide consumption. The results were expressed in nM/mg of total proteins.

Superoxide dismutase (SOD) activity was measured in plasma as described by Marklund and Marklund (1974). This technique is based in an auto-oxidative inhibition by pyrogallol, which happens in pH variation. The assay mixture contained 930  $\mu\text{L}$  of TRIS buffer, 4  $\mu\text{L}$  of catalase (30  $\mu\text{M}$ ) and 50  $\mu\text{L}$  of plasma sample. After, 16  $\mu\text{L}$  of pyrogallol (24 mM) in 10 mM HCl was added to the solution. The product of this reaction is spectrophotometrically analyzed at 420 nm (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil) during 2 minutes, after 60 and 120 s. The results were expressed as U/mg of total proteins, where one unit (U) of superoxide dismutase is the amount of enzyme required to bring about 50% inhibition of the auto oxidation of pyrogallol.

Lipid peroxidation was measured indirectly by the content of plasma malonyldialdehyde (MDA) using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method (Esterbauer and Cheeseman 1990) and analyzed by spectrophotometry at 532 nm (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil). Briefly, to promote the precipitation of proteins, 500  $\mu\text{L}$  of trichloroacetic acid solution (10%) was added to 250  $\mu\text{L}$  of sample. Then placed in ice for 15 min and centrifuged (3200 rpm) for 15 minutes at 4° C. The following step was thiobarbituric acid addition (500  $\mu\text{L}$  of 0.670%) in 500  $\mu\text{L}$  of supernatant. This solution was heated in water bath for 10 minutes. The absorbance of the clear supernatant was measured spectrophotometrically at 535 nm (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, Brazil). To estimate the MDA concentration a standard curve was generated using known concentrations of 1,1,3,3-tetramethoxypropane (100nmol/ml) in Sulfuric acid (1%). The results were expressed in nmol/mg of total proteins.

Total protein content of samples was obtained from diluted plasma (10  $\mu\text{L}$  in 1490  $\mu\text{L}$  distilled water) following Bradford method and bovine serum albumin was used as standard (Bradford 1976).

### ***Micronucleus Assay***

The micronucleus test was conducted according to the method of Thomas and Fenech (2010). The fixation solution, containing the exfoliated buccal cells, was subjected to centrifugation for 5 minutes at 1500 rpm 5 times. Following each centrifugation, the

supernatant was discarded while the pellet of cells was resuspended with 5 mL of fixation solution. After this cycle of centrifugation and washing, the cells were spread on a clean glass slide and fixed in methanol/acetic acid at 37° C for 30 minutes. The slides were stained using Feulgen and Schiff method (Schulte and Wittekind 1989) technique and then were viewed under oil immersion at 100x magnification to identify and record the micronucleus count (Olympus BX51). One thousand cells per sample in duplicate were examined.

The micronuclei were scored according to the criterion established by Torres-Bugari'n et al. (2003). Briefly, the diameter of the micronucleus must be no larger than one-third or no less than one-twentieth the main nuclei. The micronucleus must be nonrefractile, thus excluding small stain particles. The color of micronucleus must be the same as or too similar than the main nuclei, and micronucleus must be located within the cytoplasm but not in contact with the main nuclei. To avoid intra and inter-observer bias the counting of micronuclei was done by two observers. Both observers evaluated the slides twice at different intervals.

### ***Statistical Analysis***

Statistical analysis was carried out using the program IBM SPSS Statistics Software (version 19). All study variables were tested for normality using Kolmogorov-Smirnov test. Statistical significance ( $p < 0.05$ ) among professional motorcyclists and office workers was determined using an unpaired Student's t-test (continuous variables presenting normal distribution), Mann-Whitney U-test (continuous variables presenting non normal distribution) or Chi-square test (qualitative variables). Analysis of covariance test (ANCOVA) was performed to examine the effect between the factors and the outcomes under investigation. For correlation analyses, we used Pearson correlation coefficient ( $r$ ). Values were reported as the mean  $\pm$  standard deviation or standard error or as the median and interquartile range.

## **RESULTS**

Sociodemographic characteristics of the 44 professional motorcyclists and 30 office workers who participated in the study are presented in Table 1. The variables age, years in profession, income, drinking and smoking habits did not demonstrated statistically difference in both groups ( $p > 0.05$ ). Only workload variable exhibited a statistical

difference average among groups ( $p < 0.05$ ). This variable did not demonstrate to have a significant effect in the studied outcomes by using ANCOVA test.

Table 2 summarizes meteorological parameters in Porto Alegre during air pollutants measurements, which demonstrated that all variables were considered adequate to the chosen air pollutant passive monitoring methodology.

Data from air pollutants concentrations are summarized in Figure 1. NO<sub>2</sub> average was 106.77±20.17 µg/m<sup>3</sup>/h in filters from professional motorcyclists and 14.18±3.69 µg/m<sup>3</sup>/h in filters from office workers. O<sub>3</sub> average was 225.03±45.47 µg/m<sup>3</sup>/8h in filter from professional motorcyclists and 12.14±3.85 µg/m<sup>3</sup>/8h in filters from office workers. The unpaired Student's t-test showed that there was significant difference for NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> concentration among groups ( $p < 0.0001$ ). The average concentration of NO<sub>2</sub> filters was 7.5-fold higher in professional motorcyclists than in office workers and the average concentration of O<sub>3</sub> filters was 18.5-fold higher in professional motorcyclists than in office workers.

Chemical elements concentrations were determined in professional motorcyclists and office workers fingernails (Figure 3). Antimony (Sb) ( $p < 0.0001$ ) platinum (Pt) ( $p < 0.0001$ ), arsenic (As) ( $p < 0.0001$ ), cadmium (Cd) ( $p = .0001$ ), vanadium (V) ( $p < 0.0001$ ), manganese (Mn) ( $p = 0.0133$ ) and cobalt (Co) ( $p < 0.0001$ ) fingernails content was higher in professional motorcyclists group than office workers group. There was no statistically difference in content of lead (Pb), chromium (Cr) and nickel (Ni) among groups ( $p > 0.05$ ).

The oxidative stress factors quantification in plasma are summarized in Figure 2. All results demonstrated statistical difference among groups ( $p < 0.0001$ ). Professional motorcyclists had higher antioxidants enzymes content (0,00223±0,00117 nM CAT/mg of protein and 4.70±0.82 USOD/mg of protein) compared with office workers (0,000798±0,00121 nM CAT/mg of protein and 0.21±0.06 USOD/mg of protein). MDA levels, a lipid damage biomarker, also demonstrated the same pattern, being more elevated in the exposed group (0.50±0.10 nM/mg of protein) than in the nonexposed group (0.04±0.01 nM/mg of protein).

The air pollutants NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> showed a very strong positive correlation with MDA levels in plasma ( $p < 0.001$  and  $r = 0.8849$  and  $0.8995$ ).

The professional motorcyclists group presented a higher rate of genotoxic damage when compared with office workers ( $p < 0.001$ ) (Figure 2). The average frequency of micronuclei per 1.000 cells was 9.34±2.03 in the professional motorcyclists group and 4.37±1.53 in the office workers group. Nonoccupational exposed group showed a

micronuclei range of 1.5 to 8 per 1.000 cells. However, a wider range of cells with micronuclei was observed among the professional motorcyclists group. These professionals had a micronuclei range of 6 to 13.5 per 1.000 cells.

The air pollutants NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> were positive strongly correlated with micronuclei in exfoliated cells from buccal mucosa ( $p < 0.001$  and  $r = 0.7683$  and  $0.7280$ ).

## DISCUSSION

In this cross-sectional study evaluating the effect of air pollution in professional motorcyclists was observed that this occupational exposed group is in continuous contact with high levels of NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, known as hazardous air pollutants, and toxic chemical elements. We also observed large activity of SOD and CAT antioxidants enzymes in the exposed group, which were not efficient enough to ward off lipid peroxidation as MDA concentration remained elevated in professional motorcyclists group. This professional class still exhibited high levels of micronucleated cells, meaning genetic damage.

Nitrogen dioxide is a useful marker of air pollution exposure and has been widely used as an indicator of traffic pollution exposure in previous epidemiological investigations (Clark et al. 2010; Gehring et al. 2013). In cross-sectional studies such as ours, distance to roadways is a leading factor that account for the observed variability in NO<sub>2</sub> concentrations that tended to be lower in suburban and rural locations than those in urban locations (HEI 2010; Fleck et al. 2014). These findings corroborates to ours as we propose a higher pollutant personal concentration in filters from professional motorcyclists, as they spend a long period of day riding in polluted streets. The increasing in NO<sub>2</sub> concentrations is an alarming event, as this pollutant have been associated with a range of harmful health effects, like: elevated risk of asthma, reduced heart rate variability, myocardial infarction, disruption in thyroid function and otitis media development (Grazuleviciene et al. 2004; Brauer et al. 2006; Clark et al 2010; HEI 2010; Fernie et al. 2016; Shutt et al. 2017).

Filters from professional motorcyclists also demonstrated unquestionably higher levels of O<sub>3</sub>, a powerful oxidizing agent that has been positive associated with: asthma development, diabetes development (by increasing insulin resistance), headache, chest pain, upper airway dryness, irritation of respiratory mucosa, inflammation of airways, hyper-responsiveness of airways, susceptibility to viral infections and pulmonary edema (Willam 1995; HSE 2014; Schwartz 2016; Jerrett et al. 2017). The increased levels found

in our study agree with Cooper et al. (2014), which reported a pattern of growing in global O<sub>3</sub> concentration that have shown a maintenance since 1950, both in the southern and northern hemispheres.

Finally, it is relevant to cite that according World Health Organization (WHO) (2006) guidelines, NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> concentrations in filters from office workers were quite low of what is accept. In otherwise, O<sub>3</sub> concentrations in filters from professional motorcyclists were entirely out of the safety exposure interval. Despite of NO<sub>2</sub> concentrations in filters from professional motorcyclists were considered in safety level, we highlight that these exposed professionals face long-term air pollution exposure, and not short-term, which give a reason for, even in a safety interval, set more concern about it.

The chemical elements levels found accumulated in the fingernails were a vast source for considerations. Professional motorcyclists had significant higher levels of toxic chemical elements closely related to traffic emissions than office workers.

Antimony is largely used as a filler in brake linings to improve thermal and noise pad properties and reduce the manufacturing cost, which results in road dust particles full of antimony (Thorpe and Harrison 2008; Grigoratos and Martini 2015). Platinum is part of traffic-emitted metals since the installation of automotive catalytic converters being produced by abrasion and deterioration of this new apparatus (Ravindra et al 2004; Ruchter and Sures 2014). Cadmium and arsenic are common air pollutants originated from vehicle exhaust and identified as potential human carcinogens (Kocbach et al. 2006; Balakrishna et al. 2011; Adedeji and Olayinka 2013; Tomei et al. 2013; Vance and Chun 2015). Vanadium is considered an air pollution marker from residual oil emissions and cobalt is linked to highway traffic originated from motor vehicle exhaust (Mamane and Pirrone 1998; Ghorbani et al. 2013). Manganese has as sources the fossil fuel combustion and the brake and tire wear, all of them considered traffic-related (Zayed et al. 1999; Dehghania et al. 2017). The greater concentration of Mn in professional motorcyclists is a topic worthy of attention, as recent epidemiological studies suggested that the harmful effects due to occupational exposure to Mn inhalation can persist through many years after exposure cessation (Lucchini et al. 2007; Bouchard et al. 2008).

According Ewen et al. (2009), most nonessential toxic metals present in the atmosphere tend to be more concentrated in traffic intersections, precisely where vehicles demonstrate an accelerate and decelerate pattern, due to traffic jam that requires continuously stop and start movements.

The levels of lead, chromium and nickel demonstrated no significant difference among groups. Pb was widely emitted to atmosphere by combustion of fossil fuels that contained lead as an additive (Settle and Patterson 1980; Rios and Boechat 2011; Sebastiampillai et al. 2015). However, since the 1970's methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT), a manganese-containing compound, has been used as a gasoline additive in order to enhance the octane rating in gasoline (Crump 2000; Williams et al. 2012). This fact supports our findings of an increase in Mn air levels and a decrease in Pb air levels. It is important to highlight that since the introduction of MMT in gasoline many studies have been developed in order to investigate the impacts of this new additive in human health. Several scientific evidences has exposed the mechanisms of negative impacts in humans and vehicle systems, however developers of MMT claim that the evidence is weak and insufficient (Davis 1999; Zayed 2001; Benson and Dana 2002; Pfeifer et al 2004; Walsh 2007).

Oxidative stress has been identified as an important component responsible for the harmful effects due to air pollutants exposure and traffic-related air pollutants demonstrate to be highly oxidizing and capable of generating large numbers of free radicals (Kelly 2003; Miller et al. 2012). Occupational exposure to air pollution induces oxidative damage, which is result from the availability of neutralizing antioxidant defenses (Kelly 2003; Pradhan et al. 2016).

Catalase and superoxide dismutase showed elevated activity in the professional motorcyclists group than in office workers group. Superoxide dismutase is the most important antioxidant enzyme that acts against the superoxide anion radical by accelerating the dismutation of this compound into hydrogen peroxide and molecular oxygen (Kelly 2003; Soykut et al. 2017). Catalase is considered the second line defense against oxidative stress, participating in the defense system according to the severity of the condition, normally when the reactive species concentration is very high, converting hydrogen peroxide into oxygen and water (Kelly 2003; Soykut et al. 2017).

Several studies with occupationally exposed groups have showed distinct patterns in response to oxidative stress. Cabarkapa and colleagues (2015a) demonstrated SOD and CAT elevated activity in smelter workers. Suresh et al. (2000) showed depletion in SOD and CAT activity in traffic policemen occupationally exposed to air pollutants in comparison to office workers. Pradhan et al. (2016) found the same pattern, higher SOD and CAT activity in a nonexposed group also composed of office workers. Differently, Soykut and colleagues (2017) found no significant difference in CAT



activity between exposed and nonexposed groups, but a higher SOD activity in occupationally exposed subjects. Brucker et al. (2013) demonstrated lower CAT activity in taxi drivers when compared to non-occupationally exposed persons. All these contrasting findings lead to the hypothesis of the development of different adaptive responses in air pollution occupationally exposed groups probably due to the different damage levels caused by the oxygen reactive species, leading to different oxidative stress scenarios (Nordgren and Fransen 2014).

The 12.5-fold higher levels in plasma MDA content observed in the professional motorcyclists group, in comparison to office workers group, agree with other diverse studies that also demonstrated an elevation of lipid peroxidation in subjects occupationally exposed to air pollutants (Kelly 2003; Moller and Loft 2010). Cabarkapa and colleagues (2015b) showed that lead exposed subjects had elevated MDA levels, when compared with subjects not exposed to lead. This result agrees with previous studies that also demonstrated raising MDA levels related to lead occupational exposure (Ito et al. 1985; Yiin and Lin 1995). A studied developed by Pradhan et al. (2016) showed higher lipid peroxidase activity in street professionals when compared to office workers. Soykut and colleagues (2017) found similar lipoperoxidation results in a study composed by workers exposed to air pollutants and office workers. Our findings related to high MDA levels in air pollution occupationally exposed subjects also agree with Azari and colleagues (2011), which demonstrated that occupational exposure to ozone was significantly correlated with serum level of malondialdehyde.

Besides, Pearson correlation coefficient demonstrated a very strong positive correlation between air pollutants exposure ( $\text{NO}_2$  and  $\text{O}_3$ ) and MDA levels in plasma. This correlation probably is due to cellular response to these oxidants air pollutants gaseous and their secondary products (Lodovici and Bigagli 2011). These air pollutants are usually present together with particles in the atmosphere, having potential effects in terms of oxidative DNA damage (Uzma et al. 2010). Ozone is known as a strong oxidizing agent while nitrogen dioxide can activate oxidant pathways, although less potently than ozone (Bayram et al. 2001). As we found elevated antioxidant enzymes activity in professional motorcyclists group, we expected to find lower levels of MDA content in these exposed workers, however, it was not observed. Thereby, we suggest that professional motorcyclists increasing in the antioxidant enzymes was not enough to neutralize the damage resulted from free radicals over production, which can lead to the development of various adverse health outcomes (Nagiah et al. 2014).

The results of micronuclei frequency from professional motorcyclists indicated that occupational exposure to air pollution significantly increased the formation of micronucleated cells, as this group showed a higher frequency of DNA damage than office workers and a strong positive correlation between micronuclei and levels of NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. This finding is related to the long-term exposure to vehicular emissions that contains a wide spectrum of mutagens and carcinogens substances (Holland et al. 2008). The air pollutants, their metabolites or reactive species generated by the pollutants interacts with DNA causing diverse genetic abnormalities (Holland et al. 2008).

The increasing in chromosome loss or fragmentation observed in professional motorcyclists occurred as result from early nuclear divisions in buccal epithelium cells as the buccal mucosa is one of the first targets of air pollutants and remains in continuous contact with these harmful compounds (Zhang et al. 2007). Many studies corroborate our findings by reporting that subjects occupationally exposed to urban air pollutants, especially those emitted by motor vehicles, have significant induction of mutagenic damage to buccal cells when compared with a control group (Ray et al. 2005; Hallare et al. 2009; Rossnerova et al. 2009; Ceretti et al. 2014). This DNA damage is a significant initial event in cancer pathway (CPCB 2012). However, an increased micronuclei frequency indicates an increased probability of carcinogenesis, and not necessarily, the development of a precancerous lesion, as the damaged cell can die through apoptosis (CPCB 2012).

The present study has some limitations such as the absence of information of dietary intake information or particulate matter qualification analyze, which would be useful as these information could give us more knowledge about the different metal sources, as they come through pollution over exposure or mineral intake. To monitor daily motorcyclists routes could have given us a larger notion of specific places and their contribution to air pollutants levels. However, it includes several challenges as these professionals are always in a hurry and are notify about their route just some minutes before leaving to the delivery.

## **CONCLUSION**

In summary, in this cross-sectional study evaluating the effects of air pollution in professional motorcyclists it was observed that they are continuously exposed to high levels of hazardous air pollutants, as NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, and toxic chemical elements, as

antimony (Sb), platinum (Pt), arsenic (As), cadmium (Cd), vanadium (V), manganese (Mn) and cobalt (Co), which leads to the development of an oxidative stress and a genetic damage scenario.

While additional research could be important in order to measure other important air pollutants and to analyze other responses due to atmospheric pollution exposure, as the inflammatory profile. Lastly, reducing the impact of motor-vehicle emissions on air quality demands a strategy focused on removing, or at least, decreasing air pollutants to acceptable levels. To achieve this goal it is indispensable to communicate local government and at risk groups about the worrisome air pollutant levels, to have a quality public transportation plan, to develop clean fuels and to establish strict inspection programs to ensure proper vehicle maintenance.

## REFERENCES

Adedeji OH, Olayinka OO. 2013. Heavy Metal Concentrations in Urban Stormwater Runoff and Receiving Stream. *J Environ Earth Sci* 3:141-151.

Aebi H. 1984. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol* 105:121-126.

Antunes F, Han D, Cadenas E. 2002. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxification in vivo conditions. *Free Radic Biol Med* 33:1260-1267.

Azari MR, Esmailzadeh M, Mehrabi Y, Salehpour S. 2011. Monitoring of Occupational Exposure of Mild Steel Welders to Ozone and Nitrogen Oxides. *Tanaffos* 10:54-59.

Bae S, Pan XC, Kim SY, Park K, Kim YH, Kim H, et al. 2010. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. *Environ. Health Perspect* 118:579-583, doi: 10.1289/ehp.0901077.

Balakrishna G, Pervez S, Bisht DS. 2011. Source apportionment of arsenic in atmospheric dust fall out in an urban residential area, Raipur, Central India. *Atmos Chem Phys* 11:5141-5151, doi: 10.5194/acp-11-5141-2011.

Bayram H, Sapsford RJ, Abdelaziz MM, Khair OA. 2001. Effect of ozone and nitrogen dioxide on the release of proinflammatory mediators from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 107:287-294, doi: 10.1016/j.cbi.2015.10.002.

Benson J, Dana G. 2002. The Impact of MMT Gasoline Additive on Exhaust Emissions and Fuel Economy of Low Emission Vehicles (LEV). SAE Technical Paper, doi:10.4271/2002-01-2894.

Bouchard M, Mergler D, Baldwin ME, Panisset M. 2008. Manganese cumulative exposure and symptoms: a follow-up study of alloy workers. *Neurotoxicology* 29:577-583, doi: 10.1016/j.neuro.2008.04.013.

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254.

Brant TC, Yoshida CT, Carvalho Tde S, Nicola ML, Martins JA, Braga LM, et al. 2014. Mucociliary clearance, airway inflammation and nasal symptoms in urban motorcyclists. *Clinics (Sao Paulo)* 69:867-70, doi: 10.6061/clinics/2014(12)13.

Brauer M, Gehring U, Brunekreef B, de Jongste J, Gerritsen J, Rovers M, et al. 2006. Traffic-related air pollution and otitis media. *Environ Health Perspect* 114:1414-1418.

Brucker N, Moro AM, Charão MF, Durgante J, Freitas F, Baierle M, et al. 2013. Biomarkers of occupational exposure to air pollution, inflammation and oxidative damage in taxi drivers. *Sci Total Environ* 463-464:884-893, doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.098.

Cabarkapaa A, Borozanb S, Zivkovića L, Milanović-Cabarkapac M, Stojanovićd S, Bajiće V, et al. 2015a. Implications of oxidative stress in occupational exposure to lead on a cellular level. *Toxicol Appl Pharmacol* 260:173-182, doi: 10.1016/j.taap.2012.02.008.

Cabarkapa A, Borozan S, Zivković L, Stojanović S, Milanović-Čabarkapa M, Bajić V, et al. 2015b. CaNa<sub>2</sub>EDTA chelation attenuates cell damage in workers exposed to lead--a pilot study. *Chem Biol Interact* 242:171-178, doi: 10.1016/j.cbi.2015.10.002.

Ceretti E, Feretti D, Viola GC, Zerbini I, Limina RM, Zani C. 2014. DNA damage in buccal mucosa cells of pre-school children exposed to high levels of urban air pollutants. *PLoS One* 9: e96524, doi: 10.1371/journal.pone.0096524.

Clark NA, Demers PA, Karr CJ, Koehoorn M, Lencar C, Tamburic L, et al. 2010. Effect of early life exposure to air pollution on development of childhood asthma. *Environ Health Perspect* 118:284-290, doi: 10.1289/ehp.0900916.

Cooper OR, Parrish DD, Ziemke J, Balashov NV, Cupeiro M, Galbally IE, et al. 2014. Global distribution and trends of tropospheric ozone: An observation-based review. *Elementa Sci Anthropocene*. doi:10.12952/journal.elementa.000029.

Cohen G, Hochstein P. 1963. Glutathione peroxidase: the primary agent for the elimination of hydrogen peroxide in erythrocytes. *Biochemistry* 2:1420-1428.

CPCB (Central Pollution Control Board). 2012. Epidemiological Study on Effect of Air Pollution on Human Health (Adults) in Delhi. Delhi, India: Ministry of Environment and Forests. Available: [http://cpcb.nic.in/Source\\_Apportionment\\_Studies.php](http://cpcb.nic.in/Source_Apportionment_Studies.php) [accessed 23 October 2016].

Crump KS. 2000. Manganese exposures in Toronto during use of the gasoline additive, methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 10:227-239.

da Silva CM, da Silva LL, Corrêa SM, Arbilla G. 2016. Kinetic and mechanistic reactivity. Isoprene impact on ozone levels in an urban area near Tijuca Forest, Rio de Janeiro. *Bull Environ Contam Toxicol* 97:781-785.

Davis JM. Inhalation health risks of manganese: an EPA perspective. 1999. *Neurotoxicology* 20(2-3):511-518.

Davis, SC, Diegel, SW, Boundy, RG. 2014. Transportation energy data book. USA: Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, U.S. Department of Energy.

Dehghani S, Moore F, Keshavarzi B, Hale BA. 2017. Health risk implications of potentially toxic metals in street dust and surface soil of Tehran, Iran. *Ecotoxicol Environ Saf* 136:92-103, doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.10.037.

Dons E, Panis LI, Poppel MV, Theunis J, Wets G. 2012. Personal exposure to Black Carbon in transport microenvironments. *Atmos. Environ.* 55:392-398, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.03.020>.

Ekpenyong CE, Etebong EO, Akpan EE, Samson TK, Daniel NE. 2012. Urban city transportation mode and respiratory health effect of air pollution: a cross-sectional study among transit and non-transit workers in Nigeria. *BMJ Open* 2:1-13, doi: 10.1136/bmjopen-2012-001253.

Esterbauer H, Cheeseman KH. 1976. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 186:407-421.

Estévez-García JA, Rojas-Roa NY, Rodríguez-Pulido AI. 2013. Occupational exposure to air pollutants: particulate matter and respiratory symptoms affecting traffic-police in Bogotá. *Rev Salud Publica* 15:889-902.

Ewen C, Anagnostopoulou MA, Ward NI. 2009. Monitoring of heavy metal levels in roadside dusts of Thessaloniki, Greece in relation to motor vehicle traffic density and flow. *Environ Monit Assess* 157:483-498, doi: 10.1007/s10661-008-0550-9.

Fernie KJ, Cruz-Martinez L, Peters L, Palace V, Smits JE. 2016. Inhaling Benzene, Toluene, Nitrogen Dioxide, and Sulfur Dioxide, Disrupts Thyroid Function in Captive American Kestrels (*Falco sparverius*). *Environ Sci Technol* 50:11311-11318, doi: 10.1021/acs.est.6b03026.

Ferreira CAS, Pereira LV, dos Santos FL, do Rego PBL, da Costa IP. 2009. Analysis of the pulmonary function of motorcycle professional drivers and taxi drivers: the effect of air pollution. Prevention as the best way for caring. *O Mundo da Saúde* 33:170-174.

Fleck Ada S, Vieira M, Amantéa SL, Rhoden CR. 2014. A Comparison of the Human Buccal Cell Assay and the Pollen Abortion Assay in Assessing Genotoxicity in an Urban-Rural Gradient. *Int J Environ Res Public Health* 11:8825-8838, doi: 10.3390/ijerph110908825.

Gehring U, Gruzieva O, Agius RM, Beelen R, Custovic A, Cyrys J, et al. 2013. Air Pollution Exposure and Lung Function in Children: The ESCAPE Project. *Environ Health Perspect* 121:1357-1364, doi: 10.1289/ehp.1306770.

Ghorbani H, Aghababaei A, Mirkarimi HR. 2013. The evaluation of industrial cement production plant on the environmental pollution using magnetic susceptibility technique. *Agricultural Sciences* 4:792-799, doi: 10.4236/as.2013412108.

Ghose MK, Paul R, Banerjee SK. 2004. Assessment of the impacts of vehicular pollution on urban air quality. *J Environ Sci Eng* 46:33-40.

Grazuleviciene R, Maroziene L, Dulskiene V, Malinauskiene V, Azaraviciene A, Laurinaviciene D, et al. 2004. Exposure to urban nitrogen dioxide pollution and the risk of myocardial infarction. *Scand J Work Environ Health* 30: 293-298.

Grigoratos T, Martini G. 2015. Brake wear particle emissions: a review. *Environ Sci Pollut Res Int* 22:2491-2504, doi: 10.1007/s11356-014-3696-8.

Hallare AV, Gervasio MK, Gervasio PL, Acacio-Claro PJ. 2009. Monitoring genotoxicity among gasoline station attendants and traffic enforcers in the City of Manila using the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells. *Environ Monit Assess* 156:331-341, doi: 10.1007/s10661-008-0488-y.

HEI (Health Effects Institute). 2010. Traffic-Related Air Pollution: A Critical Review of the Literature on Emissions, Exposure, and Health Effects. Special Report 17. Boston, MA: Health Effects Institute. Available: <https://www.healtheffects.org/publication/traffic->

related-air-pollution-critical-review-literature-emissions-exposure-and-health [accessed 22 January 2017].

Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, et al. 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res* 659:93-108, doi: 10.1016/j.mrrev.2008.03.007.

Hou L, Barupal J, Zhang W, Zheng Y, Liu L, Zhang X, et al. 2016. Particulate air pollution exposure and expression of viral and human MicroRNAs in blood: The Beijing truck driver air pollution study. *Environ Health Perspect* 124:344-350, doi: 10.1289/ehp.1408519.

HSE (Health and Safety Executive). 2014. Ozone: Health hazards and control measures Guidance Note EH38. London, UK: Health and Safety Executive. Available: <http://www.hse.gov.uk/pubns/eh38.pdf> [accessed 15 October 2016].

Hu H. 2000. Exposure to metals. *Prim Care* 27:983-996.

Huang HB, Lai CH, Chen GW, Lin YY, Jaakkola JJ, et al. 2012. Traffic-Related Air Pollution and DNA Damage: A Longitudinal Study in Taiwanese Traffic Conductors. *PLoS One* 7e37412, doi: 10.1371/journal.pone.0037412.

Ito Y, Niiya Y, Kurita H, Shima S, Sarai S. 1985. Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase activity in workers with occupational exposure to lead. *Int Arch Occup Environ Health* 56:119-127.

Jerrett M, Brook R, White LF, Burnett RT, Yu J, Su J, et al. 2017. Ambient ozone and incident diabetes: A prospective analysis in a large cohort of African American women. *Environ Int*, doi: 10.1016/j.envint.2016.12.011.

Kamal A, Cincinelli A, Martellini T, Malik RN. 2016. Linking mobile source-PAHs and biological effects in traffic police officers and drivers in Rawalpindi (Pakistan). *Ecotoxicol Environ Saf* 127:135-143, doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.01.006.

Kelly FJ. 2003. Oxidative Stress: Its role in air pollution and adverse health effects. *Occup Environ Med* 60:612-616.

Kocbach A, Li Y, Yttri KE, Cassee FR, Schwarze PE, Namork E. 2006. Physicochemical characterisation of combustion particles from vehicle exhaust and residential wood smoke. *Particle and Fibre Toxicology* 3:1, doi: 10.1186/1743-8977-3-1.

Kooter IM, Gerlofs-Nijland ME, Boere AJ, Leseman DL, Fokkens PH, Spronk HM, et al. 2010. Diesel engine exhaust initiates a sequence of pulmonary and cardiovascular effects in rats. *Environ Health Perspect* 118:1126-1136, doi: 10.1155/2010/206057.

Lawin H, Agodokpessi G, Ayelo P, Kagima J, Sonoukon R, Mbatchou Ngahane BH, et al. 2016. A cross-sectional study with an improved methodology to assess occupational air pollution exposure and respiratory health in motorcycle taxi driving. *Sci Total Environ* 550:1-5, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.068.

Li Y, Chen C, Li B, Sun J, Wang J, Gao Y, et al. 2006. Elimination efficiency of different reagents for the memory effect of mercury using ICP-MS. *J Anal At Spectrom* 21:94-96, doi: 10.1039/B511367A.

Lodge Jr JP. 1989. *Methods of air sampling and analysis*. 3<sup>rd</sup>. ed. Michigan:Lewis.

Lodovici M, Bigagli E. 2011. Oxidative Stress and Air Pollution Exposure. *J Toxicol* 2011:1-9, doi: 10.1155/2011/487074.

Lucchini RG, Albvini E, Benedetti L, Borghesi S, Coccaglio R, Malara EC, et al. 2007. High prevalence of Parkinsonian disorders associated to Manganese exposure in the vicinities of ferroalloy industries. *Am J Ind* 50:788-800.

Lyu XP, Liu M, Guo H, Ling ZH, Wang Y, Louie PK, et al. 2016. Spatiotemporal variation of ozone precursors and ozone formation in Hong Kong: Grid field measurement and modelling study. *Sci Total Environ* 569-570:1341-1349, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.214.

Mamane Y, Pirrone N. 1998. Vanadium in the atmosphere. In: *Vanadium in the Environment. Part 1: Chemistry and Biochemistry* (Nriagu JO, ed). New York:John Wiley & Sons, 37-71.

Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469-74.

Miller MR, Shaw CA, Langrish JP. 2012. Oxidative Stress and the Cardiovascular Effects of Air Pollution. *Future Cardiol* 8:577-602, doi: 10.2217/fca.12.43.

Moller P, Loft S. 2010. Oxidative damage to DNA and lipids as biomarkers of exposure to air pollution. *Environmental Health Perspectives* 118:1126-1136, doi: 10.1289/ehp.0901725.



Nagiah S, Phulukdaree A, Naidoo D, Ramcharan K, Naidoo RN, Moodley D, et al. 2014. Oxidative stress and air pollution exposure during pregnancy: A molecular assessment. *Hum Exp Toxicol* 34:838-847, doi: 10.1177/0960327114559992.

Nordgren M, Fransen M. 2014. Peroxisomal metabolism and oxidative stress. *Biochimie* 98:56-62, doi: 10.1016/j.biochi.2013.07.026.

Paulin L, Hansel N. Particulate air pollution and impaired lung function. 2016. *F1000Res* 201:1-9, doi: 10.12688/f1000research.7108.1.

Pfeifer GD, Roper JM, Dorman D, Lynam DR. 2004. Health and environmental testing of manganese exhaust products from use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in gasoline. *Sci Total Environ* (335-334):397-408, doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.04.043

Plaisance H, Piechocki-Minguy A, Garcia-Fouque S, Galloo JC. 2004. Influences of meteorological factors on the NO<sup>2</sup> measurements by passive diffusion tube. *Atmos Environ* 38:573-580, doi: 10.1016/j.atmosenv.2003.09.073.

Pradhan SN, Das A, Meena R, Nanda RK, Rajamani P. 2016. Biofluid metabotyping of occupationally exposed subjects to air pollution demonstrates high oxidative stress and deregulated amino acid metabolism. *Sci Rep* 6:1-11, doi:10.1038/srep35972.

Ravindra K, Bencs L, Van Grieken R. 2004. Platinum group elements in the environment and their health risk. *Sci Total Environ* 318:1-47.

Ray MR, Basu C, Mukherjee S, Roychowdhury S, Lahiri T. 2005. Micronucleus frequencies and nuclear anomalies in exfoliated buccal epithelial cells of firefighters. *Int J Hum Genet* 5:45-48.

Rios JL; Boechat JL. 2011. Indoor and outdoor pollution. *Rev Bras Alergia Immunopatol* 34:42-48, doi: 0103-2259/11/34-02/42.

Rossnerova A, Spatova M, Rossner P, Solansky I, Sram RJ. 2009. The impact of air pollution on the levels of micronuclei measured by automated image analysis. *Mutat Res* 669:42-47, doi: 10.1016/j.mrfmmm.2009.04.008.

Ruchter N, Sures B. 2015. Distribution of platinum and other traffic related metals in sediments and clams (*Corbicula* sp.). *Water Res* 70:313-324, doi: 10.1016/j.watres.2014.12.011.

Sebastiampillai BS, Navinan MR, Guruge SI, Wijayarathne DR, Dissanayake BS, Dissanayake DM, et al. 2015. Lead toxicity among traffic wardens: a high risk group exposed to atmospheric lead, is it still a cause for concern? *J Occup Med Toxicol* 10:1-4, doi: 10.1186/s12995-015-0046-9.

Settle DM, Patterson CC. 1980. Lead in albacor; guide to lead pollution in Americans. *Science* 207:1167-1176.

Scheeren BA, Adema EH. 1996. Monitoring ambient ozone with a passive measurement technique method, field results and strategy. *Water Air Soil Pollut* 91:335-350, doi: 10.1007/BF00666268.

Schulte E, Wittekind D. 1989. Standardization of the FeulgenSchiff technique: staining characteristics of pure fuchsin dyes. *Histochemistry* 91:321-331.

Schwartz J. 2016. The year of ozone. *Am J Respir Crit Care Med* 193:1077-1079, doi: <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201512-2533ED>.

Shutt RH, Kauri LM, Weichenthal S, Kumarathasan P, Vincent R, Thomson EM, et al. 2017. Exposure to air pollution near a steel plant is associated with reduced heart rate variability: a randomised crossover study. *Environ Health* 16:1-10, doi: 10.1186/s12940-016-0206-0.

Soykut B, Erdem O, Akay C, Pişkin B. 2017. Investigation of the oxidative stress condition for occupational exposure to methyl methacrylate. *Toxicol Ind Health* 33:61-66, doi: 10.1177/0748233716659840.

Suades-González E, Gascon M, Guxens M, Sunyer J. 2015. Air pollution and neuropsychological development: a review of the latest evidence. *Endocrinology* 156:3473–3482, doi: 10.1210/en.2015-1403.

Suresh Y, Sailaja Devi MM, Manjari V, Das UN. 2000. Oxidant stress, antioxidants and nitric oxide in traffic police of Hyderabad, India. *Environ Pollut* 109:321-325.

Thomas P, Fenech M. 2010. Buccal Micronucleus Cytome Assay. In: *DNA Damage Detection In Situ, Ex Vivo, and In Vivo* (Didenko, VV, ed). New York; London: Humana Press, 235-248.

Thorpe A, Harrison RM. 2008. Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Sci Total Environ* 400:270-282, doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.007.

Tomei F, Ciarrocca M, Rosati MV, Casale T, Di Pastena C, Nieto HA, et al. 2013. Relationship between occupational exposure to cadmium, transaminases and  $\gamma$ -GT in workers exposed to urban. *Ann Ig* 25:353-363, doi: 10.7416/ai.2013.1937.

Torres-Bugarín O, Ventura-Aguilar A, Zamora-Perez A, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Morga-Villela G, et al. 2003. Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and

ifosfamide + epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutat Res* 565:177-186.

Tzeng HP, Yang RS, Ueng TH, Lin-Shiau SY, Liu SH. 2003. Motorcycle Exhaust Particulates Enhance Vasoconstriction in Organ Culture of Rat Aortas and Involve Reactive Oxygen Species. *Toxicol Sci* 75:66-73.

Uzma N, Kumar SS, Hazari MAH. 2010. Exposure to benzene induces oxidative stress, alters the immune response and expression of p53 in gasoline filling workers. *Am J Ind Med* 53:1264–1270, doi: 10.1002/ajim.20901.

Walsh MP. 2007. The global experience with lead in gasoline and the lessons we should apply to the use of MMT. *Am J Ind Med* 50:853-860, doi: 10.1002/ajim.20483.

WHO (World Health Organization). 2005. Air quality guidelines global update – 2005. Available: <http://www.euro.who.int/document/e90038.pdf> [accessed 15 April 2016].

Willam BA. 1995. Recognition of Health Hazard in Industry: A Review of Materials and Processes. *Jur Chem Educ* 72:109.

Williams M, Todd D, Roney N, Crawford J, Coles C, McClure PR, et al. 2012. Toxicological Profile for Manganese. 1<sup>st</sup>. ed. Atlanta:Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Winkel LH, Vriens B, Jones GD, Schneider LS, Pilon-Smits E, Bañuelos GS. 2015. Selenium Cycling Across Soil-Plant-Atmosphere Interfaces: A Critical Review. *Nutrients* 7:4199-4239, doi: 10.3390/nu7064199.

Wolkoff P, Crump DR, Harrison PT. 2015. Pollutant exposures and health symptoms in aircrew and office workers: Is there a link? *Environ Int* 87:74-84, doi: 10.1016/j.envint.2015.11.008.

Wu R, Xie S. 2017. Spatial distribution of ozone formation in China derived from emissions of speciated volatile organic compounds. *Environ Sci Technol* 51:2574-2583, doi: 10.1021/acs.est.6b03634.

Wu S, Deng F, Niu J, Huang Q, Liu Y, Guo X. 2010. Association of heart rate variability in taxi drivers with marked changes in particulate air pollution in Beijing in 2008. *Environ Health Perspect* 118:87-91, doi: 10.1289/ehp.0900818.

Yiin SJ, Lin TH. 1995. Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid. *Biol Trace Elem Res.* 50:167-172, doi: 10.1007/BF02789419.

Zayed J, Pitre J, Rivard M, Loranger S. 1999. Evaluation of pollutant emissions related to the use of MMT in gasoline. *Water Air Soil Pollut* 109:137-145, doi: 10.1023/A:1005056211891.

Zayed J. 2001. Use of MMT in Canadian gasoline: health and environment issues. *Am J Ind Med* 39(4):426-433.

Zhang Z, Che W, Liang Y, Wu M, Li N, Shu Y, et al. 2007. Comparison of cytotoxicity and genotoxicity induced by the extracts of methanol and gasoline engine exhausts. *Toxicol In Vitro* 21:1058-1065, doi: 10.1016/j.tiv.2007.04.001.

**Table 1.** General characteristics of study participants (n = 74).

Characteristics	Office workers (n = 30)	Professional motorcyclists (n= 44)	<i>p</i> -Value
Age [years(mean ± SD)]	33.8±11,6	33.68±7,4	0.96
Years in profession (median/IQR)	5 (3.75 - 12)	8 (4.25 – 10.75)	0.35
Workload [hours/day(median/IQR)]	8 (6 - 8)	10 (8 - 12)	< 0.05*
Income [US\$/month(median/IQR)]	712 (606 – 1.515)	696 (606 – 841)	0.82
Drinking	21	24	0.18
Smoking	8	14	0.83

Test performed: Kolmogorov-Smirnov, unpaired Student's t-test, Mann–Whitney U-test and Chi-Square.

Abbreviations: IQR, interquartile range (25–75%); US\$, present-day currency of United States of America, SD, standard deviation; *p*, professional motorcyclists versus office workers.

\* *p*-value < 0.05 statistical significance.

**Table 2.** Meteorological parameters during air pollutants measurements periods.

	<b>Min and Max Temperature (°C)</b>	<b>Min and Max Relative humidity (%)</b>	<b>Min and Max Wind speed (m/s)</b>	<b>Min and Max Rainfall (mm/day)</b>
	<b>2.0 – 30*</b>	<b>20 – 80*</b>	<b>0 – 4.5*</b>	<b>-</b>
<b>Days/Month</b>				
8-15 February	20.7 - 30.0	35 - 59	0 - 4.3	0
01-08 March	16.9 - 29.1	25 - 64	0 - 4.2	0 - 0.4
23-30 April	7.0 - 23.3	45 - 80	0 - 4.5	0
16-23 May	7.0 - 18.3	55 - 77	0 - 4.5	0 - 1.4
01-08 June	6.3 - 18.2	39 - 80	0 - 4.5	0
01-08 July	7.9 - 15.5	41 - 78	0 - 4.2	0 - 1.4
13-20 September	9.3 - 25.4	36 - 68	0 - 3.8	0
05-12 October	10.1 - 28.3	21 - 67	0 - 4.1	0 - 1.6

Abbreviations: max, maximum; min, minimum.

\*Ideal meteorological parameters interval to the used air pollutant passive monitoring methodology (Plaisance et al, 2004).

**Figure 1.** Air pollutants concentrations in filters from professional motorcyclists and office workers. Analysis of (A) NO<sub>2</sub> concentration; (B) O<sub>3</sub> concentration. Data are the mean ± SE. \*  $p < 0.05$  professional motorcyclists versus office workers. Kolmogorov-Smirnov test followed by unpaired Student's t-test.

**Figure 2.** Oxidative stress profile and genetic damage in professional motorcyclists and office workers in plasma. Analysis of (A) CAT activity; (B) SOD activity; (C) MDA concentration; (D) Frequency of micronuclei (MN) in exfoliated buccal cells. Data are the mean ± SE. \*  $p < 0.05$  professional motorcyclists versus office workers. Kolmogorov-Smirnov test followed by unpaired Student's t-test.

**Figure 3.** Concentrations of chemical elements in professional motorcyclists and office workers fingernails. Data are the mean ± SE. \*  $p < 0.05$  professional motorcyclists versus office workers. Kolmogorov-Smirnov test followed by unpaired Student's t-test.

Figure 1.

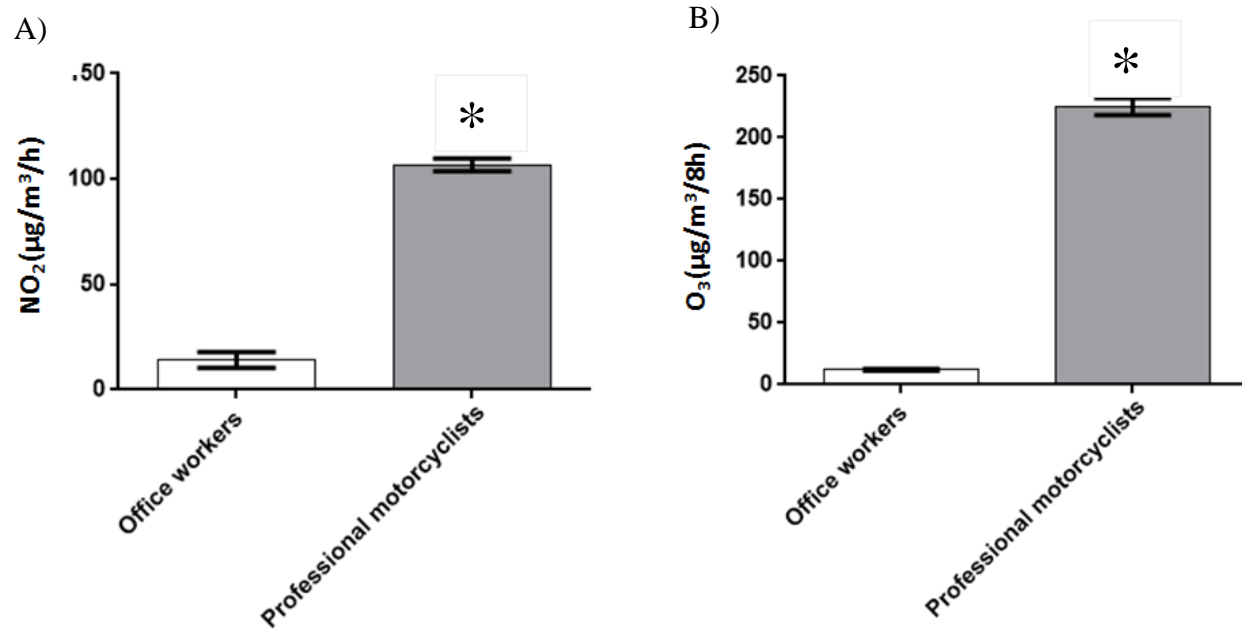




Figure 2.

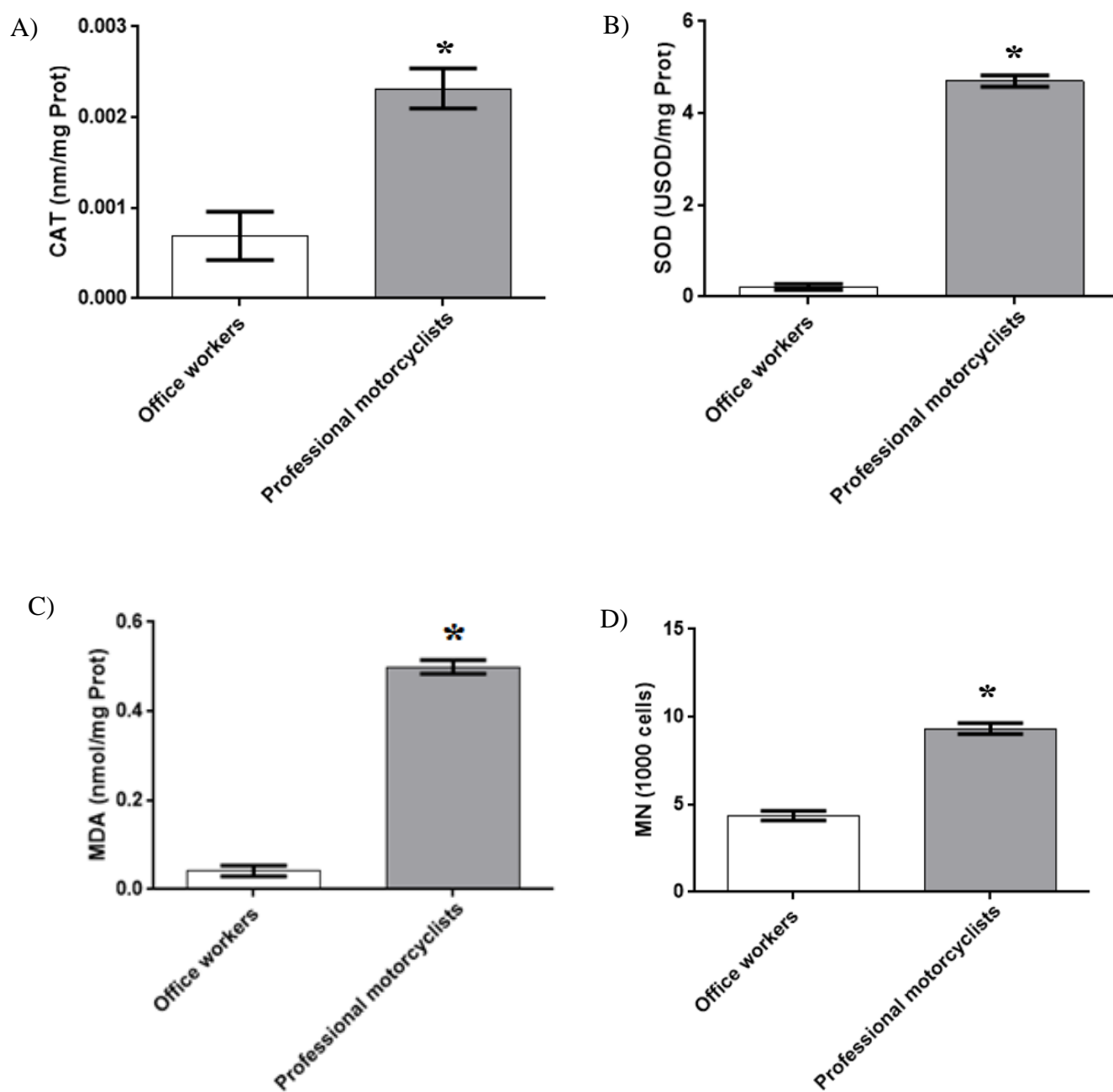
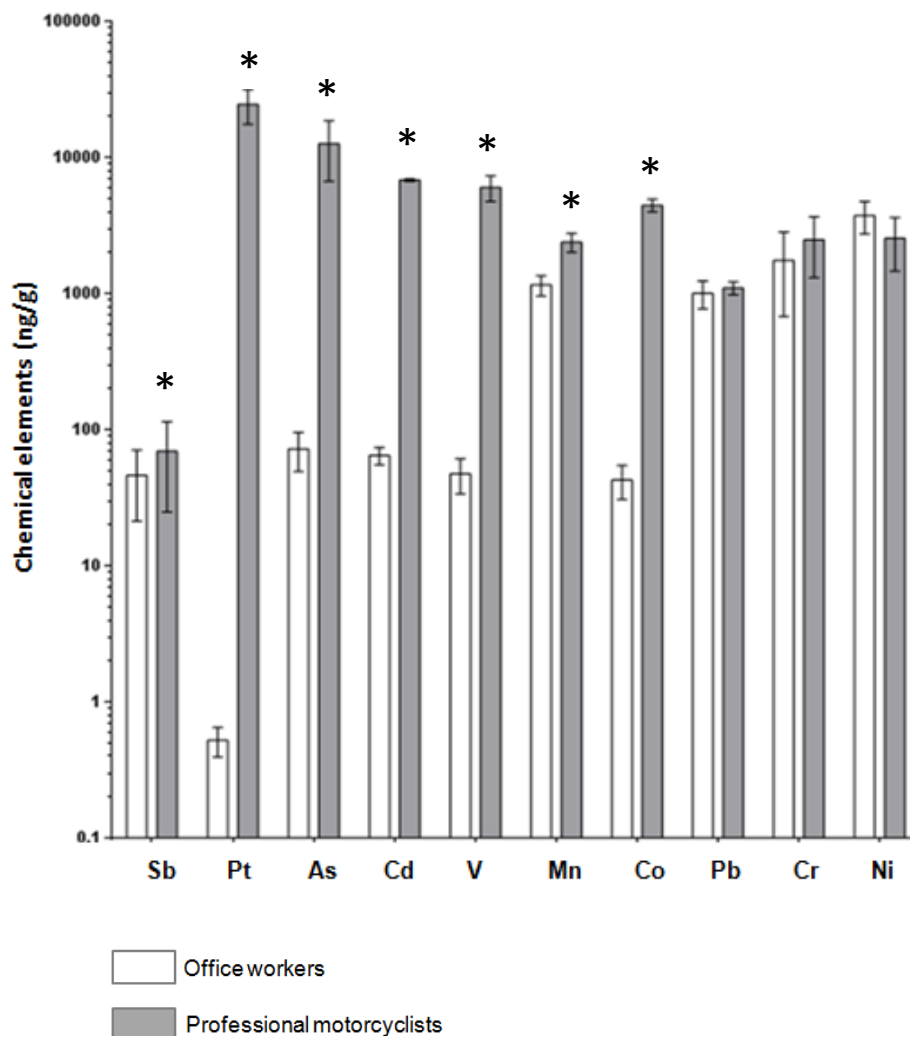


Figure 3.



## 6 CONCLUSÃO

Demonstramos no presente estudo que os motociclistas profissionais estão em exposição contínua a altos níveis de  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$ , conhecidos como poluentes extremamente nocivos. Também observamos uma maior atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT no grupo dos motociclistas profissionais, as quais provavelmente não foram suficientes para neutralizar as ERO produzidas em resposta à superexposição aos poluentes atmosféricos. Tal fato é corroborado pelo maior conteúdo de MDA observado no grupo exposto comparado ao não exposto. Além disso, o grupo dos motociclistas profissionais exibiu maiores níveis de micronúcleos em células da mucosa bucal, indicando maior dano genético, e maior concentração de metais pesados e metalóides em amostras de unha. Também foi demonstrada uma forte correlação entre os níveis de poluentes e lipoperoxidação, bem como uma forte correlação entre os níveis de poluentes e o dano genético.

Com isso, concluímos que os motociclistas profissionais representam um grupo mais suscetível aos efeitos deletérios dos poluentes atmosféricos devido à longa e contínua exposição dos mesmos aos tóxicos presentes no ar, principalmente aqueles produzidos e liberados por veículos dependentes do uso de combustíveis fósseis. Com isso, esse grupo específico de profissionais merece mais atenção no que tange ao estudo dos efeitos da poluição atmosférica, principalmente à pesquisas voltadas especialmente a indivíduos ocupacionalmente expostos a poluição do ar, bem como aquelas que focam no desenvolvimento de meios e formas de transporte mais sustentáveis.

Atualmente é inadiável a otimização e o aprimoramento do setor de transporte público, sendo este merecedor de grande atenção em nossa sociedade. De maneira evidente, a oferta de transporte público de qualidade é, indiscutivelmente, o primeiro passo para diminuir o número de veículos na rua, através do estímulo à população para substituir o uso do automóvel, optando preferencialmente pelo transporte coletivo, o qual obviamente deve apresentar uma qualidade aceitável para que a mudança de pensamento dos cidadãos ocorra.

## 7 ANEXOS

### 7.1 NORMAS DA REVISTA ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES



All papers submitted to *EHP* are evaluated by the editors to determine whether the topic is within the scope of the journal. Papers also are assessed for originality, scientific quality, environmental health significance, clarity of presentation, and conciseness. Before papers are sent for peer review, they are screened for possible plagiarism (see Scientific Integrity below), and authors must submit a Competing Financial Interests Declaration form on behalf of all authors (see Competing Financial Interests below). Papers selected for review are assigned to an Associate Editor, who identifies reviewers and makes recommendations to the Editor-in-Chief. Members of the Editorial Review Board serve as a pool of potential reviewers of papers. Both the Board of Associate Editors and the Editorial Review Board are composed of leading scientists from all segments of the environmental health sciences. The overall acceptance rate of papers submitted to the journal is approximately 15%.

#### ***Types of Manuscripts***

Manuscripts in the categories below are considered for publication. All manuscripts are peer reviewed except Brief Communications.

**Commentaries** (recommend length  $\leq$  5,000 words, excluding references and tables) present information and personal insight on a particular topic. Commentaries should not be extended critiques of single articles appearing in *EHP* or elsewhere. Factual data should be included to substantiate arguments. *EHP* reserves the right to reject Commentaries without review if they are perceived as being too polemic or personal in nature. *EHP* also reserves the right to propose that Commentaries be reviewed as one side of a point/counterpoint debate. Assuming the original author agrees, *EHP* will ask

another author to address the opposite side of an argument. If both papers are accepted, *EHP* will publish them together. Manuscripts on ethical, legal, social, or policy issues may also be accepted in this category.

**Research Articles** (suggested length  $\leq 7,000$  words, excluding references, tables, figure legends, acknowledgments, and supplementary material) report original scientific research and discovery. Research Articles may come from any field of scientific research with direct relevance to the study of human health and the environment.

**Substantive Reviews** (suggested length  $\leq 10,000$  words, excluding references, tables, and figures) provide an overview, integration of information, and critical analysis of a particular field of research or theme related to environmental health sciences. Previous research should be comprehensively reviewed regardless of whether the findings are consistent with expectations or the review authors' hypotheses. It is appropriate for authors to discuss the strengths and weaknesses of individual studies, focus on high-quality studies that add to the weight of the evidence on the topic under review, identify information gaps, and make recommendations for future research. Lengthy historical perspectives generally are not appropriate.

**Quantitative Reviews and Meta-Analyses** (recommended length  $\leq 10,000$  words, excluding references, tables, and figures) present, contrast, and (when appropriate) combine data across studies to address a specific study question related to environmental health. Inclusion criteria and strategies used to search the literature systematically should be explicitly described, along with analytic methods used to evaluate or combine data. The potential for publication bias and heterogeneity among studies should be investigated, and graphical displays of data contributed by individual studies are encouraged. The strengths and weaknesses of individual studies and potential causes of discordant findings among studies also should be discussed. As with Substantive Reviews, authors should integrate and critically analyze information from previous research, identify information gaps, and make recommendations for future research.

**Reviews Based on Meetings or Conferences** (suggested length  $\leq$  7,000 words, excluding references, tables, and figures) should review the state of the science for a particular area, identify research gaps and needs, and explain how the outcome of the meeting or conference addresses those gaps and needs. These reviews should focus on the science or theme but not on the conference or meeting itself. *De novo* data, participant lists, dialogue of workgroups or committees, and discussion of the internal organization of the meeting are not allowed. These papers should be submitted to *EHP* no more than 1 year after the meeting or conference takes place. Prospective authors should consult with the Editor-in-Chief before submitting a review based on a meeting or conference.

**Brief Communications** ( $\leq$  3,000 words, excluding references, tables, and figures) are short scholarly reports that provide timely information of interest to the broad environmental health community. They may be used to highlight the importance of new environmental health programs or agencies or the advantages of new research approaches in the context of knowledge gaps; or to raise awareness of and make recommendations for addressing contemporary or emerging environmental health problems. A Brief Communication may take the form of a statement from an organization or group concerning the need for action on an environmental health issue (typically with recommendations). Authors should contact the Editor-in-Chief in advance for permission to submit. Brief Communications are reviewed internally for relevance, importance, and clarity, and are published in the Perspectives section of *EHP*. They are assigned a DOI number and indexed in PubMed/MEDLINE. Formatting requirements, including references and any tables or figures, are consistent with those for *EHP* Research Articles, with the exception of the abstract, which must be unstructured (without subheadings) and  $\leq$  200 words. In addition, Supplemental Material is not allowed.

### ***Originality of Submission***

Contributions submitted to *EHP* must be original works of the author(s) and must not have been previously published in print or online or simultaneously submitted to another publication. Previously published material (e.g., figures, tables) may be included in Commentaries and Reviews, assuming the original authors have given permission to reproduce the material and all copyright issues

have been resolved. For original Research Articles, previously published schemata or illustrative figures are acceptable with the proper attribution and permission. Text or narrative from guidance documents, technical reports, and position papers by various government and nongovernmental organizations may be considered if they include new information. *EHP* will consider papers from dissertations that have been published in their entirety by a university in partial fulfillment of a degree. Manuscripts presented at a scientific meeting but not published in full or under review for publication elsewhere also will be considered. As indicated in *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* [International Committee of Medical Journal Editors ([http://www.icmje.org/urm\\_full.pdf](http://www.icmje.org/urm_full.pdf))], it is the responsibility of the author to make a full statement to the editor concerning materials in a manuscript that might be considered redundant or duplicative. For additional clarification, please contact the Editor-in-Chief.

### ***Scientific Integrity***

*EHP* requires assurances (both in submission comments and in the methods section of the manuscript) that animals used in a study have been treated humanely and with regard for the alleviation of suffering, and that the protocol was approved by an institutional animal care and use committee. Research involving humans must have been conducted according to the Common Rule (<http://ori.dhhs.gov/education/products/ucla/chapter2/page04b.htm>). Research involving humans also must be approved by an appropriate institutional review board and comply with all relevant national, state, and local regulations. For research conducted outside the United States and thus exempt from U.S. federal regulations, authors must perform the research in accordance with principles of the Declaration of Helsinki (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>). Approval and compliance with research requirements regarding human subjects must be noted, and information regarding informed consent procedures must be described in the “Methods” section of manuscripts concerning human subjects research.

*EHP* is sometimes confronted with issues regarding potential research misconduct, such as plagiarism or data fabrication. Authors should be aware that all papers submitted to *EHP* are screened routinely for plagiarism, defined as “the

appropriation of another person's ideas, processes, results, or words without giving appropriate credit" (American Medical Association. 2007. *AMA Manual of Style: A Guide for Authors and Editors*, 10th edition. New York:Oxford University Press). Instances of documented plagiarism and allegations of data fabrication will be brought to the attention of the authors' host institutions. Documented cases of plagiarism or data fabrication could lead to a 3-year ban on future publication in *EHP* by the authors, a published Expression of Concern, and/or retraction of the paper.

### ***Dual-Use Research***

*EHP* anticipates receiving submissions on research that, based on current understanding, can be reasonably anticipated to provide knowledge, products, or technologies that could be directly misapplied by others to pose a threat to public health and safety, agriculture, plants, animals, or the environment (also known as dual-use research). Papers flagged for dual-use issues by *EHP* editors will undergo an additional level of review concerning the implications to society of publishing such a paper, and *EHP* reserves the right to seek expert advice in such cases. Authors should be aware that *EHP* could determine that the risks to public health and safety of publishing the paper outweigh the benefits of publishing, even if the paper has otherwise been deemed acceptable for publication.

### ***Suggested Guidelines***

*EHP* endorses the ARRIVE guidelines for reporting results from animal studies (<http://www.nc3rs.org.uk/ARRIVE>). We encourage authors to review these guidelines when designing their studies and to use them in writing papers for submission to *EHP*, and we encourage our Associate Editors and peer reviewers to keep in mind the principles articulated in the ARRIVE guidelines when evaluating papers involving animal research. *EHP* encourages authors of Review articles to follow recommendations for transparent reporting of systematic reviews as described in the PRISMA Statement (<http://www.prisma-statement.org>). Authors performing microarray experiments should follow the Minimum Information About a Microarray Experiment (MIAME) guidelines developed by the Microarray Gene Expression Data (MGED) Society (<http://www.mged.org/miame>).



### ***Competing Financial Interests***

*EHP* has a policy of full disclosure. Authors must declare all actual or potential competing financial interests involving people or organizations that might reasonably be perceived as relevant. Disclosure of competing interests does not imply that the information in the article is questionable or that conclusions are biased. Decisions to publish or reject an article will not be based solely on a declaration of a competing interest.

For each manuscript, authors must submit a Competing Financial Interests Declaration (CFID) form (available at <https://ehp.niehs.nih.gov/wp-content/uploads/2012/09/EHP-CFI-form-blank.pdf>). Papers will not be processed unless a CFID form has been submitted.

Authors must disclose all actual or potential competing financial interests occurring within the last 3 years, including but not limited to

- Grant support
  - Employment (past, present, or firm offer of future)
  - Patents (pending or applied)
  - Payment for expert witness or testimony
  - Personal financial interests by the authors, immediate family members, or institutional affiliations that may gain or lose financially through publication of the article
  - Forms of compensation, including travel funding, consultancies, board positions, patent and royalty arrangements, stock shares, or bonds. Diversified mutual funds or investment trusts do not constitute a competing financial interest.
- Authors should carefully examine the wording of documents such as grants and contracts to determine whether there might be an actual or potential competing interest.

Employment of any author by a for-profit or nonprofit foundation or advocacy group or work as a consultant also must be indicated on the CFID form. As a condition of review and publication, authors must further certify that their freedom to design, conduct, interpret, and publish research is not compromised by any controlling sponsor.

A statement of disclosure consistent with the information contained in the CFID form must be included in the Acknowledgments section of the manuscript submitted to the journal. If there are no actual or potential competing financial

interests, this must be indicated: for example, “The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.”

Editors and reviewers also must disclose to the Editor-in-Chief any actual or potential competing interests, both financial and nonfinancial, that have occurred within the last 3 years and could reasonably be perceived as relevant. Competing nonfinancial interests include former or current mentor–student relationships, faculty appointments in the same department or organization, familial relationships, service on advisory boards that oversee the research under review, collaborations, or membership in organizations that hold ideological views that are contradictory to the theme or topic under review.

*EHP* relies on the integrity of all authors to provide accurate disclosure statements. However, authors can expect scrutiny of their statements by the editors, reviewers, and readership. Alleged inaccuracies of declared competing interests should be addressed to the Editor-in-Chief. *EHP* will impose a 3-year ban on publication in *EHP* by any authors found to have willfully failed to disclose a competing financial interest. A paper may also be retracted or an Expression of Concern published and appended to the article.

### ***Article Length***

The suggested word limits for the text of each article type are included with descriptions of the article types. All manuscripts should be as concise as possible without sacrificing all information necessary for reproducibility and clarity.

### ***Parts of a Manuscript***

#### **Title Pages**

The title pages should include the following items in the order shown, beginning on the first page of the manuscript:

- Manuscript title, not to exceed 20 words [Titles should describe the research or topic of the paper but not summarize results or conclusions; titles generally should not contain abbreviations or numerical values, with the exception of abbreviated study names (e.g., NHANES)]
- Names of the authors spelled out in full
- Affiliations of all authors (department, institution, city, state/province, and country)

- Name of and contact information for corresponding author to whom page proofs should be sent, including complete address for express mail service, telephone number, and e-mail address
- A short running title, not to exceed 50 characters and spaces
- Acknowledgments, including grant information
- A competing financial interests declaration.

### **Abstract**

All research papers, reviews, and commentaries must include a structured abstract of  $\leq 250$  words, which should not contain references. No information should be reported in the abstract that does not appear in the text of the manuscript. In general we recommend that authors indicate study names or sources of data that are integral to the study in the title or abstract. Conclusions should mention the relevance of the work to environmental health science. Headings to be used in the structured abstracts vary by article type as described below:

- Commentaries: Background, Objectives, Discussion, Conclusions
- Research Articles, Quantitative Reviews, and Meta-Analyses: Background, Objectives, Methods, Results, Conclusions
- Substantive Reviews and Reviews Based on Meetings or Conferences: Background, Objectives, Methods, Discussion, Conclusions.

### **Main Text**

The organization of the text varies by article type and roughly reflects the structure of the abstract:

- Commentaries: Introduction (comprising the Background and Objectives stated in the abstract), Discussion, Conclusions
- Research Articles: Introduction (comprising the Background and Objectives stated in the abstract), Methods, Results, Discussion, Conclusions
- Reviews: Introduction (comprising the Background and Objectives stated in the abstract), Methods (including data sources), Results (as appropriate), Discussion, Conclusions.

Concise subheadings ( $\leq 8$  words each) may be used to designate major topics within each of these sections.

## References, Tables, and Figures

The following items should be provided after the main text of the paper in this order: References, Tables, Figure Legends. The References, Tables, and Figure Legends must each begin on a new page of the manuscript. Figures and Supplemental Material should be provided as separate files. Additional information concerning each of these sections is provided below.

## Supplemental Material

*EHP* requires that primary methods be described in the main text, including information on the study design, study population or experimental model, exposures and outcomes, and statistical analyses. Supplemental Material should be reserved for background information that is not required by most readers to understand and interpret your findings, but is needed to support transparency. Such information may include (but is not limited to):

- lists of reagents and sources, SNPs, and primers
- background data, such as population counts used in risk assessment, results of screening analyses used to identify observations or exposures for further evaluation, lists of consortium members, or detailed information on studies in systematic reviews
- results of sensitivity analyses, e.g., to assess the potential influence of model assumptions, analytic approaches, effect modification, or outliers
- tables of numeric data used to generate figures and graphs included in the main text
- complex model derivations and formulas
- directed acyclic graphs (DAGs)
- software code
- raw data

Supplemental Material may include information in alternative formats, such as Excel files (ideal for large tables), text files (for data analysis code), video files (open file formats preferred, such as MP4 and AVI), audio files (in WAV or MP3 format), and presentations (Microsoft Powerpoint or PDF). Proprietary code files can also be posted if necessary (software dependencies should be listed in the

text of the Supplemental Materials), and open-source software created with the paper can also be hosted for download and installation.

### **Plain Language**

*EHP* covers all disciplines engaged in the broad field of environmental health sciences. Therefore, authors should write in a clear and simple manner, in the active voice, and avoid unnecessary jargon, so the article is understandable to readers in other disciplines and to those whose first language is not English. In deference to the breadth of the journal's readership, please define terms that may not be universally recognized among all environmental health scientists.

Clearly define all outcomes, exposures, predictors, confounders, and covariates, and describe the methods or assays used to characterize study data. Results should be presented in a clear and unambiguous manner. Comparison groups or reference conditions should be clearly indicated when reporting measures of association or effect and when reporting *p*-values for statistical tests comparing outcomes or effects between groups.

Recommend against the use of “-fold” terminology because it can be difficult to determine whether it is being used to describe relative versus absolute differences or changes between groups or conditions.

Whenever possible, provide an estimate of variability or precision when reporting measures of association or central tendency (e.g., confidence intervals, standard deviations, interquartile ranges), regardless of whether *p*-values are also reported for these estimates.

All manuscripts should be submitted in English. American spelling should be used throughout except for direct quotations from primary sources. For example, use “analyze,” not “analyse”; “behavior,” not “behaviour”; “modeling,” not “modelling”; and “fulfill,” not “fulfil.” Please consult *Merriam-Webster's Collegiate Dictionary, 11<sup>th</sup> Edition*, for guidance. Proper names containing British spelling should be expressed as given (e.g., “BC Centre for Disease Control”; “Minister of Employment, Workforce, and Labour”).

### **Abbreviations**

All abbreviations, including abbreviations for elements (e.g., Fe, Cu) and chemical compounds [e.g., polychlorinated biphenyls (PCBs), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>)], should be defined in the text on first use with abbreviations used thereafter.

Units of measure should be abbreviated only when a specific amount is given (e.g., “concentration of 10 ng/mL” versus “units of nanograms per milliliter”).

### ***In-Text Citations and Reference Lists***

References and citations must be formatted according to *EHP* style as described below. This will reduce copyediting time and the number of author queries included in page proofs. Authors should double-check all references for accuracy and completeness of information, spelling, diacritical marks, symbols, subscripts/superscripts, and italics. Authors are fully responsible for the accuracy of their references.

#### **In-Text Citations**

All in-text citations must be in name/date form. Place the citation immediately after the textual information cited, placing name and date within parentheses without a comma. EndNote is a useful source for *EHP* reference style; the current *EHP* reference style for EndNote can be downloaded from <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>.

- Single author: (Wing 2002)
- Two authors: (Wing and Wolf 2000)
- Three or more authors: Use first author’s last name plus “et al.” (Wing et al. 2008)
- Multiple sources cited at one time: List publications alphabetically by author in the citation. Separate publications by the same author(s) with commas and those by different authors with semicolons: (Aldridge et al. 2005; Jameson et al. 2006; Levin et al. 2007; Slotkin 2004a, 2004b; Slotkin et al. 2008)
- Multiple sources cited at one time with different first authors but same last name and date: Use first author’s last name plus initial(s) (Smith A 2000; Smith J 2000).

Provide references for any quotations used in the text. For example:  
According to Rubin et al. (2001), “it is only with a multidisciplinary and collaborative approach that the environmental and public health significance of *Pfiesteria* will be fully understood.”

Any items that must be cited but are not accessible to the public must appear in the text in parentheses but should not be listed in the references:

(Ramsdell JS, Moeller PDR, personal communication); (Reeves MK, unpublished data).

### **Reference List**

Authors are fully responsible for the accuracy of their references. The list of references should begin on a new page after the Conclusions of the manuscript. All references must include

- Author/editor last name plus initials (for six or fewer authors; if there are more than six authors, use “et al.” after the sixth) or authoring agency
- Year of publication
- Full title of article or chapter (lower case)
- Title of journal [abbreviated according to BIOSIS, *Index Medicus*, or PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>)] or book/proceedings in title case
- For books and meeting reports, city/state/country of publication and name of publisher
- Volume and inclusive page numbers
- DOI number, if available; this information is required for articles published online only
- For websites and documents available online, URL (web address) and date accessed.

If you are uncertain what to include, please include all information.

List references alphabetically by the last name of the first author. If the first author has more than one publication, list references in alphabetical order (letter by letter) of subsequent authors. If the first author shares the last name with another first author (Smith JM vs. Smith RB), alphabetize by initials. If you list more than one publication by the same author/group of authors, arrange publications by date, early to late. If you list more than one publication published in the same year by the same author/group of authors, use a, b, c, and so on to distinguish the publications.

### **Sample Alphabetical List**

Slotkin TA. 2004a. Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicol Appl Pharmacol* 198:132–151.

Slotkin TA. 2004b. Guidelines for developmental neurotoxicity and their impact on organophosphate pesticides: a personal view from an academic perspective. *Neurotoxicology* 25:631–640.

Slotkin TA. 2005. Developmental neurotoxicity of organophosphates: a case study of chlorpyrifos. In: *Toxicity of Organophosphate and Carbamate Pesticides* (Gupta RC, ed). San Diego:Elsevier Academic Press, 293–314.

Slotkin TA, MacKillop EA, Ryde IT, Tate CA, Seidler FJ. 2007. Screening for developmental neurotoxicity using PC12 cells: comparisons of organophosphates with a carbamate, an organochlorine and divalent nickel. *Environ Health Perspect* 115:93–101.

Slotkin TA, Persons D, Slepatis RJ, Taylor D, Bartolome J. 1984. Control of nucleic acid and protein synthesis in developing brain, kidney, and heart of the neonatal rat: effects of a difluoromethylornithine, a specific, irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *Teratology* 30:211–224.

Slotkin TA, Seidler FJ. 2007. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. *Brain Res Bull* 72:232–274.

### ***Footnotes***

Do not use footnotes. Place all textual information within the manuscript and all references in the proper form both in text and in the reference list.

### ***Preparing Tables and Figures***

#### **Tables**

Each table must begin on a new page after the References. Tables must be numbered with Arabic numerals, followed by a brief title (not to exceed 25 words). Tables should contain no more than two layers of column headings. A column heading must be provided for each column. Additional column heads should not be placed in the middle of a table. Tables must be created using the Table feature in Microsoft Word. List abbreviations and definitions under each table. Type



footnotes directly after the abbreviations, beginning on the next line. General footnotes to tables must be indicated by lowercase superscript letters beginning with “a” for each table. Footnotes indicating statistical significance must be identified in the following order: asterisks (\*, \*\*), number signs (#, ##), and daggers (†, ††). The comparison to which the *p*-value applies must be clearly indicated (e.g., “compared with untreated controls”). For presentation of data in tables, please use the “±” symbol for arithmetic mean and standard deviation or standard error (e.g., “mean ± SE”) and parentheses for the standard error when presented with the geometric mean [e.g., “GM (SE)”. Please present number and percent as “*n* (%)” (i.e., in one column separated with one space). Confidence intervals should be presented in parentheses in the same column as the point estimate, with the upper and lower bounds separated by a comma [e.g., (0.1, 2.3)].

### **Figure Legends**

Figure legends should be provided on a new page after tables. Each figure legend should include a title for the entire figure and descriptors for each panel [e.g., “Figure 1. Incidence of hepatocellular adenomas (A) and carcinomas (B) in mice exposed to DEHP”]. Define error bars and any abbreviations not defined in the text. Footnotes indicating statistical significance must be identified in the following order: asterisks (\*, \*\*), number signs (#, ##), and daggers (†, ††). The comparison to which the *p*-value applies must be clearly indicated (e.g., “compared with controls from the corresponding age group”). Type footnotes directly after the abbreviations beginning on the next line.

### **Figures**

Each figure must be provided as a separate file in one of the following formats: EPS, PDF, TIFF, or JPG. Do not embed figures in the main text (Microsoft Word) file. Each figure must be labeled with the figure number. For TIFF or JPG format, the resolution should be 300 dpi for color images, 600 dpi for grayscale images, and 1,200 dpi for line art (black-and-white art). JPG files should be saved on the “highest quality” setting. Color images should be RGB and saved at a minimum of 8 bits per channel. Because figures may be reduced or enlarged to fit our layouts, sufficient resolution is essential. Vector images should be saved

as editable EPS files. Any images embedded in the EPS should also be included in a separate file. Do not convert text to path outlines before submission.

Graphics must fit standard letter-size paper (8.5 × 11 inches, portrait orientation). Multiple panels within a figure also must fit on a single page. All letters, numbers, and lines must be clearly legible and easy to differentiate. Provide a key defining representational elements (e.g., dotted/dashed lines, symbols, box plot elements) for each figure. All axes must be clearly labeled, giving both the measure and the unit of measurement where applicable. Consistency among terms and styles (including symbols and colors) used in figures is desirable. For example, if a black circle represents the control in Figure 1, a black circle (or a black bar) should be used for controls in all other figures. Photomicrographs should include a scale bar in each image, and the length should be specified in the typed figure legend (e.g., “bar = 10  $\mu\text{m}$ ”). *EHP* encourages authors to use color to enhance figures. However, to ensure accessibility, all figures must be interpretable when printed in black and white.

*EHP* editors reserve the right to request that complex figures (e.g., figures with multiple panels showing information in a variety of formats, or that include panels related to different experiments) be divided into separate figures for publication. Questions concerning figures should be directed to [EHPmanuscripts@niehs.nih.gov](mailto:EHPmanuscripts@niehs.nih.gov).

### **Image Integrity**

Adjusting an image for brightness and contrast is acceptable if it is applied to the entire image. Background data of gels and blots must not be removed. The final image must accurately represent the original data.

### ***Supplemental Material***

*EHP* welcomes reasonable amounts of material suitable for inclusion as online documentation for submitted manuscripts. Examples are bioinformatic data, formulae, statistical derivations, full gene data and analysis, additional high-resolution microscopic data, kinetic analyses, and other supporting tables, figures, or videos. The submitted manuscripts must be able to stand alone in the absence of Supplemental Material. All information included as Supplemental Material should be directly relevant to the article; however, information should be included

only in the paper or the Supplemental Material—not in both. The principal methodological approach must be clearly described in the main body of the paper and not relegated to Supplemental Material. Supplemental Material will be peer reviewed along with the manuscript and thus must meet the same rigorous standards.

Supplemental Material should not exceed 2,000 words, including text, tables, references, and figure legends plus an additional 250 words per figure. If the Supplemental Material exceeds this limit, the author must justify the overage in the Author Comments field provided in our online manuscript submission system. Authors may provide a separate (permanent) web repository for information that is not included in the Supplemental Material file if they believe it would be of interest to readers. This material should be clearly identified as not peer reviewed. This information should be cited in the text and included in the reference list (formatted as a website).

Supplemental Material files are linked to papers through a common DOI number. We use Supplemental Material files “as is” (i.e., *EHP* will not copyedit or reformat the file). Therefore, please carefully check files to confirm that they are complete, accurate, and ready for publication.

- Begin the Supplemental Material file with a title page that indicates “Supplemental Material” followed by the title of the paper and the author list.
- Provide a Table of Contents (on or after the title page) if the Supplemental Material comprises multiple tables, figures, and/or sections of text.
- Place figure legends below corresponding figures.
- Landscape (versus portrait) layout may be used when needed.
- Tables or figures included in the Supplemental Material should be labeled as Table S1; Figure S1; and so on.
- When referring to Supplemental Material in the main manuscript, indicate the table, figure, or section as follows: See Supplemental Material; see Table S1; see Fig. S1; see Supplemental Material, p. 6; see Supplemental Material, Part 2.
- A separate reference list must be included in the Supplemental Material file for any sources cited in the Supplemental Material, even if they are cited in the main paper.

## TYPES OF REFERENCES

### **Journal article—conventional reference:**

Waalkes MP, Liu J, Diwan BA. 2007. Transplacental arsenic carcinogenesis in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 222:271–280.

### **Journal article—advance publication:**

Latendresse JR, Bucci TJ, Olson G, Mellick P, Weiss C, Thorn B, et al. 2009. Genistein and ethinyl estradiol dietary exposures in multigenerational and chronic studies induce similar proliferative lesions in mammary gland of male Sprague-Dawley rats. *Reprod Toxicol*; doi:10.1016/j.reprotox.2009.04.006 [Online 19 April 2009].

### **Journal article—published online only:**

Glas AM, Floore A, Delahaye LJ, Witteveen AT, Pover RC, Bakx N, et al. 2006. Converting a breast cancer microarray signature into a high-throughput diagnostic test. *BMC Genomics* 7:278; doi:10.1186/1471-2164-7-278.

### **Journal article, “in press”:**

Holmes AK, Maisonet M, Rubin C, Kieszak S, Barr DB, Calafat AM, et al. In press. A pilot study of exposures to endocrine-disrupting compounds in pregnant women and children from the United Kingdom. *Int J Child Adolesc Health*.

### **Article in non-English language:**

Rateau JG, Broillard M, Morgant G, Aymard P. 1986. Etude experimental chez le lapin de l'effet de la cholestyramine dans le traitement des diarrhees infectieuses d'origine cholérique [in French]. *Actualite Therapeut* 22:289–296.

### **Magazine article:**

Grant M. 1997. The cell from hell. *People*, 19 May:101–103.

### **Newspaper article:**

Clabby C. 2001. Study details how centuries of fishing depleted sea life. *News and Observer* (Raleigh, NC) 27 July: B1.

### **Book:**

Luna LG. 1968. *Manual of Histopathologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. New York:McGraw-Hill.

### **Book, edited:**

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, eds. 1992. *Veterinary Dermatopathology*. St. Louis, MO: Mosby Year Book.

### **Chapter in edited book:**

Gurevitch J, Hedges LV. 1993. Meta-analysis: combining the results of independent experiments. In: *The Design and Analysis of Ecological Experiments* (Scheiner SM, Gurevitch J, eds). New York:Chapman & Hall, 378–398.

**Book chapter, “in press”:**

McCoy KA, Guillette LJ. In press. Endocrine disruptors. In: *Amphibian Biology. Vol 8. Conservation and Decline of Amphibians* (Heatwole HF, ed). Chipping Norton, New South Wales, Australia:Surrey Beatty & Sons.

**Agency monograph:**

IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993. Cadmium and cadmium compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum* 58:119–237.

**Agency as author:**

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2005. *Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals*. Atlanta, GA:Centers for Disease Control and Prevention. Available:<http://www.cdc.gov/exposurereport/> [accessed 14 January 2010].

**Proceedings:**

Ibrahim K. 1994. The status of marine turtle conservation in Peninsular Malaysia. In: *Proceedings of the first ASEAN Symposium Workshop on Marine Turtle Conservation, 6–10 December 1993, Manila, Philippines* (Nacu A, Trono R, Palma JA, Torres D, Agas F Jr, eds). Manila, Philippines:ASEAN, 87–103.

**Technical paper:**

NTP. 2006. *Toxicology and Carcinogenesis Studies of Bromodichloromethane (CAS No. 75-27-4) in Male F344/N Rats and Female B6C3F<sub>1</sub> Mice (Drinking Water Studies)*. TR 532. Research Triangle Park, NC:National Toxicology Program.

**Dissertation/thesis**

Gelobter M. 1993. *Race, Class, and Outdoor Air Pollution: The Dynamics of Environmental Discrimination from 1970 to 1990* [PhD Dissertation]. Berkeley, CA:University of California, Berkeley.

**Software manual:**

SAS Institute Inc. 2001. *SAS/STAT Guide for Personal Computers, Version 8*. Cary, NC:SAS Institute, Inc.

**Website:**

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2003. National Health and Nutrition Examination Survey Homepage. Available: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm> [accessed 6 August 2008].

**Online database:**

National Center for Biotechnology Information. 2011. PubMed. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> [accessed 14 July 2011].

**Abstract:**

Barbeito AG, Guelfi N, Varga MR, Pehar M, Beckman J, Barbeito L, et al. 2005. Chronic low-level lead exposure increases survival of G93A SOD-1 transgenic mice [Abstract]. In: Amyotrophic Lateral Sclerosis: Beyond the Motor Neuron. Available: <http://iibce.edu.uy/ALSmeeting/abstract.htm> [accessed 14 April 2008].

**Federal regulation:**

U.S. Environmental Protection Agency. 2001. National primary drinking water regulations. Arsenic and clarifications to compliance and new source contaminants monitoring. Final rule. Fed Reg 66:6076–7066.

**Executive order; federal regulation:**

Clinton WJ. 2000. Executive Order 13148. Greening of the government through leadership in environmental management. Fed Reg 65:24595–24606.

**U.S. Government document:**

U.S. Environmental Protection Agency. 2004. Air Quality Criteria for Particulate Matter. EPA/600/P-99/002aF. Research Triangle Park, NC:U.S. Environmental Protection Agency.

**State document:**

State of Maryland. 1998. Water Quality Improvement Act of 1998. Annapolis, MD:General Assembly.

**Law:**

Food Quality Protection Act of 1996. 1996. Public Law 104-170.

**Court case:**

Leach v. E.I. du Pont de Nemours & Co. 2002. Civil Action No. 01-C-608, 2002 WL 1270121. Circuit Court of Wood County, West Virginia, 10 April 2002.

## ABBREVIATIONS

All nonstandard abbreviations [e.g., organochlorine (OC) pesticides, limit of detection (LOD), polymerase chain reaction (PCR)] and abbreviations for elements

(e.g., Fe, Cu, Ag) and chemical compounds [e.g., polychlorinated biphenyls (PCBs), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>)] should be defined in the text on first use and abbreviated thereafter.

Standard abbreviations, which do not need to be defined, are shown below. Units of measure should be abbreviated only when a specific amount is given (e.g., “concentration of 10 ng/mL” versus “units of nanograms per milliliter”).

### ***Editorial Manager***

Manuscripts submitted to *EHP* will be processed using Editorial Manager, an online manuscript submission and tracking program (<http://www.editorialmanager.com/ehp>).

### ***Initial Submission of a Manuscript***

Authors should either log in or select the “Create a New Account” icon to create a new account. To determine if an account exists, e-mail [EHPmanuscripts@niehs.nih.gov](mailto:EHPmanuscripts@niehs.nih.gov). Once logged in to the Editorial Manager site, authors must select the “Submit New Manuscript” link. From this point, the system will guide the user through the submission process. Online help is available at all times during the process via the “Help” link in the upper left of the screen. Users may also exit and reenter the submission process at any time before completing a manuscript submission.

Manuscripts may be submitted only via the online system. Manuscripts submitted by other methods (e.g., hard copy, e-mail) will not be processed.

### **Cover Letter/Author Comments**

Authors should not upload a separate cover letter during the submission process. Instead, the information normally reserved for a cover letter should be included in the Author Comments field provided in our online manuscript submission system. During the submission process, the system will prompt you for this information. Please type or copy-and-paste information that addresses the following points into the field provided:

- Assurances that the manuscript a) is an original work, b) has not been previously published whole or in part, and c) is not under consideration for publication elsewhere.

- For research that involves animals, authors must certify and state in the manuscript that an institutional animal care and use committee approved the protocol, and that the animals were treated humanely with due consideration to the alleviation of distress and discomfort.

- For research that involves human subjects, authors must certify and state in the manuscript that an institutional review committee approved the protocol and that participation of human subjects did not occur until after informed consent was obtained.

- Confirmation that all authors have disclosed any actual or potential competing interests regarding the submitted article and the nature of those interests (the required CFID form is available at <https://ehp.niehs.nih.gov/cfi.pdf>).

- If applicable, written permission from any copyright holder (usually the publisher) to reproduce figures, tables, questionnaires, or a substantial block of text in both print and electronic forms.

- A statement indicating that all authors a) have read the manuscript, b) agree the work is ready for submission to a journal, and c) accept responsibility for the manuscript's contents.

- The names and e-mail addresses of up to six possible preferred reviewers, as well as up to six nonpreferred reviewers for the manuscript. Authors may also recommend a specific *EHP* Associate Editor.

- If applicable, a statement concerning previous publication of a manuscript or materials that might be considered redundant or duplicative.

### ***Peer Review***

Manuscripts are assessed for relevance to environmental health, originality, scientific quality, importance, clarity of presentation, and conciseness. All new submissions undergo an initial review by a group of consulting editors. Authors will be notified within about 10 days if their paper is not selected for peer review based on the initial evaluation. Papers selected for peer review (~ 20% of new submissions) are assigned to an Associate Editor, who identifies at least two peer reviewers and makes recommendations to the Editor-in-Chief based on their reviews. Reviewer names are not provided to authors, but author names are available to reviewers. Reviewers are asked to complete their review within 2 weeks.



After editorial consideration, a decision letter and reviewers' comments will be e-mailed to authors. If a revision of the manuscript is required, authors must submit the revised manuscript to *EHP* within 4 weeks of the request. If authors fail to meet this deadline, the submission will be canceled unless the authors have obtained prior permission for an extension from the Editor-in-Chief. Authors must submit both the revised manuscript and a letter responding to reviewers' comments.

After editorial consideration, a decision letter and reviewers' comments will be e-mailed to authors. If a revision of the manuscript is required, authors must submit the revised manuscript to *EHP* within 6 weeks of the request. If authors fail to meet this deadline, the submission will be canceled unless the authors have obtained prior permission for an extension from the Editor-in-Chief. Authors must submit both the revised manuscript and a letter responding to reviewers' comments.

#### ***Resubmission of a Revised Manuscript***

If *EHP* requests revisions or accepts the manuscript, authors will need to submit all of the following through Editorial Manager (<http://www.editorialmanager.com/ehp>):

- All text, tables, and figure legends must be in one Microsoft Word document. Please ensure that any symbols and equations appear correctly on printed copies and that all figures and tables are cited in the body text in numerical order. Line numbering must also be enabled in your revised manuscript.

- Each revised figure must be submitted as a separate file in one of the following formats: EPS, PDF, TIFF, or JPG. Each figure must be labeled with the correct figure number for the revised manuscript. Additional information on formatting and content requirements is provided in "Preparing Tables and Figures" above.

- Authors must submit a Response to Reviewers document with point-by-point responses to the reviewers' comments, a copy of the revised manuscript with changes tracked in Microsoft Word, and a clean version of the revised manuscript with all changes accepted. To expedite the processing of revised manuscripts, it is important to be as specific as possible in responding to reviewers' comments. Authors should copy the editors' and/or reviewers' comments into the response letter and respond to each comment individually, including the specific changes

made in response to each comment (if any) and where the changes are located in the revised draft.

### ***Final Internal Review***

All manuscripts undergo an in-house editorial review of scientific content and accuracy as well as compliance with *EHP* formatting and Competing Financial Interests requirements before they are accepted for publication. Authors will be notified that their paper has been accepted provisionally, at which point they may be asked to respond to additional post-review requests from the *EHP* Editor-in-Chief or Science Editor. Authors also are asked at this point to conduct their own final review of their paper to confirm that it is ready for production. Authors should be aware that on rare occasions this final review identifies serious concerns that might prevent acceptance. However, in most cases, final acceptance will occur after authors respond to requests or questions raised by the final review.

### ***Copyediting/Page Proofs***

To prepare each paper for final publication, *EHP* staff will convert electronic material to a desktop publishing format and copyedit the manuscript. The copyedited version, with embedded author queries, will be converted to PDF page proofs and sent to authors by e-mail. The authors can use free Adobe Reader software (<http://get.adobe.com/reader/otherversions/>) to review the proofs. There are two methods of correcting and returning proofs:

- Authors may use Comment and Markup Tools in Acrobat and return the corrected proof via the production tracking system.
- Authors may print the proof and write corrections directly on the printed copy, and then scan the marked proof and return it via the production tracking system. Authors using this method should also include with the page proofs a list of itemized changes (including their locations).

The copyedited proofs of an article may be slightly different from the accepted manuscript as a result of the editing process, but no substantive changes will be allowed. Any significant changes at this stage of processing will require a correction to be published at the end of the article. Extensive changes cannot be made at the proof stage; only minor changes, such as spelling, grammar, clarification, and referencing, should be requested. If new information

has become available after acceptance of the manuscript, an addendum in proof can be included with the permission of the Editor-in-Chief.

Should a change to the author lineup be requested (add or remove an author, or change the order of authors), *EHP* must receive written approval from all authors indicating that they approve the change before it can be executed. This approval can be provided as a signature (in ink and scanned) or as a direct email to *EHP*; either approval method must include a copy of the new lineup. It is the corresponding author's responsibility to coordinate co-author approvals of the new lineup. Approvals on behalf of an author will not be accepted. Your paper will remain on hold until all approvals are received, so a request to change the author lineup could result in a delay to your publication date. Should all authors fail to approve the lineup, *EHP* will either publish the paper with the old lineup, or will consider retracting the article at the request of the authors.

### ***Copyright, Reproduction, and Citation***

*EHP* is a publication of the U.S. Government. Publication of *EHP* lies in the public domain and is therefore without copyright. All text from *EHP* may be reprinted freely. Use of materials published in *EHP* should be acknowledged (for example, "Reproduced with permission from *Environmental Health Perspectives*"); pertinent reference information should be provided for the article from which the material was reproduced. Articles from *EHP*, especially the News section, may contain photographs or figures copyrighted by other commercial organizations or individuals that may not be used without obtaining prior approval from the holder of the copyright. For further information, contact *EHP* Permissions (ehponline@niehs.nih.gov).

### ***Press Releases and Embargo Policy***

Authors are responsible for arranging media outreach with their own press offices in conjunction with *EHP*. All final articles are published at 8 am Eastern Time on the first business day of the month; contact *EHP* to determine which month your paper is scheduled to be published in, so you can give the media sufficient time to prepare stories and contact corresponding authors for additional information.

Authors whose papers have been provisionally accepted for publication should contact Susan Booker, *EHP* News Editor, at [booker@niehs.nih.gov](mailto:booker@niehs.nih.gov) to coordinate embargo and publication dates. Authors or press officers should also provide *EHP* a copy of their final press release.

After final acceptance *EHP* will send press officers a PDF copy of the accepted manuscript of the article to be distributed to media who request it; final versions of the article will be distributed if they are available at that time. All pre-press materials will be clearly identified as embargoed and will include the embargo date and time established by *EHP* in conjunction with the authors. Authors must adhere to *EHP's* embargo policy, and authors and media alike are responsible for ensuring that all third parties with whom they share pre-press materials honor the embargo.

## 7.2 CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE MOTOCICLISTAS PROFISSIONAIS AOS POLUENTES ATMOSFÉRICOS URBANOS

**Pesquisador:** Claudia Ramos Rhoden

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 46786115.4.0000.5345

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.331.721

#### **Apresentação do Projeto:**

A poluição atmosférica pode ser definida como, a presença no ar de contaminantes tóxicos que quando inalados podem afetar a saúde humana. Na atmosfera são encontrados diversos materiais poluentes, entre eles os principais são ozônio (O<sub>3</sub>), o material particulado (MP), os óxido de enxofre, os óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), o monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), voláteis orgânicos e de poluentes na atmosfera está intimamente ligado com o aumento expressivo da motorização individual, nos últimos 14 anos houve um aumento de mais de 180% na frota de motocicletas no Rio Grande do Sul, esse aumento deve-se em grande parte ao crescimento da frota de motociclistas profissionais (motoboys), os quais estão expostos de forma crônica aos poluentes ambientais. Sabe-se também que as motocicletas poluem de 6 a 8 vezes mais do que os carros, fazendo com que essa população profissional

Continuação do Parecer: 1.331.721

específica fique

ainda mais suscetível aos efeitos deletérios provocados pela poluição atmosférica. A literatura científica aborda essa problemática, na grande parte das vezes, com enfoque na função pulmonar, sendo escassos os trabalhos que focam em identificar modificações precoces nesses trabalhadores. Com isso, o presente trabalho tem como objetivo estudar o impacto da exposição crônica destes trabalhadores específicos aos poluentes atmosféricos, com uso de monitoramento ativo e passivo de poluentes, caracterização de elementos acumulados e avaliação da atividade inflamatória e do estresse oxidativo, gerando dados que possam ser usados futuramente no desenvolvimento de projetos de mitigação de danos a saúde dos mesmos e equipamentos de proteção mais eficazes para evitar ou minimizar a inalação de intoxicantes. metais. Diversos estudos já demonstraram que a exposição crônica a esses intoxicantes associa-se com alta mortalidade e morbidade, aumento do risco de desenvolvimento de doenças agudas respiratórias, exacerbação de doenças obstrutivas pulmonares, câncer de pulmão, desenvolvimento de resistência a insulina (diabetes tipo II), problemas no sistema reprodutor, aparecimento de doenças cardiovasculares entre outros. O aumento de poluentes na atmosfera está intimamente ligado com o aumento expressivo da motorização individual,

nos últimos 14 anos houve um aumento de mais de 180% na frota de motocicletas no Rio Grande do Sul, esse aumento deve-se em grande parte ao crescimento da frota de motociclistas profissionais (motoboys), os quais estão expostos de forma crônica aos poluentes ambientais. Sabe-se também que as motocicletas poluem de 6 a 8 vezes mais do que os carros, fazendo com que essa população profissional

Continuação do Parecer: 1.331.721

específica fique

ainda mais suscetível aos efeitos deletérios provocados pela poluição atmosférica. A literatura científica aborda essa problemática, na grande parte das vezes, com enfoque na função pulmonar, sendo escassos os trabalhos que focam em identificar modificações precoces nesses trabalhadores. Com isso, o presente trabalho tem como objetivo estudar o impacto da exposição crônica destes trabalhadores específicos aos poluentes atmosféricos, com uso de monitoramento ativo e passivo de poluentes, caracterização de elementos acumulados e avaliação da atividade inflamatória e do estresse oxidativo, gerando dados que possam ser usados futuramente no desenvolvimento de projetos de mitigação de danos a saúde dos mesmos e equipamentos de proteção mais eficazes para evitar ou minimizar a inalação de intoxicantes.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar a exposição dos motociclistas profissionais aos poluentes atmosféricos na cidade de Porto Alegre - RS.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:****Riscos:**

O participante poderá sentir um pequeno desconforto no momento da coleta de sangue, pelo uso de agulha, podendo surgir um hematoma (roxo) no local onde foi retirado o sangue. Após a coleta de sangue é importante ressaltar que o participante não poderá dobrar o braço, carregar peso ou bolsa a tiracolo ou usar manga dobrada no braço coletado por no mínimo 1 hora.

**Benefícios:**

O participante será informado sobre os resultados da pesquisa após análise de todos os dados em conjunto,

Continuação do Parecer: 1.331.721

não havendo benefícios individuais diretos relacionados aos dados obtidos na pesquisa. Entretanto salienta-se que o monitoramento e avaliação da qualidade do ar podem contribuir para mudança de práticas rotineira e adoção de novas medidas preventivas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Sem considerações.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Termos adequados conforme sugerido no parecer anterior.

**Recomendações:****Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516175.pdf	15/10/2015 17:54:20		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEsEAnuencia.docx	15/10/2015 17:54:05	Roseana Boek Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Anuencia.docx	15/10/2015 17:53:20	Roseana Boek Carvalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEP.docx	15/10/2015 17:49:36	Roseana Boek Carvalho	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	19/08/2015 16:49:00	Roseana Boek Carvalho	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 1.331.721

PORTO ALEGRE, 20 de Novembro de 2015

---

**Assinado por:**

**Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima**  
(Coordenador)