

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



“Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde infantil: Um estudo sobre biomarcadores de estresse oxidativo em crianças e adolescentes da Amazônia Brasileira”

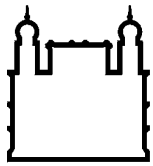
por

Beatriz Fátima Alves de Oliveira

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

*Orientadora principal: Prof.^a Dr.^a Sandra de Souza Hacon
Segundo orientador: Prof. Dr. Washington Leite Junger*

Rio de Janeiro, outubro de 2015.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

Esta tese, intitulada

“Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde infantil: Um estudo sobre biomarcadores de estresse oxidativo em crianças e adolescentes da Amazônia Brasileira”

apresentada por

Beatriz Fátima Alves de Oliveira

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dr.^a Denise Pires de Carvalho

Prof. Dr Márlon de Freitas Fonseca

Prof.^a Dr.^a Gina Torres Rego Monteiro

Prof.^a Dr.^a Ariane Leites Larentis

Prof.^a Dr.^a Sandra de Souza Hacon – Orientadora principal

Tese defendida e aprovada em 26 de outubro de 2015.

Catálogo na fonte
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

O48p	<p>Oliveira, Beatriz Fatima Alves de Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde infantil: um estudo sobre biomarcadores de estresse oxidativo em crianças e adolescentes da Amazônia brasileira. / Beatriz Fatima Alves de Oliveira. -- 2015. 255 f. : il. ; tab. ; graf. ; mapas</p> <p>Orientador: Sandra de Souza Hacon Washington Leite Junger</p> <p>Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015.</p> <p>1. Poluição do Ar – efeitos adversos. 2. Saúde da Criança. 3. Saúde do Adolescente. 4. Estresse Oxidativo. 5. Glutathione S-Transferase pi. 6. Malondialdeído. 7. Ecossistema Amazônico. 8. Marcadores Biológicos - análise. I. Título.</p>
------	---

DEDICATÓRIA

*À minha querida família, Marco Aurélio e Manuela que construí durante o doutorado.
A minha querida mãe Geralda, irmãs Vivian e Bruna, tia Ana Lúcia e afilhado Joaquim pela
presença carinhosa e motivadora durante esse trabalho.
A meu pai amado, que partiu cedo desta vida, mas sempre esteve presente em meu coração.*

AGRADECIMENTOS

À minha família que tanto me apoiou e encorajou a realização deste trabalho.

À Prof^a Sandra Hacon, minha orientadora pela luta, confiança e sensibilidade. Pela esperança e perseverança em realizar esse trabalho na Amazônia. São poucas as pessoas que possuem essa coragem e, por isso, agradeço a ela que sempre me encorajou a nunca desistir.

Ao Prof^o Dr^o Washington Leite Jünger pela amizade, disponibilidade e confiança que foram indispensáveis e necessários para a construção do trabalho. Ao seu grupo, Núcleo de Pesquisa em Epidemiologia Ambiental (NPEA) pelo auxílio nas análises estatísticas.

À minha amiga Hattie Cobb, uma mulher incrível, tão sábia e generosa que impulsionou e participou diretamente em parte deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas de grupo de pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública, Dennys Mourão, Claudio Kleber e Gabriela Protázio pelo apoio, incentivo e auxílio na concretização deste trabalho. Ao grupo de pesquisa e campo de Porto Velho: Núbia, Érisson, Jana e Cleyton.

Ao Prof^o Paulo Artaxo pelos dados de poluição e ao Prof^o Hermano Albuquerque Castro e ao meu amigo Eduardo Pinheiro pela contribuição na realização dos exames de espirometria.

Ao grupo do Laboratório de biomarcadores de efeito do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia (CESTEH), especialmente Leandro de Carvalho, Simone Mitri e Jucilene.

À minha querida amiga Patrícia Diniz Cantanhede, pelo carinho, apoio e convivência durante estes mais de 4 anos de doutorado

Aos pais e crianças de Porto Velho, especialmente Resex de Cuniã, que participaram do estudo.

RESUMO

OLIVEIRA, Beatriz Fátima Alves de. **Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde infantil: Um estudo sobre biomarcadores de estresse oxidativo em crianças e adolescentes da Amazônia Brasileira**. 2015. Tese [Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente] – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da exposição ao material particulado fino (PM_{2,5}) nos biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes de 5 a 17 anos residentes na Amazônia Ocidental Brasileira durante a seca de 2012. A tese é apresentada em formato de coletânea da qual fazem parte três artigos científicos: um estudo de revisão sistemática e dois estudos descritivos do tipo transversal. O primeiro artigo teve como objetivo discutir o escopo das pesquisas publicadas sobre biomarcadores de exposição e efeito usados na poluição do ar entre 2009 a 2012. No segundo artigo, foi realizado um estudo descritivo para avaliar os efeitos de fatores genéticos, demográficos, sociais, ambientais e de saúde sobre os biomarcadores de desbalanço redox. No terceiro artigo, analisou-se os efeitos da exposição ao PM_{2,5} e seus componentes químicos na atividade enzimática da glutathione S-transferase (GST), concentrações séricas de tiol e malondialdeído (MDA). Os resultados da revisão sistemática mostraram que a poluição do ar está associada com diversos mecanismos, tais como inflamação das vias aéreas, inflamação sistêmica e neuroinflamação, disfunção endotelial, coagulação, aterosclerose, alteração do sistema nervoso autônomo, danos de DNA e desbalanço redox. Em relação aos biomarcadores de desbalanço redox, os resultados do segundo estudo mostraram que os a exposição ambiental ao PM_{2,5} e o consumo de peixe (variável proxy de exposição ao metilmercúrio) foram associados positivamente com a atividade enzimática da GST e com as concentrações séricas de MDA. Uma relação inversa foi encontrada entre estes fatores e as concentrações séricas de tiol. No terceiro estudo, os resultados sugeriram que a exposição ao PM_{2,5} reduzem as concentrações de antioxidantes e aumentam a atividade da GST e as concentrações séricas de MDA no grupo populacional estudado. No entanto, esses efeitos podem ser influenciados pela composição química do PM_{2,5}, sobretudo pelos metais. Portanto, os resultados desse estudo corroboram para a hipótese de que a exposição ambiental a poluentes atmosféricos pode provocar desbalanço redox em crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira.

Palavras-chaves: exposição ao PM_{2,5}, estresse oxidativo, glutathione S-transferase, malondialdeído, tiol, Amazônia Brasileira.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Beatriz Fátima Alves de. **Air pollution and its effects on children's health: A study on oxidative stress biomarkers in children and adolescents in the Brazilian Amazon.** 2015. Tese [Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente] – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

This study aimed to analyze the effects of particulate matter fine (PM_{2.5}) exposure in the biomarkers of redox imbalance in children and adolescents (5 to 17 years of old) residents in the Occidental Brazilian Amazon during the dry season of 2012. This dissertation consists of three papers: a systematic review and two descriptive design studies. In the first paper, we carried out a review systematic to discuss the scope of the research published about effect and exposure biomarkers and air pollution between 2009 to 2012. In the second one, we realized a descriptive design study to evaluate the effects of genetic, demographic, social, environmental and health factors on biomarkers of redox imbalance. In the third paper, we analyzed the effects of to PM_{2.5} exposure and its chemical compounds on the enzymatic glutathione S-transferase activity and in the levels of thiol and malondialdehyde (MDA). The results of systematic review suggest that air pollutants are associated with several physiological mechanisms including airway inflammation, neuroinflammation, ocular, metabolic, early endothelial dysfunction, coagulation, atherosclerosis, autonomic nervous system, DNA damage, and redox imbalance. In relation to redox imbalance biomarkers, the results of the second study showed that both the environmental exposure to PM_{2.5} and the fish consumption (variable proxy of exposure to methylmercury) were positively associated with the enzymatic activity of GST and MDA levels. In addition, in the third study, the findings suggest that exposure to PM_{2.5} reduce the antioxidants concentrations and increase the activity of GST and serum concentrations of MDA in the population of study. Therefore, the results of this study corroborate the hypothesis that environmental exposure to air pollutants can cause redox imbalance in children and adolescents living in the western Brazilian Amazon.

Key-words: PM_{2.5} exposure, oxidative stress, glutathione S transferase, malondialdehyde, thiol, Brazilian Amazon.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DAS PRINCIPAIS SIGLAS E ABREVIATURAS.....	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Contextualização do problema: desenvolvimento econômico na Amazônia Brasileira..	17
2.2 Poluição atmosférica na Amazônia Brasileira: as queimadas e seus efeitos na saúde	18
2.3 Uso de biomarcadores em estudos de poluição do ar: definição e potencialidades	23
2.4 Mecanismo de atuação dos poluentes: biomarcadores de desbalanço redox.....	25
2.5 Interação gene-ambiente: polimorfismos da enzima glutationa S-transferase (GST)	30
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral.....	33
3.2 Objetivos Específicos.....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Abordagens experimentais	34
4.2 Local de estudo.....	34
4.3 População de estudo	35
4.4 Desenho de estudo.....	36
4.4.1 Abordagem I – Estudo de revisão sistemática	36
4.4.2 Abordagem II – estudos observacionais do tipo transversal.....	37
4.4.3 Coleta de sangue e análise dos parâmetros sanguíneos	39
4.3.2.1. Coleta de sangue e dosagem dos biomarcadores	39
4.4.4 Dados ambientais.....	41
4.4.5 Exposição ambiental ao mercúrio.....	42
4.4.6 Polimorfismos nas enzimas GSTs	43
4.4.7 Avaliação das características socioeconômicas e demográficas.....	43
4.4.8 Avaliação Antropométrica.....	44
4.4.9 Avaliação de asma	44
4.4.10 Exame de espirometria.....	45
4.5 Aspectos éticos.....	45
5. RESULTADOS.....	46
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	211
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	212
8. ANEXOS	251

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Área geográfica da Amazônia Legal.....	17
Figura 2. Área desmatada em km ² na Amazônia brasileira (1988 – 2014).....	19
Figura 3. Focos de calor segundo bioma (2002 – 2014).....	20
Figura 4. Frota veicular em Porto Velho (2005 – 2014).....	20
Figura 5. Representação gráfica da classificação dos biomarcadores em poluição do ar.....	25
Figura 6. Representação gráfica do balanço redox.....	26
Figura 7. Potenciais mecanismos de atuação das partículas de PM sobre o sistema respiratório e cardiovascular envolvendo o desbalanço redox.....	28

MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 8. Localização geográfica das comunidades ribeirinhas e área urbana de Porto Velho.....	36
---	----

ARTIGO I

Figura 1. Flow diagram of the systematic review.....	114
Figure 2. Geographical representation of the population studied.....	115
Figure 3. Representation of Rosella et al.'s (2009) study.....	115

ARTIGO II

Figura 1. Representação gráfica do modelo teórico-explicativo.....	175
Figure 2. Coeficiente de regressão linear múltipla dos grupos de exposição ao PM _{2,5} , segundo as concentrações séricas de tiol (A), atividade da GST (B) e malondialdeído (C).....	176

ARTIGO III

Figura 1.	Localização geográfica de Porto Velho (RO)	205
Figure 2.	Varição absoluta nas concentrações séricas de biomarcadores de desbalanço redox para variação de 10 µg/m ³ de PM _{2,5} . Porto Velho – 2012	206
Figure 3.	Varição absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutatona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m ³ de <i>black carbon</i> e enxofre. Porto Velho – 2012.....	207
Figure 4.	Varição absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutatona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m ³ de potássio e alumínio. Porto Velho – 2012.....	208
Figure 5.	Varição absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutatona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m ³ de zinco e chumbo. Porto Velho – 2012.....	209
Figure 6.	Varição absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutatona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m ³ ferro e titânio. Porto Velho – 2012.....	210

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1. Principais espécies reativas ao oxigênio.....	27
Tabela 2. Mecanismos das principais substâncias antioxidantes, segundo sua atuação.....	29
Tabela 3. Tabela com os principais biomarcadores de desbalanço redox.....	30

ARTIGO I

Table 1. Biomarkers of Exposure: Validation Summary.....	116
Table 2. Long-term exposure: Results of Immune Profile	118
Table 3. Long-term exposure: Results of Oxidative Stress and DNA Damage.....	122
Table S1. Summary of studies.....	125
Table S2. Representation of 16 articles which utilized Biomarkers of Exposure as Surrogates.....	130
Table S3. Acute Exposure: Results - airways inflammation.....	131
Table S4. Acute Exposure: Results - endothelial dysfunction, insulin resistance, ocular and neuroinflammation.....	132
Table S5. Acute Exposure: Results – coagulation.....	133
Table S6. Acute Exposure: Results - atherosclerosis and cardiovascular risk.....	134
Table S7. Acute Exposure: Results - autonomic nervous system.....	134
Table S8. Acute Exposure: Results – inflammation.....	135
Table S9. Acute Exposure: Results - cells and immunity.....	136
Table S10. Acute Exposure: Results - oxidative stress.....	137

ARTIGO II

Tabela 1. Descrição das concentrações séricas de tiol.....	170
Tabela 2. Descrição da atividade enzimática da glutathione S-transferase.....	171
Tabela 3. Descrição das concentrações séricas de malondialdeído.....	172
Tabela 4. Correlação de Pearson da concentrações séricas de tiol, atividade da	

GST e malondialdeído com as variáveis contínuas.....	173
Tabela 5. Modelo de regressão linear múltipla. Porto Velho, Rondônia (2012).....	174

ARTIGO III

Tabela 1. Análise descritiva da população e das variáveis em estudo.....	204
---	-----

LISTA DAS PRINCIPAIS SIGLAS E ABREVIATURAS

8-OHdG – 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina
8-oxodG – 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina
AFG – Amostrador de partículas finas e grossas
AOD – Profundidade óptica dos aerossóis
BC – Black carbon
Ca – Cálcio
CAT – Catalase
Cl – Cloro
CPTEC – Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos
ERN – Espécies reativas ao nitrogênio
ERO – Espécies reativas a oxigênio
Fe – Ferro
GPx – Glutathione Peroxidase
GSH – Glutathione reduzida
GSSG – Glutathione oxidada
GST – Glutathione S-transferase
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
HPA – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IgE – Imunoglobulina E
INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
K – Potássio
MDA – Malondialdeído
O₂⁻ – Superóxido
OC – Carbono orgânico
OH⁻ – Radical hidroxila
PM – Material particulado material particulado
PM₁₀ – Partículas com diâmetro aerodinâmico menor que 10 µm
PM_{2,5} – Partículas com diâmetro aerodinâmico menor que 5 µm
S – Enxofre
SOD – Superóxido Dimutase
TBARS – *Thiobarbituric reactive acid substances*
VOCs – Compostos orgânicos voláteis
Zn – Zinco

1. INTRODUÇÃO

A poluição do ar é a emissão de partículas, gases, moléculas biológicas ou outros materiais nocivos na atmosfera da Terra e constitui-se em um dos fatores ambientais com maior impacto sobre a saúde e a qualidade de vida humana. Em 2014, segundo as estimativas globais da Organização Mundial da Saúde (OMS), a mortalidade atribuída a poluição atmosférica dobrou em relação às estimativas de 2012, com a morte de aproximadamente de 7 milhões de pessoas. Com isso, a poluição do ar passou a ser considerada o principal fator de risco ambiental à saúde humana no mundo (WHO, 2014).

As primeiras evidências entre os efeitos da poluição do ar surgiram na exposição ocupacional de mineradores no ano de 1500 (PARACELTUS, 1567; AGRICOLA, 1556), mas somente ganharam destaque como problema de saúde pública depois dos episódios de fumaça que atingiram Meuse Valley na Bélgica (1930) (FIRKET, 1936), Donora na Pensilvânia (1948) e Londres (1952) (LONDRES MINISTRY OF HEALTH, 1954). Atualmente, a exposição à poluição do ar vem sendo fortemente associada às doenças cardiovasculares, como acidente vascular cerebral e doença isquêmica do coração, ao câncer e ao desenvolvimento de doenças respiratórias, incluindo as infecções respiratórias agudas e as doenças pulmonares obstrutivas crônicas (WHO, 2014).

Inúmeros estudos mostraram a relação entre a poluição do ar e os efeitos na saúde e esse é um assunto complexo e multidisciplinar que incorpora áreas da química atmosférica, toxicologia, genética, modelagem estatística, biologia molecular e celular, saúde pública e medicina. Por muito tempo, as pesquisas concentraram-se em estabelecer a relação entre poluição do ar e seus efeitos na saúde e, nos últimos 15 anos, os esforços focaram-se em entender e a decifrar os mecanismos pelos quais esses poluentes atuam no organismo. Essa evolução nos estudos em poluição do ar ganhou reforço com os avanços da biologia celular e molecular e, dentro dessa área, diversos biomarcadores foram empregados na mensuração da

própria exposição (próprio poluente ou seu metabólito), dos efeitos (mecanismos) ou suscetibilidade. Entre os biomarcadores de efeito, destacam-se aqueles envolvidos e identificados em processos inflamatórios (sistêmicos, respiratórios e neurológicos), disfunção endotelial, alterações na coagulação e sistema nervoso autônomo, aqueles indicativos de danos de DNA e de estresse oxidativo (OLIVEIRA et al., 2014a).

O estresse oxidativo, também denominado desbalanço redox, é um dos mecanismos de atuação mais conhecidos e estudados para explicar os efeitos da poluição atmosférica (FAHMY; CORMIER, 2009; BALAKRISHNA et al., 2009; MAZZOLI-ROCHA et al., 2010; MOLLER et al., 2010; FAHMY et al., 2010; WANG et al., 2011). É um processo biológico resultante do desequilíbrio entre a capacidade do corpo em neutralizar radicais livres e/ou espécies reativas tais como o superóxido ($O_2^{\bullet -}$), o radical hidroxila (HO^{\bullet}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os poluentes, especialmente o material particulado (PM), podem induzir diretamente a produção de espécies reativas através da presença de compostos orgânicos e dos metais de transição em sua composição química ou indiretamente por meio dos processos inflamatórios decorrentes da inalação de partículas (DELLINGER et al., 2001; VALAVANIDIS et al., 2008).

Diversos biomarcadores que mensuram o desbalanço redox foram relacionados com a poluição atmosférica, entre os quais destacam-se aqueles relacionados com a atividade da defesa antioxidante enzimática (superóxido dismutase [SOD], catalase [CAT] e glutathione peroxidase [GPx]) ou não enzimática (glutathione reduzida [GSH], vitaminas e α -tocoferol); e marcadores de danos oxidativos a lipídios (malondialdeído, 8-isoprostano), proteínas (proteína carbonilada) e ao DNA (8-hidroxi-2'-desoxiguanosina [8-OHdG] e 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina [8-oxodG]) (SVECOVA et al., 2009; ALLEN et al., 2009; KELISHADI et al., 2009; KIM et al., 2009; LIU et al. 2009a; 2009b; LEE et al., 2010; REN et al., 2010, 2011; BAE et al., 2010; WILHELM FILHO et al., 2010; POSSAMAI et al., 2010;

BAGRYANTSEVA et al., 2010; RAULF-HEIMSOTH et al., 2010; ROSSNER et al., 2011; AL ZABADI et al., 2011; STOCKFELT et al., 2012; HUANG et al., 2012a, 2012b; PATEL et al., 2013).

Além dos avanços quanto ao uso de biomarcadores desbalanço redox para avaliar os efeitos da poluição atmosférica, diversos estudos têm avaliado as interações entre polimorfismos genéticos e efeitos da poluição na saúde humana (GILLILAND et al., 2004, SCHNEIDER et al., 2004; MINELLI et al., 2011). Os polimorfismos na enzima glutathione S-transferase (GST) – família de enzimas que atuam na detoxificação de poluentes – foram os mais estudados na área de poluição atmosférica. A presença desses polimorfismos pode reduzir a capacidade do organismo em biotransformar e eliminar agentes xenobióticos como os poluentes atmosféricos e, conseqüentemente, aumentar a suscetibilidade dos indivíduos aos efeitos dessa exposição (SACKS et al., 2011).

O desbalanço redox foi descrito em diversos mecanismos fisiopatológicos, inclusive de doenças reconhecidamente associadas à poluição atmosférica e o estudo de seus biomarcadores em crianças tem se mostrado promissor. Se por um lado, as crianças são mais sensíveis ao desbalanço redox e também aos efeitos da poluição atmosférica, por outro lado, o seu sistema imunológico em desenvolvimento favorece o ajustamento fisiológico do organismo frente a esta exposição (OLIVEIRA et al., 2014a). Neste contexto, o estudo de biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes ambientalmente expostas à poluição do ar pode contribuir para um melhor entendimento dos caminhos e mecanismos fisiopatológicos de atuação desses poluentes nesse grupo etário.

No Brasil, os processos de desenvolvimento econômico, caracterizado pelo crescimento acelerado de áreas urbanas e uso de recursos naturais, têm contribuído para a deterioração da qualidade do ar em diversas regiões do país, especialmente na Amazônia. Nessa região, durante o período de estiagem, a queima de biomassa, juntamente com aumento

da frota de veículos, são as principais fontes de emissão de poluentes na atmosfera. Em média, as queimadas contribuem com a emissão de um total de 60% de material particulado (HACON et al., 1995; INPE, 2013). Durante o período da seca, quando a queima de biomassa é mais intensa, os níveis de $PM_{2,5}$ chegam a registrar picos de 350 a 450 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ARTAXO, 2010). A influência do ciclo sazonal nas concentrações de poluentes na Amazônia é evidente, principalmente durante eventos extremos, como a seca de 2005 e de 2010. Durante a seca de 2010, as concentrações de $PM_{2,5}$ atingiram valores máximos diários de 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ no município de Porto Velho, Rondônia. No período deste estudo (julho e agosto 2012), as concentrações médias diárias atingiram o valores de 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ que corresponde a 2 vezes os valores de referência para saúde humana estabelecidos pela OMS (WHO, 2005).

Apesar de diversos estudos epidemiológicos conduzidos nessa região relatarem os impactos dessa exposição na saúde, especialmente de grupos vulneráveis como crianças e idosos (IGNOTTI et al., 2010a; 2010b; CARMO et al., 2010; JACOBSON et al., 2012; 2014), foram poucos aqueles que investigaram os mecanismos de atuação desses poluentes (SISENANDO et al., 2011; OLIVEIRA ALVES et al., 2011; 2014). Em razão disto, esse estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao material particulado fino ($PM_{2,5}$) nos biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes de 5 a 17 anos residentes na Amazônia Ocidental Brasileira durante a seca de 2012.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Contextualização do problema: desenvolvimento econômico na Amazônia Brasileira

Com sua enorme extensão territorial e com uma largura leste-oeste de 5.016.136,3 km², a Amazônia Legal ocupa aproximadamente 60% do território brasileiro. É composta por oito estados (Acre, Amazonas, Pará, Roraima, Amapá, Rondônia, Mato Grosso e Tocantins) e parte do estado do Maranhão, os quais totalizam cerca de vinte e quatro milhões de habitantes com um perfil progressivamente urbano (cerca de 70% da população da Amazônia legal) (IBGE, 2010).

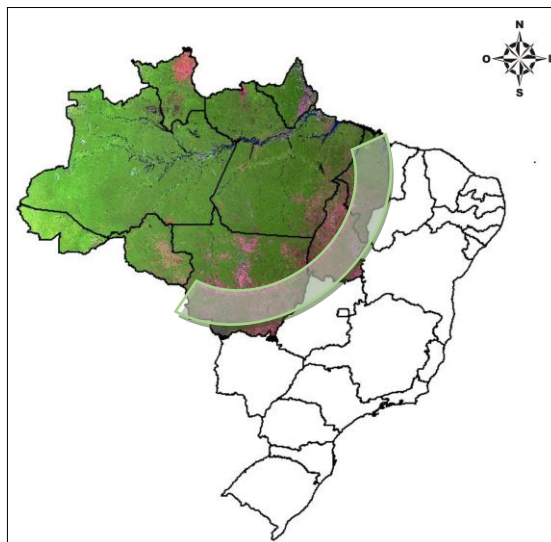


Figura 1. Área geográfica da Amazônia Legal.

Ao longo das últimas décadas, essa região foi sendo ocupada extensivamente impulsionada pelo discurso de integração nacional e internacional e do crescimento econômico (FEARNSIDE, 2005).

Os incentivos fiscais, políticos e econômicos para integração dessa região resultaram no aumento do fluxo imigratório, desmatamento, uso do solo desordenado e, conseqüentemente problemas ambientais, sociais e de saúde. O fluxo imigratório iniciou-se na metade do século XIX (OCHOA; TEIXEIRA, 2006), intensificou-se na década de 1970 com o discurso incentivador do governo militar e vem se consolidando nos últimos anos com atividades de exploração madeireira, pecuária, agricultura, abertura de estradas, pavimentação e grandes projetos de produção e geração de energia (FEARNSIDE, 2005). O caminho da ocupação e movimento populacional em direção a Amazônia brasileira é denominado “Arco do desmatamento” (Figura 1).

Entre as atividades de desenvolvimento extensivo da Amazônia, a construção de hidrelétricas em território amazônico tem se destacado como o mais recente investimento do

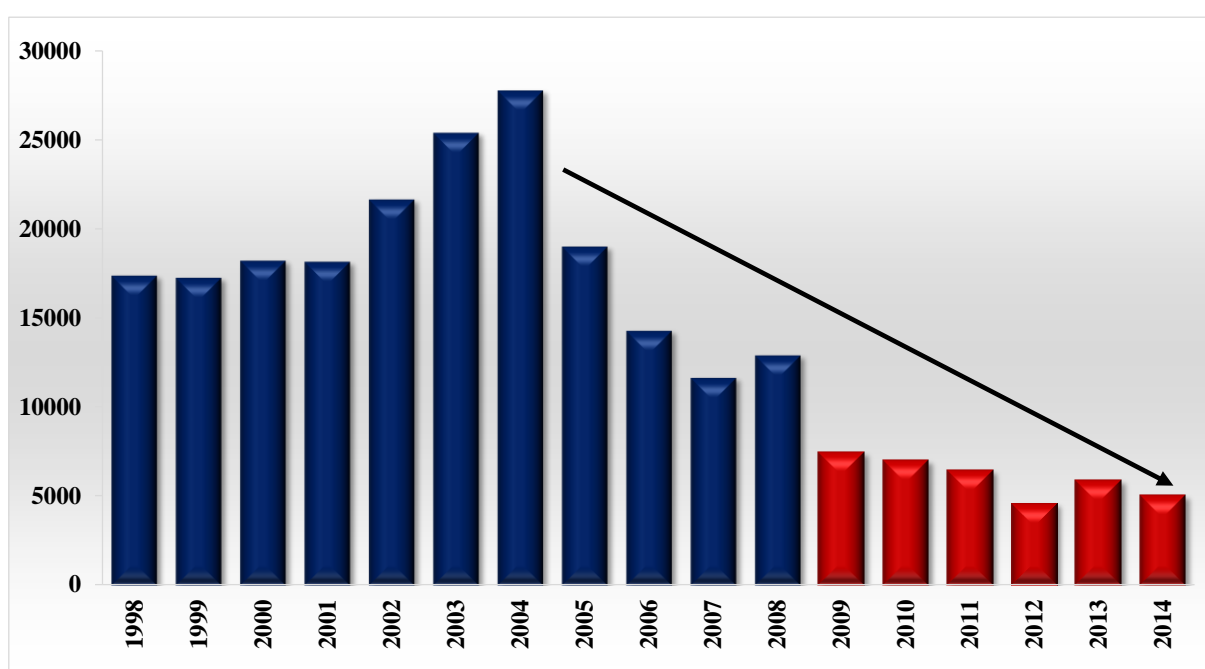
governo. Ao lado do discurso empreendedor do governo brasileiro, observa-se um aumento de cinturões de pobreza em torno desses empreendimentos que se mostraram incapazes de absorver a mão de obra nativa e, principalmente, daqueles que migraram para estas regiões atraídos pela oferta de emprego (FENILI, LOCH, 2010). Portanto, uma vez instalados, esses empreendimentos apresentam-se como potenciais fontes geradoras de pressões socioambientais capazes de alterar as condições de saúde e ambientais locais (TORRENTE-VILARA et al., 2011; MARQUES et al., 2011).

Diversas mudanças decorrentes de instalações de hidrelétricas foram observadas, entre as quais destacam-se: modificações de paisagem, tanto pelas instalações das usinas e das represas, como pelas linhas de transmissão de energia; manejo inadequado dos resíduos sólidos e líquidos; alterações em parâmetros físicos, químicos e biológicos das águas; redução da vazão do rio e; aumento do desmatamento (FEARNSIDE, 2006; FENILLI; LOCH, 2010; FERREIRA et al., 2011). Somam-se a esses impactos ambientais a geração de expectativas locais, alteração do cotidiano da população, mudanças em indicadores demográficos, intensificação do tráfego, mudanças no perfil epidemiológico de morbidades, perda de terras, interferência nas atividades turísticas locais e oferta de empregos temporários que culminam na falsa ideia de geração e/ou aumento da renda (FENILI; LOCH, 2010; ROSCOCHE, VALLERIUS, 2014).

2.2 Poluição atmosférica na Amazônia Brasileira: as queimadas e seus efeitos na saúde

O desmatamento é o principal problema ambiental enfrentado com o modelo de ocupação e desenvolvimento extensivo da região Amazônica e sua relação com o uso do fogo pode elevar ainda mais o custo ambiental das perdas florestais (COCHRANE et al., 1999; NEPSTAD et al., 1999), particularmente na estação seca (LEAN et al., 1996). As Figuras 2 e 3 mostram que nos últimos anos, a redução do desmatamento esteve associada com redução

do número de focos de calor. Apesar disso, alguns estudos demonstraram que mesmo com a redução do desmatamento, a emissão de poluentes pode permanecer em determinadas áreas por meio do aumento de plantações de cana-de-açúcar devido ao incentivo à produção de biocombustíveis (TSAO et al., 2012), a substituição de áreas de floresta por pastagem que normalmente usam o fogo para sua manutenção (TSAO et al., 2012; CARDOZO et al., 2014) e pela crescente frota de veículos observada em algumas localidades como em Porto Velho, Rondônia (Figura 4)

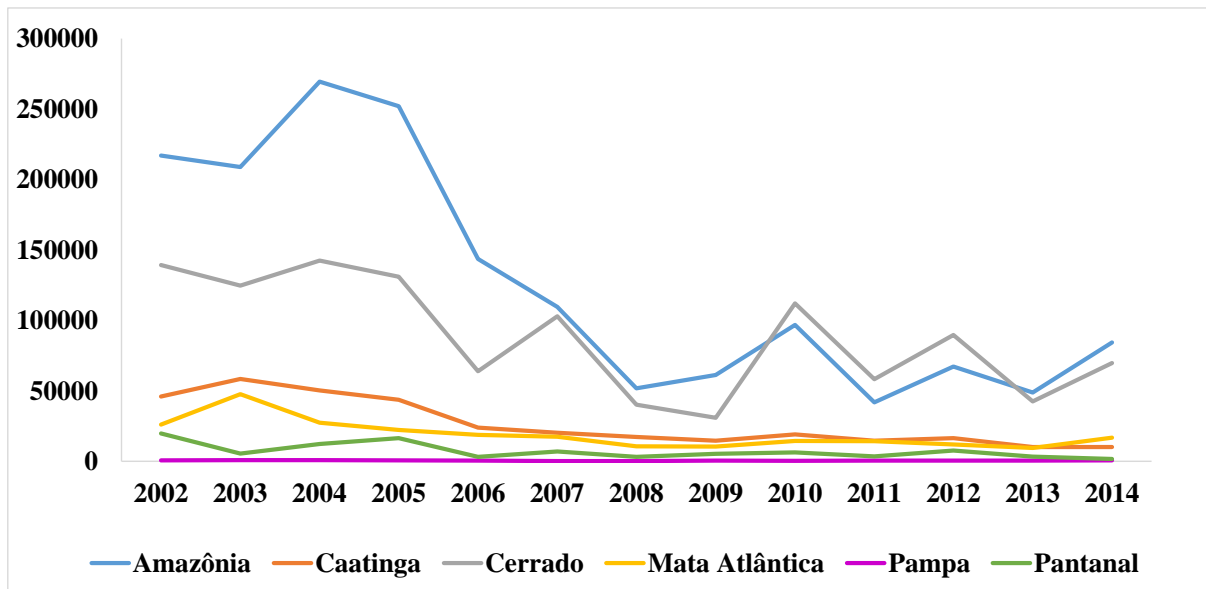


Fonte: Inpe, 2015

Figura 2. Área desmatada em km² na Amazônia brasileira (1988– 2014).

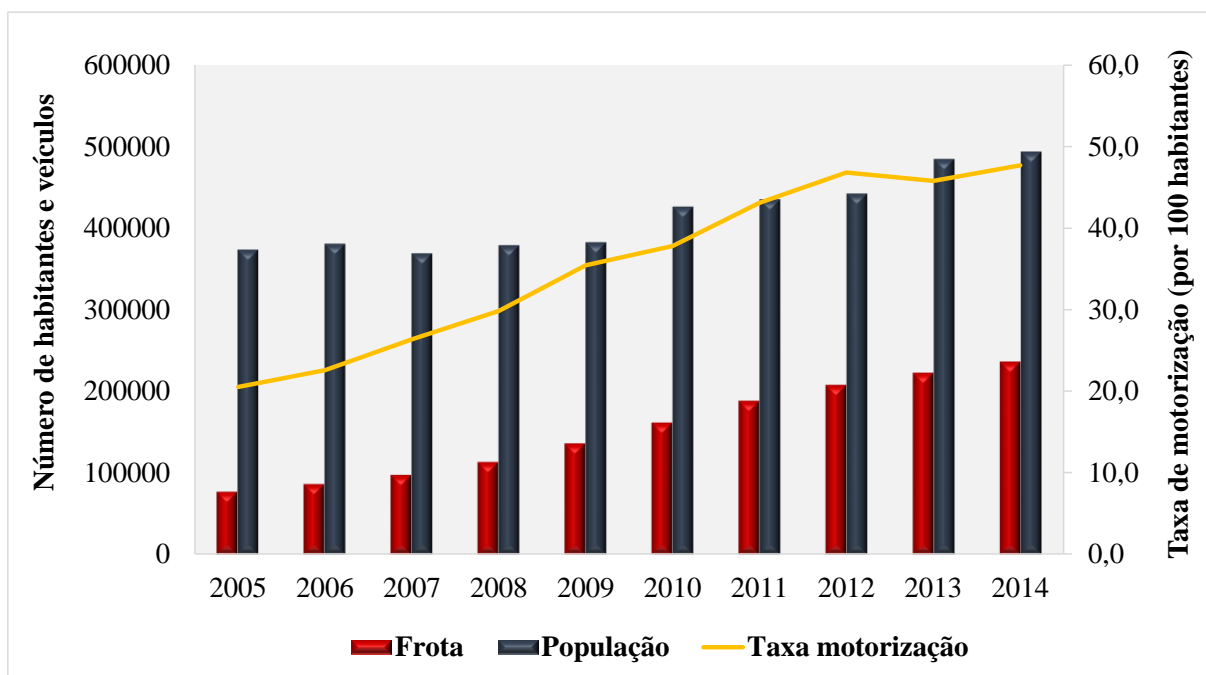
O fogo é frequentemente usado como instrumento para o preparo do solo na região Amazônica frente a diversos fatores como a baixa oferta de mão de obra, a baixa rentabilidade agrícola, a inexistência de alternativas economicamente viáveis e a baixa qualidade do solo (HOMMA et al., 1993; NEPSTAD et al., 2001). Assim, o fogo é considerado um método barato usado na preparação do terreno para a plantação de culturas e a manutenção de pastagens, sobretudo em pequenas e médias propriedades. No entanto, em determinadas

situações, o fogo acarreta enormes prejuízos ao escapar do controle, como o incêndio ocorrido no Estado de Roraima durante o fenômeno El Niño em 1997-1998 (COCHRANE, 2003).



Fonte: Inpe, 2015

Figura 3. Focos de calor segundo bioma (2002 – 2014).



Fonte: DENATRAN, 2015

Figura 4. Frota veicular em Porto Velho, Rondônia (2002 – 2014).

A queima de biomassa representa uma das principais ameaças à biodiversidade da floresta da Amazônia e, além da perda da integridade biológica da floresta, causa também efeitos negativos à saúde humana. Em períodos de seca, as queimadas na Amazônia produzem

grandes quantidades de fumaça, fecham aeroportos e aumentam os atendimentos de emergência por doenças respiratórias (MASCARENHAS et al., 2008, SMITH et al., 2014). Uma das razões desses impactos constitui-se na liberação de grandes quantidades de poluentes atmosféricos que contribui para o efeito estufa e, conseqüentemente, para o aquecimento global (ARTAXO et al, 2005; DAVIDSON et al., 2012).

Dentre os poluentes liberados pela queima de biomassa, destaca-se o material particulado (PM) – uma mistura complexa e heterogênea de partículas sólidas e líquidas – que difere entre si por suas propriedades físicas, químicas e toxicológicas. Quanto ao tamanho do diâmetro das partículas, o material particulado é constituído pela fração grossa (PM₁₀ – diâmetro menor que 10 µm), frações finas (PM_{2,5} – diâmetro menor que 2,5 µm) e partículas ultrafinas (diâmetro menor que 1 µm). As frações ultrafinas são consideradas respiráveis, porque podem depositar-se em áreas onde ocorrem as trocas gasosas e podem ser absorvidas, apresentando maior potencial de risco para a saúde humana (U.S EPA, 2004).

Na Floresta Amazônica, estudos sobre a composição elementar do PM_{2,5} têm demonstrado que durante a estação da seca, essas partículas são formadas majoritariamente por *Black Carbon* (BC), sulfato, nitrato e metais (HACON et al.,1995, ARTAXO et al., 2002; MAENHAUT et al., 2002). O BC consiste em fuligem proveniente da combustão incompleta e está associado a conhecidos elementos traços de emissões de queimadas como enxofre (S), potássio (K), cloro (Cl), cálcio (Ca) e zinco (Zn) (ARTAXO et al., 1998).

O BC apresenta microestrutura “grafítica” que corresponde termodinamicamente a forma mais estável do carbono elementar puro, conforme mostrado por Andreae e Gelencsér (2006). Este elemento contém carbono na forma de um núcleo sólido com capacidade de absorver radiação, característica essa que o torna responsável pela redução da visibilidade atribuída ao PM (MASIELLO, 2004; ANDREAE, GELENCSEÉR, 2006). Além disso, esse

poluente possui a capacidade de adsorver elementos orgânicos, diferentemente do carbono orgânico (OC) que adsorve todos os tipos de compostos (orgânicos e inorgânicos).

Apesar dos compostos orgânicos predominarem entre 70 a 92% da fração fina do PM emitido em queima de biomassa, os elementos inorgânicos constituem-se em outros componentes importantes do ponto de vista toxicológico (YAMOSAE et al., 2000). Sarnat et al. (2008), por exemplo, demonstraram que as concentrações de sulfato (SO_4^{-2}) estão associadas positivamente em desfechos na saúde humana. Em um estudo quase experimental realizado durante os Jogos Olímpicos de Pequim (2008), Huang et al. (2012b) mostraram tendências similares, com uma relação positiva entre biomarcadores de inflamação das vias aéreas e aumento das concentrações de SO_4^{-2} , $\text{PM}_{2,5}$ e Carbono elementar (EC).

Em sua composição, a presença de compostos orgânicos como quinonas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e dos metais de transição pode promover a formação de espécies reativas, especialmente as espécies reativas a oxigênio (ERO's) (GHIO et al., 1999; 2012; LI et al., 2003). Com potencial redox, os íons de metais de transição (adsorvidos em altas concentrações das partículas de PM) podem produzir excessivamente EROs que causam danos oxidativos a macromoléculas biológicas. Os íons de metais presentes no PM foram associados com danos oxidativos às células epiteliais das vias respiratórias (GHIO et al., 1999; KNAAPEN et al., 2002; SCHAUMANN et al., 2004) e outros desfechos clínicos em grupos como crianças e adolescentes (BAE et al., 2010).

Embora, as propriedades físicas e químicas dos poluentes estejam intimamente relacionadas aos efeitos na saúde, outros fatores devem ser considerados, entre os quais destacam-se: sexo, idade (crianças e idosos são considerados mais vulneráveis), obesidade, diabetes, doença cardiovascular, asmáticos, fatores genéticos como polimorfismos e uso de medicações (SACKS et al., 2011).

2.3 Uso de biomarcadores em estudos de poluição do ar: definição e potencialidades

A relação entre poluição do ar e saúde humana foi apontada por diversos estudos internacionais (POPE; DOCKERY, 2006; SARNAT et al., 2008; BROOK et al., 2010, DELFINO et al., 2009; 2010) e nacionais (FARHAT et al., 2005; GOUVEIA et al., 2006; IGNOTTI et al., 2010a; CARMO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012). Esses estudos avaliaram particularmente desfechos como o aumento da mortalidade, as internações e os atendimentos de emergência a crianças e idosos (OLIVEIRA et al., 2011). Nos últimos 10 anos, as pesquisas se concentraram em desvendar os principais mecanismos de atuação das partículas, entre os quais predominaram aqueles relacionados a indução do processo de inflamação, estimulação de receptores, alteração da atividade do sistema nervoso central e autônomo, efeitos pró-coagulantes e produção ERO's (BROOK et al., 2010; CALDERÓN-GARCIDUENAS et al., 2013; WEICHENTHAL et al., 2013).

Com os avanços na biologia celular e molecular, os estudos em biomarcadores vêm sendo usados não apenas com intuito de monitorar populações expostas à poluição do ar, mas também como marcadores específicos de atuação dos poluentes em determinados processos fisiológicos, sobretudo no sistema imunológico. Contudo, capturar esses efeitos possui dificuldades inerentes à própria exposição como, por exemplo, distinguir os efeitos de outras exposições ambientais (por exemplo, tabaco e metais) e também de fatores relacionados ao estilo de vida, obesidade, resistência à insulina, idade e sexo. Assim, mais do que uma simples inclusão, o grande desafio é entender como esses fatores atuam sinergicamente nos biomarcadores e como ajustar seus efeitos em estudos de poluição do ar.

Os biomarcadores são definidos como qualquer parâmetro biológico mensurável usado para monitorar a presença de um produto químico no corpo, processos e/ou respostas biológicas normais ou patológicas e efeitos adversos a saúde (STRIMBU; TAVEL, 2010). As

categorias de biomarcadores foram descritas abaixo e sua representação gráfica pode ser visualizada na Figura 5 :

- ✓ **Biomarcadores de exposição** – são usados para monitorar 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 (AMORIM, 2003). Dessa forma, esses biomarcadores estimam a dose interna por meio da determinação da substância química ou de seu produto de biotransformação (metabólitos) em fluídos biológicos, como sangue, urina, ar exalado e outros, possibilitando quantificação da substância no organismo (LAUWERYS, 1993). Na poluição atmosférica, os principais biomarcadores de exposição estudados foram aqueles associados a exposição aos HPAs e aos compostos orgânicos voláteis (VOCs) como benzeno e tolueno (OLIVEIRA et al., 2014a).
- ✓ **Biomarcadores de efeito** – são parâmetros biológicos que refletem um processo, ou resposta ou função biológica, associados ou não a uma exposição ambiental. No campo de saúde ambiental, esses biomarcadores podem ser usados para documentar as alterações pré-clínicas ou efeitos adversos à saúde decorrentes da exposição e absorção da substância química. Assim, a ligação dos biomarcadores entre exposição e efeito contribui para a definição da relação dose-resposta (AMORIM, 2003). A poluição do ar foi associada com diversos biomarcadores de efeito, tais como aqueles envolvidos no processo de inflamação das vias aéreas, inflamação sistêmica e neuroinflamação, disfunção endotelial, coagulação, aterosclerose, alterações no sistema nervoso autônomo, indicativos de danos de DNA e de desbalanço redox (OLIVEIRA et al., 2014a).
- ✓ **Biomarcadores de suscetibilidade** – são biomarcadores usados para identificar grupo de indivíduos mais sensíveis à exposição ou aos efeitos dos poluentes. Desta maneira, esses biomarcadores permitem elucidar o grau de resposta da exposição provocada nos

indivíduos (AMORIM, 2003). Biomarcadores de suscetibilidade incluem fatores genéticos como polimorfismos, fatores biológicos como estado nutricional, de saúde, estilo de vida e diferentes estágios de vida. Os polimorfismos são comumente avaliados na área de saúde ambiental e podem ser definidos como variações genéticas que aparecem como consequência de alterações ou diferenças nas sequências de bases sem consequências patológicas diretas.

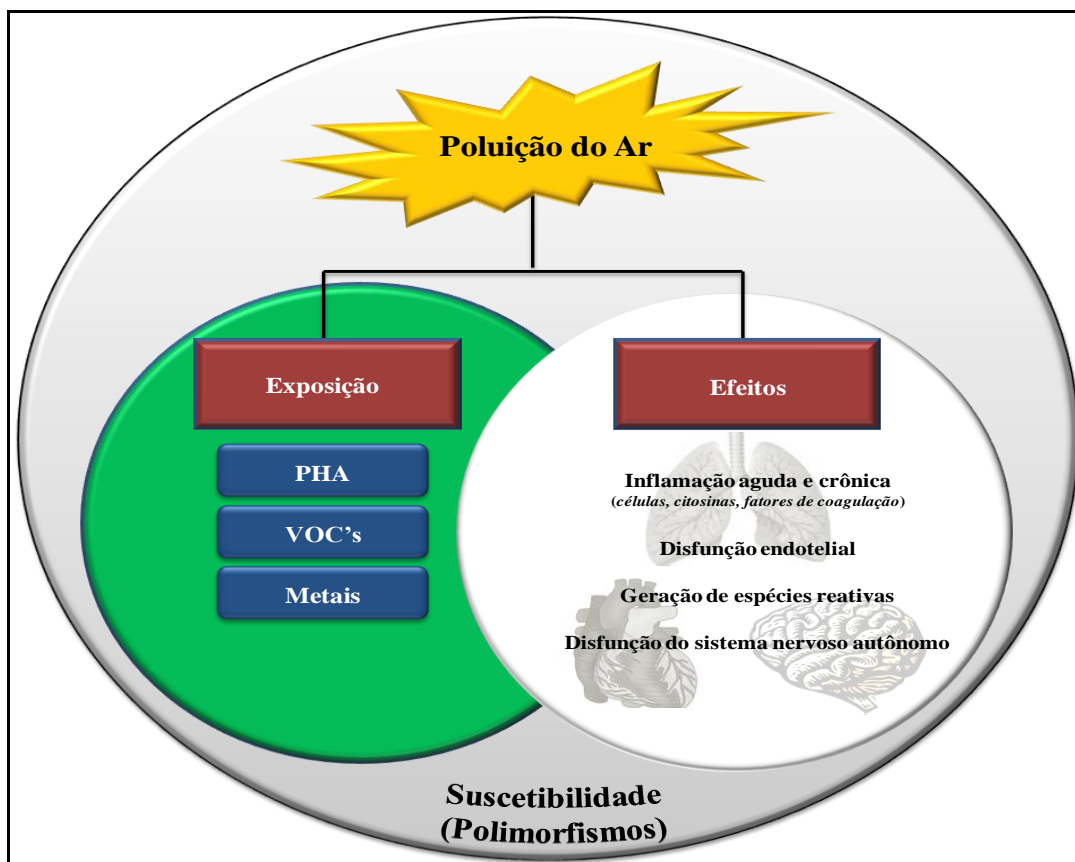


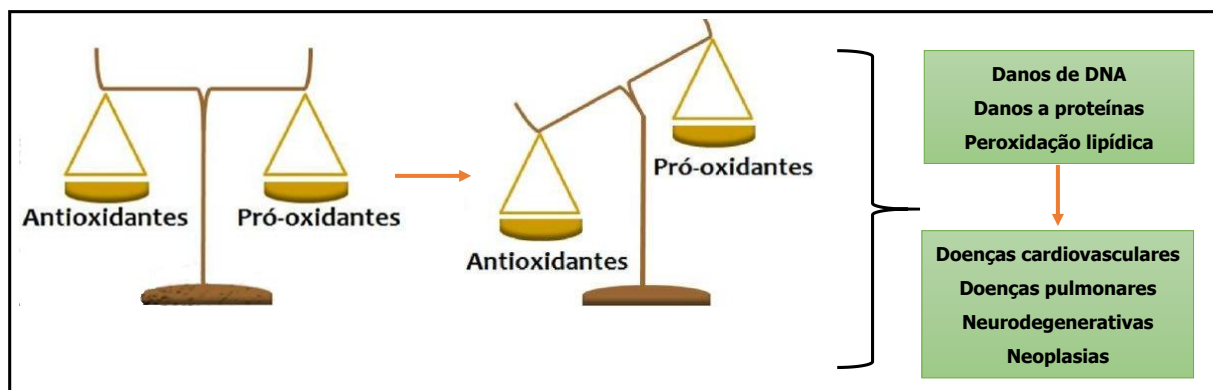
Figura 5. Representação gráfica da classificação dos biomarcadores em poluição do ar.

2.4 Mecanismo de atuação dos poluentes: biomarcadores de desbalanço redox

Em resposta a entrada, deposição e retenção de partículas do PM no sistema respiratório, o organismo inicia um processo fisiológico de defesa com aumento da produção de mediadores inflamatórios na tentativa de desenvolver uma resposta efetora diante desse estímulo, provocando destruição ou inativação deste poluente. Indubitavelmente, a geração

inadequada destas respostas efectoras pode produzir efeitos deletérios para o organismo, provocando reações inflamatórias e dano oxidativo em maior ou menor intensidade. Com isso, o estudo das milhares de células e moléculas distribuídas pelo organismo e envolvidas nesse processo de ajustamento e defesa é importantíssimo para o entendimento dos mecanismos de atuação dos poluentes atmosféricos.

O desbalanço redox constitui-se em um dos mais conhecidos e estudados mecanismos de atuação dos poluentes (FAHMY, CORMIER, 2009; BALAKRISHNA et al., 2009; MAZZOLI-ROCHA et al., 2010; MOLLER et al., 2010; FAHMY et al., 2010; WANG et al., 2011). É resultado de processos biológicos dinâmicos em que se observa um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade do corpo em combatê-las (Figura 6). Essas espécies reativas possuem um elétron desemparelhado centrado nos átomos de oxigênio (ERO – espécies reativas ao oxigênio) ou nitrogênio (ERN – espécies reativas ao nitrogênio) que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas (HALLIWELL et al., 1990; BARBOSA et al., 2010). Os ERO's mais comuns e importantes são o ânion superóxido (O_2^-) que pode ser transformado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH), altamente reativos na presença de ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) e outros elementos traços como compostos orgânicos. A definição e a descrição das principais ERO's podem ser observadas na Figura 6 e na tabela 1, respectivamente.



Fonte: Adaptado de Gomes et al., 2014.

Figura 6. Representação gráfica do balanço redox.

Tabela 1. Principais espécies reativas ao oxigênio.

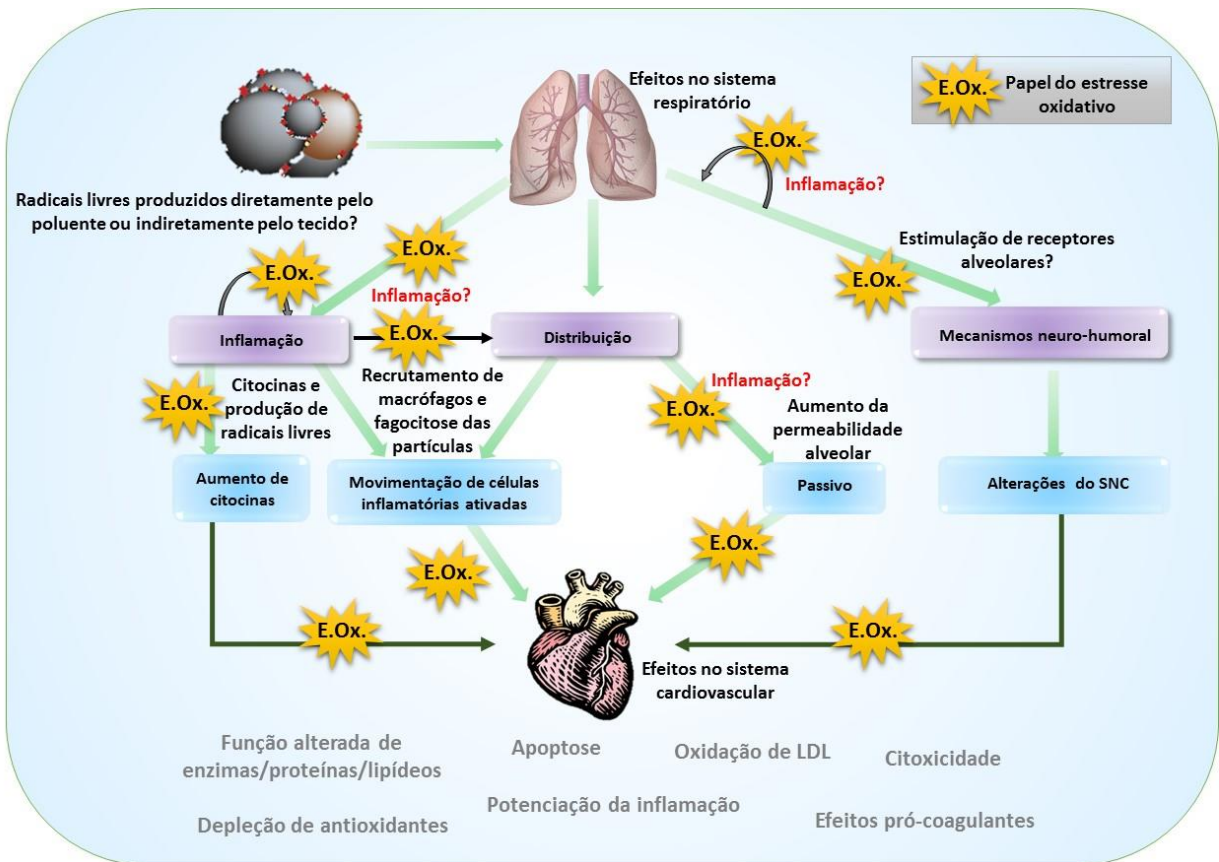
Espécies reativas ao O ₂	Nome	Características
OH ⁻	Radical hidroxila	É a espécie mais reativa em sistemas biológicos e combina-se rapidamente com metais e outros radicais. Pode inativar várias proteínas e ácidos graxos das membranas celulares
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio	Não corresponde a um radical livre, pela ausência de elétrons desemparelhados na última camada, mas corresponde a um metabólito do oxigênio com efeitos deletérios. Pode reagir com membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao Fe ²⁺
O ₂ ⁻	Superóxido de oxigênio	Ocorre em quase todas as células aeróbicas e é produzido durante a ativação de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos

Fonte: Adaptado de Ferreira, Matsubara, 1997.

Os poluentes atmosféricos, especialmente PM, podem induzir diretamente a produção de espécies reativas por meio da presença de compostos orgânicos e metais de transição em sua composição química ou indiretamente por meio dos processos inflamatórios decorrentes da inalação de partículas (DELLINGER et al., 2001; VALAVANIDIS et al., 2008). A plausibilidade dessa relação é tão evidente que o desbalanço redox foi descrito em mecanismos fisiopatológicos de doenças também associadas a poluição do ar como as doenças cardiovasculares (BROOK et al., 2010; MILLER et al., 2012); pulmonares (LIU et al., 2009a), neoplasias (VALAVANIDIS et al., 2013) e doenças neurodegenerativas (MOULTON, YANG, 2012). O papel do desbalanço redox como mecanismo de ação das partículas de PM nos sistemas cardiovascular e pulmonar está apresentado na Figura 7.

Como observado na Figura 6, o desbalanço redox é estabelecido uma vez que o sistema de defesa antioxidante não consegue combater as espécies reativas, seja pela produção excessiva dessas espécies ou pela depleção de agentes antioxidantes. O sistema contra espécies reativas de oxigênio ou sistema antioxidante é dividido em dois tipos principais: componentes não enzimáticos (glutationa, albumina, vitamina A, vitamina C, betacaroteno e

transferrina) e componentes enzimáticos (Glutathione Peroxidase [GPx], Superóxido Dismutase [SOD] e Catalase [CAT]) (Tabela 2). O desequilíbrio entre os processos de pró-oxidação e anti-oxidação produz oxidação dos lipídios de membranas celulares e plasmáticas, proteínas e danos ao DNA, caracterizando o processo de desbalanço redox (ERCAL et al, 2001) (Figura 6).



Fonte: adaptado de Miller, Shaw & Langrish, 2012.

Figura 7. Potenciais mecanismos de atuação das partículas de PM sobre o sistema respiratório e cardiovascular envolvendo o desbalanço redox.

Tabela 2. Mecanismos das principais substâncias antioxidantes, segundo sua atuação

Antioxidantes	Ação
Não-enzimático	
Glutathione	É um antioxidante hidrossolúvel, reconhecido como o tiol não proteico mais importante nos sistemas vivos. Pode ser encontrado na sua forma reduzida (GSH) ou oxidada (GSSH).
Vitamina A	Proteção contra oxidação de lipídeos e DNA
Vitamina C	Estimula o poder oxidante da vitamina E e selênio, protegendo contra danos causados pelo LDL
Vitamina E	Proteção contra oxidação de lipídeos, convertendo O_2^- e H_2O_2 em formas menos reativas
Metais (Cu, Zn, Mn, Se)	Co-fatores de enzimas antioxidantes
Enzimático	
Superóxido Dismutase	Catalisa a conversão do radical superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2)
Catalase	Catalisa a conversão de H_2O_2 em O_2 e H_2O
Glutathione Peroxidase	Catalisa a redução de H_2O_2 a O_2 e H_2O

Fonte: Adaptado de Barbosa et al., 2010.

Há um esforço para validação de biomarcadores de desbalanço redox, pois não existe um consenso sobre os métodos mais precisos e confiáveis, ou específicos para diferentes tipos de danos oxidativos (KADIISKA et al., 2000; 2005). Em geral, o desbalanço redox é avaliado mensurando componentes do sistema antioxidante ou com o produto de danos oxidativos em macromoléculas como proteínas, lipídios e DNA. Na Tabela 3, há uma descrição dos biomarcadores usados para avaliar potenciais danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA assim como os biomarcadores para avaliar a capacidade antioxidante do organismo.

Em relação aos efeitos da poluição atmosférica, diversos biomarcadores foram estudados, entre os quais destacam-se: biomarcadores para avaliar o sistema de defesa antioxidante enzimático (superóxido dismutase [SOD], catalase [CAT] e glutathione peroxidase [GPx]) ou não enzimático (glutathione reduzida [GSH], vitaminas e α -tocoferol) e; marcadores de danos oxidativos a lipídios (malondialdeído, 8-isoprostano), proteínas (proteína carbonilada) e ao DNA (8-hidroxi-2'-desoxiguanosina [8-OHdG] e 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina [8-oxodG]) (SVECOVA et al., 2009; ALLEN et al., 2009;

KELISHADI et al., 2009; KIM et al., 2009; LIU et al 2009a; 2009b; LEE et al., 2010; REN et al., 2010, 2011; BAE et al., 2010; WILHELM FILHO et al., 2010; POSSAMAI et al., 2010; BAGRYANTSEVA et al., 2010; RAULF-HEIMSOTH et al., 2010; ROSSNER et al., 2011; AL ZABADI et al., 2011; STOCKFELT et al., 2012; HUANG et al., 2012a, 2012b; PATEL et al., 2013).

Tabela 3. Tabela com os principais biomarcadores de desbalanço redox.

Biomarcadores	Sub-grupos	Marcadores
Marcadores de dano oxidativo	Peroxidação de lipídios	TBARS – <i>Thiobarbituric reactive acid substances</i> ou <i>Malondialdeído - MDA</i> 8 – isoprostano
	Oxidação de proteínas	Proteína carbonilada e 3 – Nitrotirosina
	Oxidação das bases ou quebra do DNA	8-OHdG (<i>8-hidroxi-2'-desoxiguanosina</i>), 8-oxodG (<i>8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina</i>) e 5-HMdU (<i>5-Hidroxyimetil-2'-Desoxyuridine</i>)
Antioxidante	Sistema Enzimático	Superóxido Dismutase (SOD) Catalase (CAT) Glutationa (GPx)
	Sistema não-enzimático	Vitaminas E, C e β -caroteno Glutationa (GSH)

Fonte: Adaptado de Barbosa et al., 2010.

2.5 Interação gene-ambiente: polimorfismos da enzima glutationa S-transferase (GST)

Os biomarcadores de suscetibilidade indicam quais fatores podem aumentar ou diminuir um risco individual no desenvolvimento da resposta do organismo decorrente da exposição aos agentes químicos ambientais, como a poluição do ar (WHO, 1993). Esses fatores são pré-existent e independem da exposição e, apesar de serem predominantemente genéticos, outros fatores externos, tais como idade, dieta, estilo de vida, podem influenciar a suscetibilidade aos efeitos da poluição atmosférica.

Em geral, as características das populações mais sensíveis aos efeitos da poluição do ar incluem: idade (especificamente crianças e idosos), doenças cardiovasculares e pulmonares

preexistentes e populações de baixa renda (SACKS et al., 2011). Além desses fatores externos, estudos têm avaliado as interações entre polimorfismos genéticos e efeitos da poluição na saúde humana (GILLILAND et al., 2004, SCHNEIDER et al., 2004; MINELLI et al., 2011), principalmente no papel dos polimorfismos da enzima glutathione S-transferase (GST).

As Glutathione S-transferases (GSTs) são famílias de enzimas com diferentes localizações celulares, atuando na detoxificação de xenobióticos nocivos (incluindo os poluentes atmosféricos) e protegendo o organismo contra espécies reativas. Essas enzimas atuam na fase II da biotransformação de xenobióticos ou de detoxificação e, normalmente, atuam conjugando os metabólitos a um substrato endógeno como a glutathione reduzida. O resultado deste processo é a transformação dos metabólitos em substâncias hidrofílicas, e assim, passíveis de excreção (WILKINSON, CLAPPER, 1997; GUECHEVA, HENRIQUES, 2003). No entanto, a presença de alterações genéticas nessas enzimas pode alterar sua funcionalidade e aumentar a suscetibilidade de determinados grupos aos efeitos de exposições ambientais como poluição do ar. Os polimorfismos na GST foram associados a uma variedade de doenças, incluindo câncer (AUTRUP, 2000; WU et al., 2002; FUJIHARA et al., 2009).

Polimorfismos nas GSTs podem alterar as funções antioxidantes dos pulmões, ou seja, indivíduos que carregam os genes polimórficos mostraram menor ou ausência da atividade da GSTs, aumentando o risco para efeitos oxidantes dos radicais livres (SACKS et al., 2011). Os polimorfismos nos genes da classe Mu (glutathione S-transferase M1/GSTM1), theta (glutathione S-transferase T1/GSTT1) e pi (glutathione S-transferase P1/GSTP1) foram os mais estudados na área da poluição atmosférica (PIACENTINI et al., 2010; SACKS et al., 2011, MINELLI et al., 2011) e a sua ocorrência foi relatada como fator de risco para o desenvolvimento de processos alérgicos, sintomas respiratórios e redução da função pulmonar (GILLILAND et al., 2002; 2004; ROMIEU et al., 2008).

A GSTM1 e GSTT1 possuem polimorfismos de deleção e são avaliadas em termos de presença ou ausência de deleção homozigótica (genótipo nulo) e configuram a perda completa da atividade da enzima GST e, portanto, redução da capacidade antioxidante. A prevalência desses polimorfismos varia de 18% a 66% (média de 50%) para GSTM1 e de 10% para 31% para GSTT1 (CARLSTEN et al., 2008). A GSTP1 representa a forma mais comum de GST nos fluidos do trato respiratório e representa mais de 90% da atividade da família das enzimas GSTs. O Ile105Val é o polimorfismo mais comum no gene GSTP1 com frequência do alelo valina variando de 14% em asiáticos e 32% nos europeus (NTAIS et al., 2005; KELLEN et al., 2007).

Em suma, os estudos relacionados a interação gene-ambiente sugerem que a presença de alelos nulos ou específicos polimorfismos poderiam mediar respostas oxidantes, regular o metabolismo e influenciar nos níveis de interleucinas, configurando maior risco aos efeitos da poluição. Esses polimorfismos poderiam modular a relação entre a exposição à poluição do ar e o desenvolvimento de efeitos na saúde, aumentando ou diminuindo o risco de desfechos cardiovasculares ou respiratórios.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- ✓ Avaliar os efeitos da exposição ao material particulado fino (PM_{2,5}) nos biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes de 5 a 17 anos residentes na Amazônia Ocidental Brasileira.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Revisar e discutir o escopo das pesquisas publicadas entre 2009 a 2012 que investigaram biomarcadores de exposição e efeito da poluição do ar.
- ✓ Avaliar a relação entre fatores genéticos, demográficos, sociais, ambientais e de saúde e biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes expostas a poluentes atmosféricos na Amazônia Ocidental Brasileira.
- ✓ Avaliar os efeitos da exposição ao PM_{2,5} e de seus constituintes químicos nos biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 *Abordagens experimentais*

Durante a realização deste estudo, as seguintes abordagens experimentais foram realizadas: coleta de sangue; mensuração de parâmetros biológicos (biomarcadores de desbalanço redox, imunoglobulina E específica para inalantes, glicose sérica, hemograma completo); dosagem de mercúrio no sangue; monitoramento da qualidade do ar por meio das concentrações de PM_{2,5} e sua especiação química; análise das variantes polimórficas das enzimas GST; levantamento das características socioeconômicas e demográficas por meio da aplicação de questionário; avaliação antropométrica; aplicação do módulo específico para o estabelecimento de sinais e sintomas da asma; exame da espirometria para identificação de obstrução pulmonar.

4.2 *Local de estudo*

O município de Porto Velho está situado à margem direita do rio Madeira (afluente do rio Amazonas) na latitude Sul de 8°45'00" e longitude de 63°58'00" a Oeste do Meridiano de Greenwich e distante 750 km, em linha reta, de Manaus-AM. O Rio Madeira tem uma extensão territorial de 1.700 km², sendo maior e principal afluente do Amazonas. O clima da região é tropical, com temperatura média de 26 °C e umidade relativa do ar média de 80%, conforme apresentado nos últimos três anos (INPE, 2013). Durante o período de estudo (julho e agosto de 2012), a temperatura média diária chegou a 30°C e os valores máximos atingiram 39°C. Em relação à umidade relativa do ar, os valores médios diários variaram entre 52% a 75%. As estações do ano são bem definidas com um período de estiagem (julho a setembro) e de chuva (janeiro a abril). O índice pluviométrico varia entre 1.400 a 2.600 mm/ano e a vegetação é de Floresta Tropical Aberta e Floresta Tropical Densa. Além disso, situa-se no

trajeto de dispersão da pluma de poluentes gerada pela fumaça de países vizinhos. A área de estudo pode ser observada na figura 8.

4.3 População de estudo

Porto Velho é a principal área urbana do estado de Rondônia e caracteriza-se por cenários distintos de desenvolvimento econômico. Se por um lado, sente os efeitos da explosão demográfica na área urbana com aumento da população, da frota de carros e da construção civil, por outro lado constitui-se ainda por uma área extensa de populações que residem em áreas ribeirinhas.

Em 2010, o município apresentou 428.527 habitantes, com incremento demográfico 11,25% de 2008, depois do início das obras das hidroelétricas, até 2010 (IBGE, 2010). Do total de habitantes, aproximadamente 16% correspondem a crianças e adolescentes. Cerca de 90% da população reside na área urbana. O Índice de Desenvolvimento Humana (IDH) de Porto Velho é de 0,776, conforme apresentado pelo Censo 2010.

A população ribeirinha está estimada em 15 mil habitantes e pode ser considerada mais estável quando comparada com a população urbana devido às tradições culturais apresentadas por este grupo populacional. Essa população é formada por diversas comunidades, organizadas em núcleos familiares que vivem, prioritariamente dos recursos gerados pelas atividades pesqueiras e pelo extrativismo vegetal.

Nesse estudo, a amostra foi constituída de 200 crianças e adolescentes com idade entre 5 a 17 anos. Foram incluídas crianças e adolescentes residentes na área da reserva extrativista de Cuniã, da comunidade Belmont e do bairro Nacional. Os dois últimos localizados, respectivamente, nas regiões periurbana e urbana. Os seguintes critérios de inclusão foram considerados: idade entre 5 a 17 anos; adolescentes não fumantes; e tempo de moradia no endereço atual de pelo menos 1 ano.

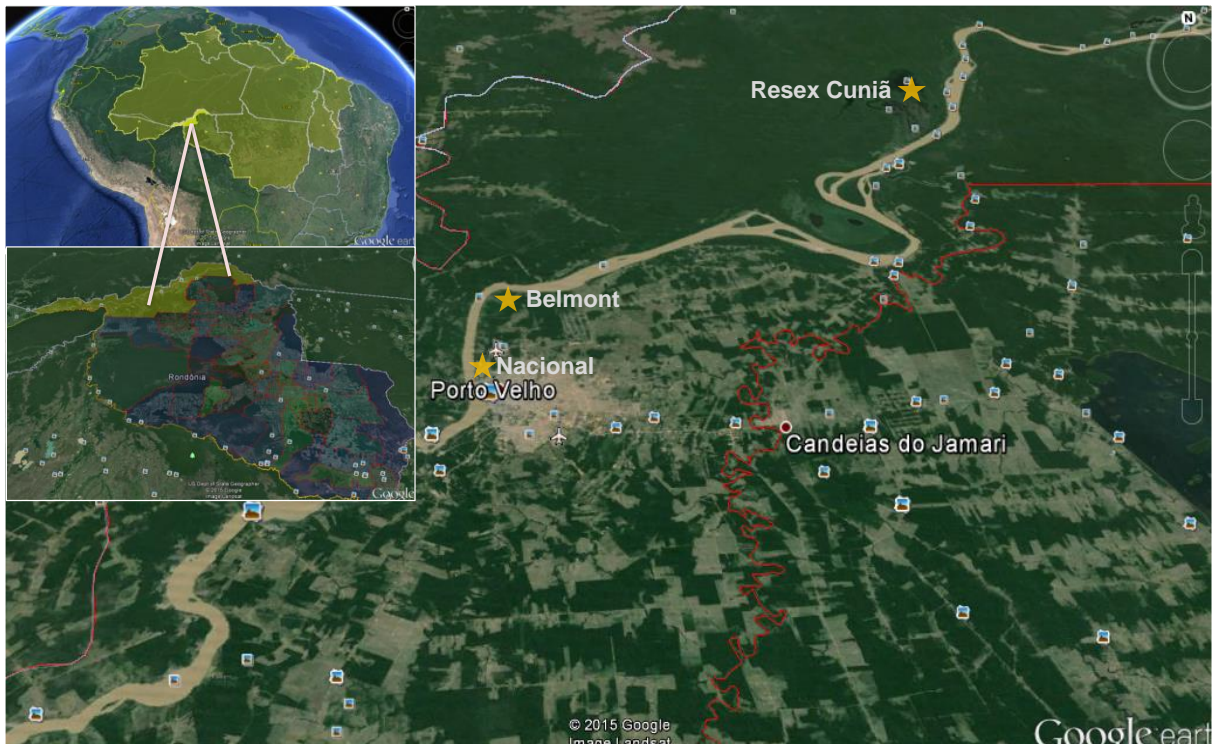


Figura 8. Localização geográfica das comunidades ribeirinhas e área urbana de Porto Velho.

4.4 Desenho de estudo

Este estudo reúne duas vertentes metodológicas: um estudo de revisão sistemática para o levantamento do escopo das pesquisas sobre biomarcadores de exposição e efeito usados na poluição do ar e dois estudos transversais descritivos que investigaram a relação entre fatores demográficos, genéticos, sociais, ambientais e de saúde nos biomarcadores de balanço redox.

4.4.1 Abordagem I – Estudo de revisão sistemática

Foi conduzida uma ampla revisão da literatura para levantar o escopo das pesquisas sobre os biomarcadores de exposição, efeito e suscetibilidade usados na área da poluição do ar. A revisão foi realizada no banco de dados da PUBMED com as seguintes palavras-chaves: “*biomarkers and pollution*”; “*biomarkers and air pollution*”; “*bioindicators and air pollution*”; e “*biological markers and air pollution*”. Foram incluídos todos os estudos experimentais em humanos, publicados entre janeiro de 2009 e dezembro de 2012 e que

incluíam exposição a poluição do ar *indoor* ou *outdoor* segundo a emissão por queima de biomassa e/ou de combustíveis fósseis.

Os biomarcadores foram avaliados considerando os seguintes aspectos: grupo social (crianças, adolescentes, gestantes, adultos e idosos), sexo, uso de medicação, exposição ocupacional, estado de saúde (saudável ou doente), índice de massa corporal, exposição ao tabaco, método de coleta e análise do biomarcador, interação gene-ambiente e tipo de exposição (aguda, crônica ou extrema – poluição *indoor*). Informações mais detalhadas sobre a metodologia deste estudo foi apresentada no artigo 1.

4.4.2 *Abordagem II – estudos observacionais do tipo transversal*

Dois estudos transversais foram realizados para avaliar os efeitos da exposição ao PM_{2,5} sobre biomarcadores de desbalanço redox. No primeiro estudo, a abordagem hierárquica foi usada como modelo teórico-explicativo para avaliar a relação entre os fatores demográficos, genéticos, sociais, ambientais e de saúde, e os biomarcadores de desbalanço redox. Com isso, os fatores investigados foram organizados hierarquicamente em três blocos de variáveis classificados em:

- a) proximal – constituído por variáveis biológicas não modificáveis como idade, sexo e variantes polimórficas na enzima GST;
- b) intermediário – variáveis relacionadas à história e ao estado geral de saúde das crianças, tais como asma, obstrução pulmonar, sinais e sintomas respiratórios, glicemia sérica, anemia ferropriva, ferro sérica, imunoglobulina E específica para inalantes, inflamação aguda (proteína C reativa), contagem de eosinófilos, avaliação antropométrica, obesidade e consumo semanal de peixe;
- c) c) distal – bloco de variáveis que representam as características sociais e exposições ambientais.

A relação entre esses blocos de variáveis e os biomarcadores de desbalanço redox foi realizada por meio do modelo de regressão linear multivariado.

No segundo estudo, a intenção foi explorar os efeitos da exposição ao PM_{2,5} e seus componentes químicos na atividade enzimática da glutathione S-transferase (GST), concentrações séricas de grupamento tiol e malondialdeído (MDA) na tentativa de entender o comportamento desses biomarcadores diante da exposição a esse poluente. Primeiramente, um modelo base com potenciais variáveis de confusão foi construído e, posteriormente, as concentrações dos poluentes incluídas individualmente em defasagem de até 5 dias. O tempo de defasagem, mais conhecido como *lag*, corresponde ao intervalo entre o tempo de exposição e do efeito do poluente. As estruturas de defasagens foram avaliadas por meio dos métodos de *Single Lag* e Modelo polinomial de defasagem distribuída (PDLM), descritas abaixo:

- a) *Single Lag*: consiste em incluir no modelo de regressão a exposição ao poluente no dia corrente. Assim, Lag 0 representa o efeito da exposição no dia da coleta de sangue; Lag 1 o efeito da exposição do dia anterior a coleta de sangue; Lag 2 a exposição de 2 dias anteriores a coleta de sangue; e assim sucessivamente.
- b) Modelo polinomial de defasagem distribuída (PDLM): consiste em avaliar o efeito distribuído ao longo de vários dias subsequentes. Assim, Lag 0 representa o efeito da exposição no dia da coleta de sangue; Lag 1 o efeito da exposição do dia anterior a coleta de dados, ajustado pelo efeito do Lag 0; Lag 2 o efeito da exposição de 2 dias anteriores a coleta de dados, ajustado pelo efeito do Lag 1; e assim sucessivamente. Esse método calcula ainda o efeito acumulado, denominado “*Overall*”, que corresponde a soma dos efeitos dos dias de defasagem avaliados.

Para o desenvolvimento dos dois estudos transversais foram realizadas as seguintes etapas: coleta de sangue, dosagem de biomarcadores de desbalanço redox, obtenção dos dados ambientais, análise das variantes polimórficas nas enzimas GST's e levantamento dos fatores

de confusão por meio de entrevistas com o uso de questionários, avaliação antropométrica, exames de sangue e espirometria. Informações mais detalhadas referentes à análise estatística foram apresentadas na seção de resultados (Artigos 2 e 3).

4.4.3 *Coleta de sangue e análise dos parâmetros sanguíneos*

As coletas de sangue foram coletadas durante os meses de julho e agosto de 2012 sob responsabilidade do laboratório CEACLIN, do Hospital 9 de Julho, localizado no município de Porto Velho em Rondônia. Todas as amostras de sangue foram coletadas em jejum de, no mínimo 8 horas, com seringa de 10 ml com agulha 25x7 BD® descartáveis e, posteriormente transferidas para tubos de coleta (*vacutainer*) com EDTA para coleta de sangue total e análise do hemograma e sem anticoagulante com gel separador para demais ensaios imunológicos. Além da coleta, a equipe do laboratório CEACLIN também foi responsável pela análise dos seguintes exames: hemograma completo, ferritina, glicose, proteína C reativa e IgE múltiplo para inalantes.

As concentrações plasmáticas de glicose foram mensuradas pelo método colorimétrico (equipamento Roche Hitachi 911, Chemistry Analyzer Spectrophotometer, Nova York, Estados Unidos, kits Labtest, Health Testing Centers, Saint Louis, Estados Unidos), a dosagem de proteína C reativa pelo método de aglutinação em látex, o hemograma completo (hemácias, leucócitos e plaquetas) feito por método automatizado e o exame imunológico da Imunoglobulina E específica para inalantes (IgE hx2) por ensaio imunoenzimático.

4.3.2.1. *Coleta de sangue e dosagem dos biomarcadores*

Após a coleta de sangue, descrita anteriormente, amostras de soro foram distribuídas em microtubos do tipo *ependorf* para mensuração dos biomarcadores de desbalanço redox. As análises foram realizadas no Laboratório de Toxicologia do CESTE (ENSP/FIOCRUZ)

no Rio de Janeiro. Para isso, após a coleta e distribuição nos *ependorf*, as amostras de soro foram mantidas em ultrafreezer a -80° no laboratório da CEACLIN e, posteriormente transportadas em isopores com gelo seco para o CESTEHE, onde também ficaram armazenadas na mesma temperatura até o momento da análise. O tempo de transporte foi de 4 a região ribeirinha (área mais distante) e o laboratório da CEACLIN e de 8 horas entre a CEACLIN para o CESTEHE no Rio de Janeiro. Para análise, as amostras de soro foram descongeladas apenas uma vez, no momento da análise. Além disso, por se tratar de um estudo com enormes desafios logísticos devido aos locais estarem situados em áreas de difícil acesso e, conseqüentemente com escassos recursos tecnológicos, realizou-se uma análise de controle de qualidade das amostras coletadas na equipe de campo. As amostras foram submetidas às mesmas condições de coleta, armazenamento, transporte e análise. Análises periódicas foram realizadas para avaliar potenciais perdas nas amostras, situação que não foi evidenciada.

Análise laboratorial do grupamento tiol: biomarcador mensurado em amostras de soro por meio da metodologia descrita originalmente por Ellman (1959) e modificada por Hu (1994).

Procedimento de análise: Tampão + DTNB + Amostra \rightarrow GS-TNB com leituras da absorvância em $\lambda = 412$ nm. O meio reacional consiste de 1000 μ L de Tampão Tris-Cl 0,25 mol/L + EDTA 0,02 mol/L + 25 μ L de DTNB 0,01 mol/L + 25 μ L de amostra de soro. Uma curva de calibração foi feita com padrão de glutathiona reduzida (GSH), representando o padrão de grupamento tiol. Os limites de detecção e quantificação do método foram 0,09 e 0,31 mol/L, respectivamente. O cálculo da concentração de grupamentos tiol presente na amostras foi feito por regressão linear, com uso de uma curva do tipo $y = ax + b$, em mol/L.

Análise laboratorial da atividade enzimática GST: realizada pelo método de Habig et al. (1974), adaptado por Habdous et al. (2002). **Procedimento de análise:** CDNB + GSH + Amostra \rightarrow GS-DNB + H^{+} + Cl^{-} com leitura da atividade enzimática em $\lambda = 340$ nm. O meio reacional consiste de 2700 μ L de tampão fosfato de potássio 0,1 mol/L e pH= 6,5 + 100 μ L de

CDNB 30 mM e 100 μ L de GSH 30 mM. A reação é disparada com a adição de 100 μ L da amostra de soro e a formação do produto é monitorada por 5 minutos. O resultado obtido é em Δ Abs/min. Os cálculos de atividade enzimática são baseados na seguinte fórmula, onde é utilizada a unidade internacional de atividade enzimática (U), que equivale a formação de 1 μ mol de GS-DNB/min, monitorada em um comprimento de onda de 340 nm, por 300 segundos.

Análise laboratorial do malondialdeído: a análise foi realizada usando o TBARS ASSY KIT da marca Cayman Chemical. **Procedimento de análise:** SDS + TBA + Amostra \rightarrow MDA-TBA/ Δ , lido a uma absorvância de 512 nm. O meio reacional consiste de 1000 μ L de Reagente de Cor (TBA) + 25 μ L de SDS + 25 μ L de amostra de soro. O cálculo da concentração malondialdeído presente nas amostras foi feito por regressão linear, com uso de uma curva do tipo $y = ax + b$, em μ mol/L. Os limites de detecção e quantificação do método foram 0,79 e 2,63 μ mol/L, respectivamente.

Todas as análises foram realizadas usando a espectrofotometria no UV-Vis como técnica instrumental (os equipamentos Jasco V-530 [Kyoto, Japão] e Shimadzu UV-1601 [Kyoto, Japão]).

4.4.4 Dados ambientais

As concentrações de PM_{2,5} foram medidas em uma estação de monitoramento da qualidade do ar implantada pelo Instituto de Física da Universidade de São Paulo (USP), integrante do projeto, no parque natural de Porto Velho, situado a 15 km do centro da cidade. Neste estudo, foram usados os dados coletados por filtros de fibra de quartzo do amostrador de grande volume Hivol HVS 3000 e por filtros de teflon do amostrador fino e grosso (AFG) que separa as partículas de fração grossa (partículas entre 10 e 2,5 μ m de diâmetro) e fina (partículas menores que 2,5 μ m de diâmetro). Para este estudo, foram usados os dados da

fração fina obtidos pelos filtros de policarbonato com 47 mm de diâmetro e poros de 8 μm e 4 μm . As concentrações de *Black Carbon* (BC) foram obtidas pela análise de refletância que utiliza a propriedade deste poluente em absorver a luz. Para isto, foi usado o refletômetro *Smoke Stain Refletometer Diffusion System, modelo M43D*, do Laboratório de Física Atmosférica da Universidade de São Paulo (USP). A caracterização elementar do $\text{PM}_{2,5}$ foi feita pela técnica PIXE que detectou presença de diversos elementos químicos de fontes naturais e antropogênicas. Nesse estudo, além do *Black Carbon*, foram analisados os elementos: enxofre (S), alumínio (Al), ferro (Fe), zinco (Zn), titânio (Ti) e chumbo (Pb). Para os dias que não tiveram medidas, as concentrações de $\text{PM}_{2,5}$ e seus respectivos elementos químicos foram estimados por método de imputação simples considerando o número de focos de calor, profundidade óptica dos aerossóis (AOD) e temperatura máxima. O número de focos de calor e das variáveis climáticas foram obtidos no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e no Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC), respectivamente. Os dados de AOD foram extraídos *online* por meio dos satélites Terra e Aqua a bordo do MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*) da NASA.

4.4.5 *Exposição ambiental ao mercúrio*

Em Porto Velho, os projetos de desenvolvimento de infraestrutura na Amazônia Brasileira têm agregado uma série de questões geradoras de impactos socioambientais tais como as mudanças de hábitos de vida, particularmente em populações tradicionais ribeirinhas, e o potencial de contaminação por mercúrio que tende a aumentar devido à mobilização de mercúrio (Hg) dos solos locais com a construção das hidroelétricas de Santo Antonio e Jirau.

O Hg é transformado em sua forma orgânica, o MeHg, que é biomagnificado na cadeia trófica, contaminando os peixes. O MeHg é a forma mais tóxica para saúde humana, principalmente para crianças na fase de desenvolvimento fetal. Além disso, a exposição ao Hg

pode causar desbalanço redox em sistemas biológicos, levando a processos patológicos. Em razão disso, a exposição ambiental ao mercúrio foi analisada e incluída nesse estudo como potencial fator de confusão. O Hg foi mensurado no sangue das crianças e adolescentes pelo Laboratório de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) por meio do método ICP-MS (PALMER et al., 2006). Avaliou-se, ainda, o consumo médio semanal de peixe (consumo menor ou maior que 3 vezes na semana) como variável *proxy* da exposição ao MeHg.

4.4.6 Polimorfismos nas enzimas GSTs

Para as análises das variantes polimórficas GSTM1, GSTT1 e GSTP1, foi preparada uma única solução de DNA genômico a partir de sangue total. Para tanto, o DNA foi extraído a partir de 500 µL de sangue, usando o método de *Salting-Out*. Para as variantes na enzima Glutathione S-transferase *Mu* (GSTM1) e *Theta* (GSTT1), a genotipagem das duas isoformas foi realizada por amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) *multiplex*, usando amplificação simultânea da beta-globina como controle positivo onde os resultados foram visualizados em gel de agarose (HATAGIMA et al., 2000; BURIM et al., 2004; GATTAS et al., 2004). A genotipagem do polimorfismo Glutathione S-Transferase *Pi* (GSTP1) foi realizada por PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) e os resultados revelados através de eletroforese gel de agarose. Posteriormente, o fragmento amplificado (176 pb) foi submetido à digestão com a enzima de restrição ALW261 (BURIM et al., 2004; LIU et al., 2006).

4.4.7 Avaliação das características socioeconômicas e demográficas

Esse estudo usou as informações levantadas por um questionário estruturado aplicado aos responsáveis ou pais das crianças com questões referentes ao domicílio, características sociodemográficas e de saúde das crianças e adolescentes. Foram usadas as seguintes

informações: idade, sexo, cor, fumo, exposição *indoor* a poluição do ar (casa de farinha e/ou uso de fogão a lenha), queima de lixo, renda familiar, escolaridade dos pais e consumo de peixe. Informações adicionais sobre presença de sinais e sintomas respiratórios e uso de medicações também foram obtidos.

4.4.8 Avaliação Antropométrica

Medidas antropométricas das crianças (idade, altura e peso) foram tomadas a fim de compor a tabela de teóricos de referência para a espirometria e também para avaliação nutricional. As crianças foram medidas e pesadas usando balança digital (G-TECH Glass PRO devidamente testada e calibrada; Glicomed, Rio de Janeiro, Brasil) e um estadiômetro portátil de coluna de madeira e alumínio anodizado. A avaliação antropométrica foi realizada com análise das curvas de crescimento da Organização Mundial de Saúde (OMS) que define obesidade como índices superiores a 2,0 escores Z acima da mediana da população de referência e baixo peso aquelas com índices inferiores a 2,0 escores Z abaixo da mediana de referência, considerando a curva IMC/Idade. Os dados das crianças foram compilados e analisados no programa WHO Anthro 2005.

4.4.9 Avaliação de asma

No questionário, o módulo específico para diagnóstico de asma foi aplicado. Esse módulo é baseado na metodologia do *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC, 1998) para determinar a prevalência de sintomas relacionados à asma. Esse módulo foi aplicado a todos os escolares com idade entre 5 a 17 anos, conforme padronização internacional. É composto por oito questões relacionadas a ocorrência e frequência de sibilância, dispnéia e tosse. Essas questões são pontuadas com valores de 0 a 2 e quando somadas classificam-se em asmáticos aquelas crianças (menos de 11 anos) que

atingirem um escore igual ou maior a 5 pontos e os adolescentes (11 – 17 anos) cujo *escore* somou 6 pontos ou mais.

4.4.10 Exame de espirometria

A função pulmonar foi avaliada pelo exame de espirometria de acordo com as padronizações e recomendações da *American Thoracic Society* (ATS, 1995). Durante os exames, o aparelho tipo pneumotacógrafo de Fleish da marca KOKO (Ferraris CardioRespiratory; Pulmonary Data Services, Inc. Louiseville, CO, USA) foi utilizado. Os seguintes parâmetros ventilatórios serão avaliados: Capacidade Vital Forçada (CVF), Capacidade Vital Forçada no 1º segundo (CVF1); razão entre CVF/CVF1; fluxo expiratório forçado médio na faixa intermediária de 25 a 75% da CVF; e pico de fluxo expiratório (PFE) (RODRIGUES, 2002). Os resultados da prova de função pulmonar foram usados para definição de crianças com doenças obstrutivas pulmonares.

4.5 Aspectos éticos

Este estudo foi submetido como emenda do projeto *“Avaliação de Impacto à Saúde. A construção de uma ferramenta para a gestão socioambiental de projetos de desenvolvimento na Amazônia”* e aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública com parecer favorável nº 936.350/CEP/ENSP/2014

5. RESULTADOS

5.1. ARTIGO I – A CURATED REVIEW OF RECENT LITERATURE OF BIOMARKERS USED FOR ASSESSING AIR POLLUTION EXPOSURES AND EFFECTS IN HUMANS

Beatriz Fátima Alves de Oliveira¹, Ana Paula Marte Chacra², Thiago Silva Frauches³, Adriana Vallochi⁴, Sandra Hacon¹

¹Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); ²Instituto do Coração (InCor), Hospital Universitário da Escola de Medicina de São Paulo; ³Laboratório de Imunogenética Arthur Siqueira Cavalcanti (HEMORIO); ⁴Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

*Artigo publicado na revista *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical reviews* 2014 (17:7-8, 369-410)*

Abstract

This is a cross-sectional review of the biomarkers used in air pollution research during January 2009- December 2012. After an initial key-word search in PubMed retrieving 426 articles, a comprehensive abstract review identified 54 articles of experimental design that used biomarkers of exposure or effect in human studies in the area of air pollution research during the specified time period. A thorough bibliographic search of the included articles retrieved an additional 65 articles meeting the inclusion criteria. This article presents these 119 studies and the 234 biomarkers used in these recent air pollution research studies. The results presented 70 biomarkers of exposure with 54% relating to polycyclic aromatic hydrocarbons, 36% volatile organic carbons and 10% classified as other. Of the 164 biomarkers of effect, 91 biomarkers were used in investigating effects of short-term exposure and 130 for long-term exposure. The results of the biomarkers used in short-term exposure discuss and present different lag times and pollutant components (primary and secondary pollutants, and particle number) in their corresponding physiological mechanisms: airway inflammation, neuroinflammation, ocular, metabolic, early endothelial dysfunction, coagulation, atherosclerosis, autonomic nervous system, general inflammation, oxidative stress and DNA damage. The review discusses the 3 different exposure scenarios of long-term exposure: chronic exposure, occupational exposures and extreme exposure scenarios (indoor cooking); with the biomarker findings presented in 3 broad categories of: immune profile, oxidative stress and DNA damage. The purpose of this review is to offer a representation of the scope that is being explored by air pollution researchers through the use of biomarkers and has deliberately been restricted to this particular subject, rather than an extensive or in-depth review. We believe this article provides a contextualization of the recent air pollution studies conducted with biomarkers in human subjects in their given areas while integrating this complex body of information to offer a useful review for researchers in this field of study.

Key words: Biomarkers, air pollution, short-term exposure, long-term exposure, immune profile.

Introduction

Air pollution is the introduction of particulates, biological molecules, or other harmful materials into the Earth's atmosphere. Research in the area is a complex, multi-disciplinary subject that incorporates areas of atmospheric chemistry, toxicology, genetics, environmental studies, satellite modeling, molecular and cellular biology, public health, and medicine. Its link to human disease dates back to as early as the 1500's with miners and smelt workers (Paracelsus, 1567; Agricola, 1556), but didn't reached the realm of public health concerns until the height of the industrial revolution in early 1930's (New York Academy of Medicine, 1931) after several well-known 'events' such as Meuse Valley of Belgium (1930) (Firket, 1936), Donora, Pennsylvania (1948) (Schrenk et al., 1949) and London (1952) (London Ministry of Health, 1954). These events brought to the forefront the serious health risks of air pollution.

Currently, the World Health Organization estimates that in 2012, one in eight of total global deaths were a result of air pollution exposure (around 7 million people), doubling previous estimates and making it now the largest single environmental health risk in the world (WHO, 2014). It has been strongly linked with cardiovascular diseases, such as strokes and ischemic heart disease, cancer, and the development of respiratory diseases, including acute respiratory infections and chronic obstructive pulmonary diseases (WHO, 2014). This greater awareness and understanding of the contributions of air pollution to human disease is for the most part due to advancements made in recent years in assessing human exposure to air pollutants as well as the diseases caused by air pollution (WHO, 2014).

Without question, one of the key advances for research investigating the consequences of air pollution on human health was the emergence of biomarkers or surrogate markers in the early 1980's (Brotman and Prince, 1988). Through advancements in cellular and molecular biology, biomarkers have come to serve as objective measures of different physiological

processes both pathological and normal; or in the case of exposure as measures of chemicals and/or metabolites and reaction products in blood and urine that act as direct surrogates for exposure levels - that are considered to be linearly related to the external exposure levels (Weis et al., 2005; Aylward et al., 2014).

Today, almost all air pollution research investigating human health effects employs some form of biomarker, whether it is a biomarker of effect representing neurological, cardiovascular or the inflammatory process correlated to ambient air values (macro-environment), personal air samplers (micro-environment) or another biomarker representing exposure to pollutants. Often explored in parallel, biomarkers of susceptibility (whether they be genetic or other biological factors - related to nutritional status, health status, lifestyle, or life stage) are factors that may affect an individual's susceptibility to chemical exposure (USEPA, 2014). Research continues to evolve our understanding of the complexities in our immune system and better refines the use of these surrogates and elucidates their participation in physiological processes: shedding light into unknown areas and having a direct effect on study designs, choice of biomarkers, confounding factors to control or consider and the overall interpretation of study results.

In an epoch of accelerated scientific publication and research, the globality of air pollution research is difficult to stay abreast, let alone the vast number of biomarkers that environmental health researchers are currently exploring, utilizing or finding ineffective or irreversibly confounded. As such, there are inherent difficulties in presenting a review of all of the biomarkers that are employed in air pollution research as the field of investigation spans the scope of human disease and environmental pollutant with each biomarker well deserving of its own proper review. In light of these complexities, this review article attempts to approach the subject area in a different manner - offering a broader vision of the research that is being pursued and explored in this field contextualizing them in their unifying themes.

Our intentions are by no means to provide an in-depth or exhaustive review of all the biomarkers presented, rather the purpose is to offer a representation of the scope that is being explored by air pollution researchers through the use of biomarkers and has deliberately been restricted to focus on this specific subject.

We conducted a key word search and performed a systematic review of air pollution research in recent years (2009-2012), which employed or investigated biomarkers in humans through experimental designs (excluding in-vitro, reviews, animal studies). The scope of our review covers published literature in English relating to environmental air pollution, both indoor and outdoor, with studies whose focus was on cigarette smoking excluded. A total of 119 articles and 234 biomarkers are presented in 2 broad categories of biomarkers of exposure and effect.

Methods

Search Strategy

We carried out a systematic review of English-language studies using the PubMed bibliographic database (Jan 2009 – Dec 2012) (National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). The search identified studies with the following combination of terms: (1) biomarkers and air pollution; (2) biomarkers and pollution; (3) bioindicator and air pollution; (4) polymorphism and air pollution; (4) polymorphism and pollution; and (5) gene-environment interaction air pollution.

Bibliographic Search

A further search was conducted of the bibliography of the included articles from the database search for related articles that met the inclusion criteria.

Inclusion/Exclusion Criteria

Included: Articles of experimental design utilizing human subjects, published within the designated time span of Jan 2009 thru Dec 2012, the article used a biomarker (of effect or exposure) in a study of air pollution. Further studies relating to indoor pollution, such as biomass cooking and heating, were included along with occupational exposure of heavy metal air pollutants (such as in mining), air-borne industrial pollutants (such as painters of automobiles) and traffic related air pollution (such as governmental car inspectors).

Excluded: Review articles, case studies, reference and supplementary publications, articles with no abstract, written in a language other than English and experimental studies in-vitro. Further studies excluded were non-air pollution studies related to heavy metals or water pollution or fecal matter exposure, also air-pollution studies whose focus was tobacco smoke or environmental tobacco smoke. Those articles related exclusively to polymorphisms were excluded.

While a vast amount of research in the area begins with in-vitro or animal studies, there are numerous complexities and inconsistencies with research moving from in-vitro to the actual human in-vivo system, thus for the purposes of this review in vitro-studies were excluded. It is also important to note that while biomarkers of susceptibility play an important role in investigating the health effects of air pollution with humans, we have included only those that related to biological factors (reported in parallel with the biological component investigated) and that the genetic components (i.e., polymorphism) was excluded from the scope of this review as this area requires a greater depth in contextualizing its results that falls outside the scope of this article to perform adequately.

Contributory Analysis

Each article was then evaluated by a minimum of 2 authors on the contributory factors that should be considered in the measuring of the biomarker to determine a causal link and the studies control and management of these factors. The factors considered are in Box 1.

Biomarker summaries

Each biomarker was evaluated within the context of the following considerations: social group (children, adolescent, pregnant, adult and elderly), sex, usage of medication, occupationally exposed, healthy or disease state, body mass index (BMI) range, control of tobacco, test used to measure the biomarker, collection methods, and exposure type (acute, chronic, occupational or extreme).

Results

Our review included 119 articles that met the inclusion criteria; see Figure 1 a flow chart depicting the method of selection of articles and an overview of biomarkers. A summary of the included studies and a brief description with study design and number of participants can be referenced in Table S1 of Supplemental Material. A geographical representation of the populations studied is represented in Figure 2.

Biomarkers of exposure

We organized the results to emphasize whether the biomarker was validated as a surrogate for exposure by either measured ambient levels of pollution or by distinct exposure scenarios or neither. A total of 38 articles used biomarkers of exposure, which we categorized in three broad types of purpose: (1) to validate through ambient levels or exposure scenarios;

(2) to use as a surrogate for exposure and validated its use through ambient levels or exposure scenarios; or (3) used as a surrogate for exposure though not validated in the study design.

Of the 38 studies, 32 (84%) either evaluated the effectiveness of the biomarker as a surrogate (type 1- 50%) or used it within a study design and verified its effectiveness with ambient pollution levels or different exposure scenarios, which used a reference group to demonstrate significant differences (type 2 - 50%). Twenty-five different articles evaluated 38 urinary or metabolite levels of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH's) and 13 studies investigated 25 volatile organic compounds (VOC's). Seven articles investigated biomarkers of exposure that we classified as "others", including *carbon load airway macrophages*, *exhaled carbon monoxide (CO)*, pollutants *bisphenol*, *levoglucosan* and *1,3 butadiene*, pollutant metabolite *1,6-hexamethylene diamine (HAD)* and enzyme of liver activity *7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD)*. Table 1 shows the biomarkers and their validation (or not) with ambient levels or exposure scenarios with the corresponding studies and populations.

The 81% (13) of the 16 studies that evaluated corresponding effects with a biomarker of exposure validated them within their study design. Supplementary material (table S2) shows a summary the findings of associated effects of both those studies that validated or not (type 2 and 3) the biomarkers along with the population studied. For the purposes of this review, the findings of these articles are highly dependent upon the results in table 1 and should be considered with caution before drawing conclusions as to their effectiveness as biomarkers of exposure. These studies are also represented below according to their study population and biomarker of effect studied. Of our 38 articles, 95% (35) considered smoking status and 26% (10) diet within their study design.

Of note, the single article which fell outside our organization was Rossella et al. (2009) due to the study of urinary PAH's and their metabolites neither investigating

associated effects nor verifying with exposure scenarios or ambient levels for their validity. Rather, the study explored PAH metabolism in humans by measuring both urinary and metabolite PAH's in a coke oven worker population. We have included a visual representation of the results in this study as it has a direct bearing on several of the results observed in other studies due to the rate of metabolism and their presence in urine after 24 hours. In figure 3, the results demonstrate the breakdown of the different metabolites and urinary pollutants with a scale on the left to demonstrate its proportion in the urine. Similar to the results of the NNANES reference study, Rosella et al.'s (2009) study provides an additional layer, the urinary pollutants, providing a better understanding of the representation of the metabolism of these pollutants in a urine sample after 24 hours.

We have provided table 1 to accompany this results section and summarize the results of the recent studies utilizing or studying these biomarkers. The validity of a biomarker of exposure is showing a correlation to either ambient levels or sensitivity across exposure scenarios (i.e., exposure/reference groups). We recommend considering carefully the population in which the study was used, as this may have serious implications in interpreting the results. For example, the ratio of urinary naphthalene to its metabolites is 1:100 with virtually all metabolized into OHNAPs, so understandably its presence in a general population was below the limit of detection and not validated by ambient air levels; whereas in Sobus et al. (2009) repeated measures study in coke oven workers found it correlated well across exposure scenarios, most likely due to the extreme levels of exposure associated with this occupational environment (coke oven workers).

There are several reasons to account for studies that were unable or did not to verify the biomarkers. Studies in which neither ambient levels were measured and compared or in exposure scenarios a reference group was not used. Another may be that the reference group used was seriously confounded and thus unable to use for comparison, for instance in Hemat

et al. (2012) while the study design accounted for an urban and rural group it had not accounted for the excessive amount of biomass burning and open fire cooking in the rural exposure scenario – thus the control was ineffective for the study.

In total, there were 13 biomarkers investigated but eliminated from analysis by the researchers due to levels below the limit of detection. These include in the category of PAHs: the metabolites of *benzo[a]pyrene* (3-OHBaP) (Leroyer et al., 2010; Fan et al., 2012) *benze[a]anthrene* (1-OHBaA and 3-9-OHBaA), *benzo[c]phenanthrene* (1-OHBcP, 2-OHBcP, 3-OHBcP), *chrysene* (1-OHCHR, 2-OHCHR, 3-OHCHR, 4-OHCHR, 6-OHCHR) (Nethery et al., 2012); and VOCs: *ethyl tert-butyl ether* (ETBE) (Fustinoni et al., 2010; Campo et al., 2011) and *tert-amyl methyl ether* (TAME) (Campo et al., 2011).

In considering the use and effectiveness of biomarkers of exposure, the control and findings in relation to smoking habit, diet and specific biomarker characteristics (i.e. metabolism, half-life) play an instrumental role as being surrogates of air pollution. We address each of these topics below to accompany Table 1.

Influence of cigarette smoking and diet

There is considerable importance in each of the studies' findings in their control and evaluation of smoking status when we imply that a biomarker is validated through ambient air levels or exposure scenarios. As mentioned above, the type of population studied, be it occupational, general population or children is integral in the measured values of the component and how much lifestyle factors will influence its validity. Below, we discuss those biomarkers that we designated as “validated” in Table 1 based upon the results presented in the corresponding studies.

PAH's

As seen in Table 1, most of the urinary PAH's and their metabolites studied were controlled by utilizing only non-smoking populations and diet had negligible influence on their validity. Though we caution against extrapolating the results from samples using only non-smoking populations, Marczyński et al. (2009) provides convincing evidence that the *sum of the phenanthrene (Σ OHPHE)* metabolites were independent of smoking status and propose that this would apply as well to its metabolites individually. However, we are reluctant to validate *urinary naphthalene (U-NAP)* outside of the extreme exposure scenarios found in occupations such as coke oven workers, with compelling evidence that in the general population it metabolizes too quickly to be detected (Rosella et al., 2009).

Of the 11 studies that validated *1-hydroxypyrene (1-OHP)* through either air measurements or exposure scenarios, almost half (45%) used non-smoking populations. It has been well-established that levels of *1-OHP* is increased in smokers or those exposed to passive smoking in comparison to non-smokers. This was corroborated by all of the studies that had both these groups (Freire et al., 2009; Marczyński et al., 2009; Petchpoung et al., 2011; Liu et al., 2010; Marie et al., 2009; Polańska et al., 2011). However, Petchpoung et al. (2011) provided convincing evidence that by stratifying smokers and non-smokers, the same statistical differences are found within the groups. In like manner, Marie et al. (2009) repeated measures study found variance of *1-OHP* levels across both smokers and non-smokers to coincide with degree of occupational exposure. Though important to note, stratification must be well delineated between the groups, otherwise the results of the groups individually remain unclear and difficult to draw conclusions (Liu et al., 2010; Polańska et al., 2011). On the other hand, the influence of diet still remains unclear based upon the studies represented mostly because the majority of studies omitted evaluation or control of dietary ingestion of PAHs (Freire et al., 2011; Marczyński et al., 2009; Liu et al., 2010; Marie et al., 2009; Martínez-Salinas et al. 2010; Pruneda-Álvarez et al., 2012; Petchpoung et al., 2011) or

only included those with low PAH diets (Ayi-Fanou et al., 2009; Fan et al., 2012). Nevertheless, Li et al.'s (2010) investigation of influences on PAH metabolites provided convincing evidence in concluding that at low levels in the general population, *1-OHP* reflected dietary intake of PAHs more so than environmental exposure. While Nethery et al.'s (2012) study of pregnant women at low levels of exposure supports a strong correlation with *1-OHP* and dietary ingestion, in Polańska et al.'s (2011) study of women across exposure scenarios no effect was found.

In the three studies that found that *1-OHP* did not represent exposure levels, all were non-smoking samples. Freire et al. (2008) study did find a difference between their exposed and control group though it was not significant; Leroyer et al. (2010) had a very short exposure time at low levels and diet was not controlled or evaluated; and (as mentioned above) Li et al. (2010) concluded in their study *1-OHP* represented dietary ingestion of PAHs.

VOCS:

In our review, evidence clearly showed that smoking was excessively confounding for the majority of the biomarkers of VOCs, with a few notable exceptions. For the most part, either non-smoking populations were used or associations with exposure scenarios or air levels were found only in the non-smoking groups after stratifying their population by smoking status. Both *S-benzylmercapturic acid (SBMA)* and *hippuric acid (HA)*, metabolites of benzene and toluene respectively, were designated as “unclear”, because of either unclear results or lack of stratification by smoking status (Lovreglio et al., 2010; Jiménez-Garza et al., 2012; Shih et al., 2011). On the other hand, multiple studies for both *toluene* (Fustinoni et al., 2010; Lovreglio et al., 2010), and *methyl tert-butyl ether* (Campo et al., 2011; Fustinoni et al., 2010) provided convincing evidence for their independence of smoking status.

Few studies (3/12) included considerations for diet and those by excluding individuals that ate fish (Ayi-Fanou et al., 2009), matching their sample including diet (Arayasiri et al., 2010), and concluding that the diet was similar amongst all its study participants (Obolenskaya et al., 2010). Notably, *t,t-muconic acid* correlated so strongly with *sorbic acid* through dietary sources, Arayasiri et al. (2010) concluded that it was definitely not a reliable biomarker of benzene exposure.

New to the scene:

The most notable new biomarkers investigated were *carbon load airway macrophages* and *1-hydroxypyrene-glucuronide (1-OHPG)*. Three different studies used *carbon load airway macrophages* in sputum as a measure for chronic exposure to air pollution and found it positively correlated with either proximity to major roads (Jacobs et al., 2010a; Jacobs et al., 2011) in individuals with diabetes or different pollutant scenarios (green areas/industrial areas) in healthy children (Kalappanavar et al., 2012). Associated with major roads and 6-month average PM₁₀ rather than recent exposure to PM₁₀, it is suggested as a biomarker of chronic air pollution exposure (Jacobs et al., 2010a). Also the deconjugated metabolite of pyrene *1-OHPG* emerged as a promising new measurement and more sensitive biomarker for assessing exposure to pyrene in a mixture of PAHs exhibiting 5-fold greater fluorescence than *1-OHP* (Huang et al., 2012a; Lai et al., 2012).

An interesting potential biomarker of exposure explored was *ECOD* in Obolenskaya et al.'s (2010) cross sectional study of 143 human placentas at term from mothers living in radioactivity-contaminated and chemically polluted areas of Eastern Europe. The study found *ECOD* activity 7-fold and 2-fold higher in chemically polluted and radioactivity-contaminated areas compared to areas considered "clean". Reported as a typical marker induced by PAH, the authors suggest that the determination of placental *ECOD* activity could serve as a

biomarker of oxidative stress, with higher levels indicating greater radioactive and/or chemical exposure during pregnancy (Obolenskaya et al., 2010) – implying a function of a biomarker of exposure. Whether this correlation of *ECOD* follows a linear relationship with measured levels of pollution and can truly serve as a biomarker of exposure is not clear with this single study.

The other three new biomarkers of exposure proposed were less promising. While in Gaines et al. (2010) study with spray painters found *urinary 1,6-hexamethylene diamine (HDA)* to be significantly associated for systemic exposure to 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI), the biological monitoring requires significant diligence to capture as the intermittent exposure pattern is both airborne and dermal and makes its widespread use doubtful. Whereas in Migliaccio et al. (2009), the new proposed biomarker for exposure to biomass burning, *levoglucosan*, while detected in all 14 children, it failed to show significant differences between exposure scenarios (wood burning stoves/no) however the study was clearly confounded with household reported smoking (showing $p < .0003$ with LG). *Exhaled carbon monoxide (CO)* from Thompson et al.'s (2011) Guatemalan Temazcal (steam baths) proved less reliable as well, most likely due to errors in measurement procedures was inconclusive.

Discussion/Comments of Biomarkers of Exposure

The purpose of these biomarkers is to act as a reliable surrogate for exposure, though several aspects factor in to determining their validity and effectiveness of this role. We attempted to capture the scope of biomarkers that are in use and being evaluated in recent literature and present them in a format to allow researchers to contextualize these biomarkers. The influence of smoking and diet are serious considerations in biomarker use and study, as well as the metabolism of pollutants within the human body. These findings can provide guidance in avoiding confounding results by structuring the methodology of studies or in

determining the populations to study. For example, studies with the general population may allude the results found in those who studied extreme exposure scenarios such as that of indoor open fire cooking or occupational exposures. Though, these studies still hold merit for the greater understanding and characterization of the limitations of these exposure surrogates.

As many of the studies included in this area focus or evaluate *1-OHP*, we consider it to be an excellent example of the depth in which exposure surrogates must be understood and evaluated. There is an argument that biomarkers from other families may act as better surrogates for air pollution exposure in general, with naphthalene composing a far greater proportion of airborne PAHs or phenanthrene and its compelling immunity from the effects of cigarette smoke. Only further studies will tell. However, *1-OHP* showed remarkable sensitivity in most studies across exposure scenarios and has been linked to several damaging health processes (Ayi-Fanou et al., 2009; Hong et al., 2009; Liu et al., 2010; Bae et al., 2010). We suggest that its success as a biomarker of exposure may come less from its sensitivity and representation of air pollution in general, but more from its representation of the carcinogenic PAHs (c-PAHs) (B[a]P, DB[a,b]A, B[a]A, B[b]F, B[k]F, CHR and indenol[1,2,3,-cd]pyrene). It not only demonstrated the highest correlation with urinary levels of measurable c-PAHs (those not below the levels of detection), but was also the only biomarker that showed a correlation (albeit weak) with airborne levels of c-PAHs (Rosella et al., 2009, Marczynski et al., 2009). It is this single aspect that may account for its success in capturing relationships between exposure levels and health effects, and actually provide a greater sensitivity differentiating the detrimental effects particular to different exposure scenarios (Ayi-Fanou et al., 2009; Liu et al., 2010; Hong et al., 2009; Bae et al., 2010). While our review discusses at length many of the limitations or considerations that one must have with *1-OHP*, we still consider it a leading surrogate for exposure levels. Acknowledging that diet

and smoking do influence the levels of this biomarker both study design and appropriate stratification are essential.

Future studies should continue to explore the inter-variability of biomarker effectiveness and the rates of metabolism of pollutants in individuals. The generally observed ratio between U-PAH and the corresponding OHPAH shows a huge variance of 1:1000 to 1:26 (Rosella et al., 2009) and presents an interesting area to understand its cause. For instance, several studies have demonstrated that naphthalene metabolism varies in function of both smoking status and occupational exposure (Anon, 2007; Rosella et al., 2009). The implications and health consequences of this metabolism or the difference within populations may provide a more accurate assessment of risk or better illuminate the mechanisms at work. As most of the studies we reviewed, we recommend strongly to continue to use forms to validate biomarker of exposure (i.e., environmental monitoring, personal air samplers, reference groups) to better understand these biomarkers. We also suggest that future studies could focus on better refinement of the exposure scenarios in non-extreme populations and methodology should work to better reflect the appropriate half-life of these metabolites being used. For example, understanding that *1-OHP* has an estimated half-life of 6-35 hours (Jongeneelen et al., 1990), would most likely reflect 3 days worth of exposure rather than 1 day which may be the case in those whose metabolism of pollutants may be increased due to chronic extreme exposure.

Biomarkers of effect

We review a total of 97 articles and 164 biomarkers of effect used in connecting air pollution with changes in our physiology. The studies presented are organized into the different types of exposure scenarios: short-term (immediate effects on the human physiology

to acute exposure); and long-term (health consequences of chronic exposure). Figure 1 is a flow chart overview of the paper organization.

Acute exposure

Vast amounts of research - 55 studies - focus on short-term exposure and the mechanism by which the different components of air pollution (i.e., size and chemical speciation) instigate changes in biomarkers across a variety of biological processes: acute respiratory inflammation, systemic inflammation, coagulation, and oxidative stress as well as biomarkers linked with diabetes, atherosclerosis and endothelial dysfunction. These studies look at the subtle changes in air pollutant composition and the concurrent response of our body (measured through biomarkers). Investigations into both healthy and “susceptible” populations (i.e., diabetics, obese, or those with cardiovascular problems) offer a dimension of this research that explores mechanistic differences in disease pathologies and states and differentiating characteristics (use of medication, gender bias and causal component mixtures). The populations studied include: children (5), adolescents (3), pregnant women (1), adults (32) and elderly (20).

Virtually all the studies (96%) evaluating acute exposure scenarios reported measurements of air pollutants by their classification as either primary (emitted directly from the atmosphere) or secondary (formed within the atmosphere). We recommend a review from WHO (2005) for more information regarding the distinction of primary and secondary pollutants. The primary air pollutants studied were nitrogen dioxide (NO₂), sulfur dioxide (SO₂), carbon monoxide (CO), and VOCs; as well as secondary air pollutants ozone (O₃) and sulfuric acid (H₂SO₄). Studies categorized particle matter or aerosols by size in accordance to the micro-diameter of the particle (PM₁₀, PM_{2.5}, and PM_{0.25}) as well as either primary or secondary organic aerosols based upon their composition derived from the evolving complex

mixture of gas and particle phase species as percentages of black carbon (BC) or elemental carbon (EC), organic carbon (OC), and sulphate (SO₄⁻²). The 2 studies that did not use these types of measurements were chamber studies using controlled exposure to diesel exhaust. We summarize the specific time points (lags) correlating to the pollutant species in table S3 to table S10, of Supplemental Material.

Airway Inflammation

19 biomarkers: Nitrate/nitrite; fraction of exhaled nitric oxide (*FeNO*); pH (or H⁺); Leukotriene B4 (*LTB4*); Prostaglandin E2 (*PGE2*); clara cell protein (*CC16*); surfactant associated proteins A and D (*SPA*)(*SPD*); Interleukin-6 and 8 (*IL-6*) (*IL-8*); neutrophils; CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ lymphocytes; CD25⁺ and CD68⁺ cells; myeloperoxidase (*MPO*), stem cell factor (*SCF*); P-selectin, E-selectin, vascular and intracellular endothelial adhesion molecules-1 (*VCAM-1*) (*ICAM-1*).

There were 12 studies that explored inflammation along the respiratory tract; a variety of sample types were used: exhaled breath condensate (5), urine (1), blood (3), bronchial lavage/wash and endobronchial mucosal biopsies (11) – for a total of 19 different biomarkers.

There were 11 studies that utilized exhaled breath condensate. Both *FeNO* and nitrate/nitrite served as effective surrogates for the release of nitric oxide in activated airway epithelial cells in the studies review – with the caveat of *FeNO* measuring method. In the 10 studies measuring *FeNO*, the chosen method of measurement (offline/collected condensation or online/digital apparatus) directly influenced their respective findings – finding *FeNO* levels correlated with pollutants only in the 5 studies utilizing the offline method. The “offline” studies followed similar trends with increases of *FeNO* appearing some time after 30 minutes, peaking around 24 hours and undetectable by 5 days. The single study Huang et al. (2012b) that evaluated nitrite and nitrate confirmed similar findings seen in *FeNO* with lags between

0-1 across the PM pollutant speciation; however, the authors noted nitrate rather nitrate served as better biomarker due to the influence of diet on the latter. *The lowering of airway pH* (a measure of broncho-constriction, increased mucus viscosity and impairment of airway epithelial functions – Shoemark and Wilson, 2011) was found in all 4 studies that used this measure in EBC. The results support influence by pollutant type (primary/secondary) on differing lag times (Folino et al., 2009; Raulf-Heimsoth et al., 2010; Huang et al., 2012b; Patel et al., 2013). Other biomarkers measured in EBC such as *PGE2* (a eicosanoid with bronchodilative properties – Grob et al., 2008) (Folino et al., 2009) and *LTB4* (a chemoattractant for inflammatory cells – Lewis et al., 1990) (Folino et al., 2009; Raulf-Heimsoth et al., 2010) were unassociated with exposures; and *IL-6* (measure of systemic inflammation) was unable to be measured in EBC – with only 2 of 616 samples having detectable levels (Liu, et al., 2009a). *IL-8* measured in nasal lavage fluid (NALF) samples did not correspond to any short-term pollutant exposures (Raulf-Heimsoth et al., 2010).

Blood levels of 3 small “pneumoproteins” (*CC16*, *SP-A* and *SP-D*) specific to lung epithelial distal airspaces) were measured as a marker for lung hyperpermeability (Lesur et al., 2003). *CC16* captured airway inflammation in blood levels only very early after exposure at lag 0 (Jacquemin et al. 2009) and at a lag point of 4 hours (Stockfelt et al., 2012) and not at later time points (Jacquemin et al., 2009; Folino et al., 2009). There is evidence though that short exposure times (such as 30 minutes) do not induce changes in *CC16* (Jacobs et al., 2010b). *CC16* was also found to be present in the urine on the following day, perhaps offering an even less invasive option (Stockfelt et al., 2012). The other two pneumoproteins - *SP-A* and *SP-D* - showed no significant changes with exposure, with *SP-D* demonstrating variation along circadian rhythm and age (Stockfelt et al., 2012).

In Behndig et al.’s (2011) chamber study, a bronchoscopy was performed in healthy adults and individuals with mild or moderate asthma. The study used biomarkers in the

bronchial wash and submucosa to represent both the acute inflammatory phases of activation (*neutrophils, CD3+, CD4+, CD8+ lymphocytes, CD25+ and CD68+ cells*) and recruitment (*MPO, IL-6, IL-8, Stem cell factor (SCF); eosinophils, mast cells, P-selectin, E-selectin, VCAM-1, ICAM-1*). We suspect that either due to an inability to measure or lack of change from pre/post diesel exposure, only selected measures were reported in their results. In short, healthy control subjects did show a significant increase in submucosal neutrophils and mast cells after exposure to diesel along with less significant increases in neutrophil numbers, MPO and IL-6 – interestingly, this response was absent in subjects with asthma (Behndig et al., 2011).

Neuroinflammation

2 biomarkers: Substance P and BDNF

The attempt to study the connection between the immune and the nervous system was curtailed as Raulf-Heimsoth et al. (2010) failed to associate these two neurokinines (*Substance P* and *BDNF*) in NALF samples. Unlike *BDNF*, *Substance P* was detected in the NALF samples; however, there was no significant effect with SO₂ exposure. They make the recommendation for future studies examining *Substance P* to optimize the sample collection time for this parameter.

Ocular

2 biomarkers: Ocular symptom disease index (OSDI) and tear breakup time (TBUT)

A single study (Novaes et al., 2010) evaluated the effects of air pollution on the ocular surface. The *OSDI* showed a clear dose-response pattern with the quartiles of NO₂ and a weak but statistically significant negative association between *tear breakup time* and exposure to NO₂.

Metabolic

3 biomarkers: *fasting glucose, homeostasis model assessment-estimated insulin resistance (HOMA-IR) index, and insulin*

While several studies utilized diabetic populations, only one article investigated biomarkers connected directly with diabetes. In their study, only HOMA-IR (a measure that quantifies insulin resistance and beta-cell function – Matthews et al., 1985) had significant independent associations with PM₁₀, SO₂ and PSI (pollutant standards index) (Kelishadi et al., 2009).

Early endothelial dysfunction

4 biomarkers: *endothelial progenitor cells (EPC), total protein, non-albumin protein, albumin*

O'Toole et al. (2010) investigated early endothelial dysfunction in the first 24 hours after acute exposure by measuring *EPC* – these are rare cells circulating in the blood that can differentiate into endothelial cells (blood vessel lining) - a reduction would imply vascular damage. Their study found signs of vascular damage evident by a significant reduction in *EPC*, particularly CD34⁺/CD31⁺/CD45⁺/CD133⁺. This reduction accompanied an increase in total protein with PM_{2.5}, due to an increase in non-albumin protein (p<0.0001) and not albumin – the author suggests that it could be an increase in globulins (the second most abundant proteins in plasma) reflective of a mild systemic immune response.

Coagulation

14 biomarkers: *platelet count; tissue factor (TF) ; platelet function, von willebrand factor (vWF); platelet aggregation, sP-selectin (sCD62P), soluble CD40 ligand (sCD40L); thrombin generation; prothrombin fragment 1+2; thrombomodulin (TM); fibrinogen; plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1); D-dimer; Factor VII.*

A total of 14 different studies investigated markers of coagulation providing convincing evidence of the involvement of this system. The initiating steps in the coagulation

cascade represented by tissue factor had a significant relationship with almost all air pollutants (Poursafa et al., 2011). There was evidence in impaired *platelet function* with short-term exposure to PM₁₀ in Jacobs et al. (2010a), though the findings in Jacobs et al. (2010b) suggest that it is unaffected with a limited exposure (30 min of exercise along a highway). Both O’Toole et al. (2010) and Rudez et al. (2009) confirmed *platelet-monocyte aggregation*, supported by studies measuring platelet with the presence of *sP-selectin* (Rudez et al., 2009, Rich et al., 2012) and *sCD40L* (Rich et al., 2012). The participation of the coagulation system further down the cascade was confirmed using biomarkers representing thrombin generation - responsible for converting soluble fibrinogen into insoluble fibrin - including: *thrombin generation* (Rudez et al., 2009); *prothrombin fragment 1+2* (Hildebrandt et al., 2009); and *thrombomodulin* (Poursafa et al., 2011).

There were inconclusive results with *fibrinogen*, however this may be indicative of the various difficulties in general of measuring and determining this biomarker with the methodologies of assays measuring *fibrinogen* varying widely in precision and accuracy (Cunningham et al., 2012). It should be noted that the lag time of this biomarker shows a variance between 1-5 days (Cunningham et al., 2012). The results of the recent studies measuring *fibrinogen* are summarized in table S5 (Supplemental Material). A wide range of findings were found in 6 of the 10 studies (Panasevich et al., 2009; Hoffmann et al., 2009; Hildebrandt et al., 2009; Rich et al., 2012; Bind et al., 2012; Huttunen et al., 2012), with the other 4 studies finding no relationship at all with short-term exposure to pollutants (Rudez et al., 2009; Thompson et al., 2010; Luttmann-Gibson et al., 2010; O’Toole et al., 2010).

The measurement of *von Willebrand factor (vWF)* – a blood glycoprotein important in platelet adhesion to wound sites – displayed a perplexing contradiction with clear evidence of an increase in Rich et al.’s (2011) healthy population with O₃ at lag 1, and a significant decrease in Hildebrandt et al.’s (2009) study with a COPD population. The authors in

Hildebrandt et al.'s (2009) hesitated to interpret their result due to the diverse functions associated with vWF. As seen in table S5 (supplemental material) and reported in Box 2 – several biomarkers showed inverse relationships with primary and secondary pollutants which may be reflected in this result.

Other biomarkers investigated that had no association with short-term exposure were *platelet count* (Luttmann-Gibson et al., 2010; Jacobs et al., 2010a) and biomarkers further along the coagulation pathway: *PAI-1* (down-regulator of fibrinolysis) in Panasevich et al., (2009), and *D-dimer* (a small protein fragment that is a remnant after a blood clot is degraded by fibrinolysis) and *Factor VII* (a protein involved causing blood to clot) in Hildebrandt et al., (2009).

Atherosclerosis

7 biomarkers: *Total cholesterol, High-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL), Triglycerides, soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1), soluble vascular adhesion molecule (sVCAM-1), E-selectin*

Elevated LDL or triglycerides and reduced HDL levels are clear indicators of atherosclerosis risk. There was an interesting finding in O'Toole et al. (2010) with healthy adults which found an increase in plasma levels of HDL with the increase of PM, however this finding was not collaborated in the two other studies that investigated HDL in Bagryantseva et al. (2010) in adults occupational exposed (bus drivers, garage men) nor in Kelishadi et al.'s (2009) adolescent population. Air pollutant exposure had no relationship on total cholesterol (Kelishadi et al., 2009), LDL or triglycerides (Bagryantseva et al., 2010; Kelishadi et al., 2009).

Several studies performed in the Normative Aging Study (NAS) cohort, the elderly male group from Boston, found interesting correlations with adhesion molecules *sVCAM-1* and *sICAM-1* with signs of differentiating mechanisms within susceptible populations (table

S6, supplemental material). The studies utilizing this same population – however, not exactly the same populations with total subjects differing across the articles – investigated extensively across time points. Within this group of studies, we did carefully examine (and map out) the time points and pollutant specific relationships, which were consistent with each other across the studies – though, not the easiest to follow. In short, *sVCAM* appears roughly after 24 hours and *sICAM* only after 3 days with various caveats that should be included about the specific pollutants and particle size which are presented in table S6 (supplemental material). The group makes a convincing case for some interesting mechanisms at work; notably, the 2009 study by Madrigano et al. (2010) reports associations between 2-day BC levels and *sVCAM-I* that were significantly modified by the phenotype of obesity as well as the polymorphism GSTM1 deletion, whereas it was diabetics and individuals using statins rather than obesity that influenced the associations with BC at 4, 8 and 12 week (Alexeeff et al., 2011).

These findings with the NAS population however, have neither been confirmed nor refuted. Only 2 other groups investigated *sICAM*; Luttmann-Gibson et al. (2010) (elderly with cardiac disease), which used only a lag of 24 hours, and Hildebrandt et al. (2009) (chronic pulmonary disease) with a lag of 0, 1, 2, 3 and a 5-day-mean – both groups did not find any association. These results while not refuting the NAS studies are still far from confirming them.

Another adhesion molecule, *E-selectin*, falls somewhere in the middle of coagulation and atherosclerosis. In Hildebrandt et al.'s (2009) study with individuals with COPD, *E-selectin* increased in association with accumulation mode particles (or secondary particles – formed in the atmosphere) and PM₁₀ with a delay of one day.

Autonomic nervous system

7 biomarkers: *heart rate variability (HRV), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), Brachial artery diameter (BAD), endothelin-1 (ET-1), vascular endothelial growth factor (VEGF), reactive hyperemia index (RHI)*

In studies investigating the myogenic mechanism several interesting studies were able to stratify extensively and found several differentiating mechanisms with health status, use of acetylsalicylic acid (ASA or aspirin), gender, weight and age.

Heart rate variability was examined in 6 studies across a range of study designs and populations. Multiple studies offer support for increases in outdoor pollution levels decreasing SDNN for those not taking beta-blockers (de Hartog et al., 2009; Folino et al., 2009; Langrish et al., 2009; Wu et al., 2010). Langrish et al. (2009) further suggested the contribution of the sympathetic tone to basal HR control implied by elevated levels of low-frequency power (LF-power). In contrast, Liu et al. (2009b) and Rich et al. (2012) found increases in heart rate that accompanied elevations in short-term pollutant exposure. Luttmann-Gibson et al. (2010), in a study with an elderly population found a clear link between chronic inflammation and autonomic dysfunction – observing that individuals either diabetes or systemic inflammation (defined by an increase in *platelets, C-reactive protein* and *fibrinogen*) had stronger negative effects on *heart rate variability* to air pollution – implicating that these biomarkers are involved in a more complex mechanism than just direct effects on these measures. As well, *brachial artery diameter (BAD)* negatively correlated with BC in Liu et al.'s (2009b) elderly population in only those not having doctor-diagnosed cardiovascular disease or not taking diabetic medication.

Pollution-induced increases were seen in *systolic blood pressure* in all 6 studies (Liu et al., 2009b; Dvonch et al., 2009; Langrish et al., 2009; Mordukhovich et al., 2009; Delfino et al., 2010c; Rich et al., 2012) that used this measure, with evidence that effects were stronger in younger populations (Dvonch et al., 2009; Rich et al., 2012). *Diastolic blood pressure* was

found increased in only the studies with populations compromised by disease (Dvonch et al., 2009; Mordukhovich et al., 2009; Delfino et al., 2010c) or those not taking ASA medication (Liu et al., 2009b). The other healthy populations (Dvonch et al., 2009; Langrish et al., 2009; Rich et al., 2012) or those taking aspirin (Liu et al., 2009b) did not find any association.

The greater susceptibility of men to particulate exposure-related adverse effects in cardiovascular function to that of women was one of the more interesting findings by Liu et al., (2009b) who investigated *endothelin-1 (ET-1)*, a potent endogenous vaso-constrictor peptide, believed to be modulated by sex hormones (male hormones raising levels and female hormones lowering them) (Polderman et al., 1993). The study found males though not females having a consistent positive association between blood ET-1 and fine particulate pollutants; with *vascular endothelial growth factor (VEGF)*, the endogenous vasodilator, showing an inverse relationship with women but not men having a consistent positive association with fine particulate pollutants. Similarly, in Allen et al.'s (2011) air filter intervention study, significant changes were found in the *reactive hyperemia index (RHI)*, a measure of endothelial function (measuring the change of blood flow after a temporary interruption) with slightly more pronounced effects among males, as well as younger overweight subjects.

General system inflammation/ cytokines/ acquired immunity/cells

21 biomarkers: *C-reactive protein (CRP); amyloid A; long pentraxin (PTX3); myeloperoxidase (MPO); Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF); interferon (IFN- γ); Interleukins 2,4, 6, 8, 10, 12 and 1 β ; tumor necrosis factor alpha (TNF- α); tumor necrosis alpha receptor II (TNF-RII); white blood cells (WBC); neutrophils; band cells; lymphocytes (T and B); anti- CD3-stimulated lymphocyte proliferation; cytotoxicity of natural killer cells*

These biomarkers have different functions representing both the innate and acquired immune system. In respect to the studies evaluating physiological responses to short-term exposure of air pollutants, these biomarkers are meant to depict systemic inflammation – as participants in the early or later inflammatory process, their role, appearance or absence remains difficult to interpret and is dependent upon the pathway and understanding of the immunological participant. As one would expect, the overall health status, use of medication and age are highly influential in such general measures of systemic inflammation and homeostasis. We present this group in groups: (1) general inflammation: *amyloid A*, *PTX3* and *CRP*; (2) cytokines and receptor: *GM-CSF*, *IFN- γ* , *interleukins*, *TNF- α* and its receptor *TNF-RII*; (3) cells: *neutrophils*, *band cells*, *lymphocytes (T and B)*, *anti-CD3-stimulated lymphocyte proliferation*, *cytotoxicity of natural killer cells*.

In the first group, *MPO* was found to increase with $PM_{2.5}$ in Huttunen et al. (2012), in contrast to measures of *PTX3* (indicative of the classical complement pathway) in Folino et al. (2009) and *amyloid A* in O’Toole et al. (2010) and Williams et al. (2011) which all showed no association with acute exposure.

CRP, on the other hand, had a variety of results among the 18 studies that utilized it as a measure of systemic inflammation. Of the 8 studies that found an association between CRP and short-term exposure – with results differing in lags and pollutant species. In stratifying these populations by characteristics, no clear pattern was seen. Some expected tendencies occurred: higher basal CRP values in older populations (Hertel et al., 2010; Tsai et al., 2012), those considered more susceptible (obese, prior cardiac problems, sick) (Hertel et al., 2009; Delfino et al., 2009; Luttmann-Gibson et al., 2010; Bind et al., 2012; Huttunen et al., 2012; Tsai et al. 2012) and in males more so than in females (Hertel et al., 2009; Hoffmann et al., 2009). Increases in CRP with outdoor levels of pollutants were inconsistent and unclear, with several studies reporting results only in populations that had never smoked (Panasevich et al.,

2009; Lee et al., 2011). All these tendencies had exceptions and the relationship with pollutants and lags were far from consistent. These are summarized in table S8 (supplemental material).

The inconsistency seen with *CRP* across the studies lends support to Luttmann-Gibson et al. (2010) suggestion that the mechanism by which *CRP* is influenced by air pollution may be more indirect or working within a mechanism – explaining the wide variance and inconsistencies seen in the measure of this biomarker. Their study observed autonomic dysfunction (i.e. heart rate variability) increase in subjects with elevated *CRP* with increases in SO_4^{2-} or $\text{PM}_{2.5}$. Similar differences were noticed with heart rate, where in healthy adults (lower *CRP*) heart rate increased (Liu et al., 2009b; Rich et al., 2012), in contrast to no change in those with cardiovascular disease (Liu et al. 2009b). Also lending support to this is Allen et al.'s (2011) intervention study with a HEPA filter that reported a 32% decrease of *CRP* with filter use, however this was only slightly associated (not significant) with indoor level of pollutants and had no association with outdoor pollution levels.

The second group of general inflammatory markers are the cytokines, whose role continue to be elucidated in molecular and cellular biology with their participation elucidating even further other participants, timing and processes that may be occurring. We reviewed 11 different cytokines used as biomarkers primarily for their role in the inflammatory response mechanism.

In the 14 studies evaluating *IL-6* there were inconsistent findings, similar to those seen in *CRP*. Systemic decreases of *IL-6* was seen in Allen et al. (2011) in their HEPA filter intervention, however its decreases did not significantly associate with neither indoor nor outdoor pollutants levels. This result may be reflected throughout the rest of the studies – as an indication of an indirect mechanism. Similar inconsistent trends were seen with *IL-6* as in *CRP*. The three Delfino studies in patients with cardiac history had associated elevated levels

of *IL-6* (Delfino et al., 2009; Delfino et al., 2010a; Delfino et al., 2010b) with short-term exposure whereas *IL-6* concentrations below the limit of detection were reported in Folino et al.'s (2009) and Huttunen et al. (2012) cardiac patients. Tsai et al. (2012) reported findings in a general population – though at a closer look the strength of the association was in males (p-value: 0.009 males compared to 0.015 in females) and those over the age of 55 (p-value: 0.001 over 55 compared to 0.144 in under 55) – consistent with Luttmann-Gibson et al. (2010) (a population of 92% women) and Williams et al. (2011) (all overweight postmenopausal women) reporting no association with *IL-6*. Thompson et al. (2010) as well found moderate associations with *IL-6* in their general population. A lack of association with *IL-6* and short-term exposure was also reported by Panasevich et al. (2009), Liu et al. (2009b), O'Toole et al. (2010) and Jacobs et al. (2010b).

One cytokine and its receptor, *TNF- α* found an intriguing relationship in relation to NO_2 in 12-24 hours in a population with 50% hypertensive adults (Panasevich et al., 2009). Liu et al. (2009b) found no variation of this cytokine with personal air pollution regardless of hypertensive medication use in diabetics, the receptor of this cytokine *tumor necrosis alpha receptor II (TNF-RII)*, was found in Delfino et al.'s (2010b) work to alter in relation to outdoor PAHs. Perplexingly, upon further examination found that the use of statins with PN (particulate number) had a descending trend on day 1, 5, and 9 and those not using statins had an ascending trend with $\text{PM}_{0.25}$ showing an elevated level for those not using statins, whereas those taking statins showed no association with this receptor (Delfino et al., 2009).

Interleukin-12 (IL-12) showed pollutant sensitive reactions in ischemic heart patients with $\text{PM}_{2.5}$ (Huttunen et al., 2012). *IL-1 β* showed no association with pollutants in both healthy (O'Toole et al., 2010), and susceptible populations (Peek et al., 2009; Huttunen et al., 2012), with the exception of Tsai et al. (2012) – though this should be considered with caution as 38% of the *IL-1 β* was below the detection limit of the assay, similar to the excluded results

of Huttunen et al. (2012) that had 56% below the detection limit. *Interleukin-8*, while detected had no association with air pollution (Folino et al., 2009; Huttunen et al., 2012).

Falling below the detection limit were 5 cytokines: *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)* (Folino et al., 2009), *interferon (IFN- γ)* (Folino et al., 2009; Huttunen et al., 2012), *Interleukins 2, 4 and 10* (Folino et al., 2009).

In the final group, *neutrophils, band cells, T and B-lymphocytes* – and their proliferation- showed clear effects to short-term pollution. *Neutrophils* were evaluated in 2 studies at very early points of recent exposure in Jacobs et al.'s (2010b) study with healthy cyclists riding along a busy highway for 30 minutes and in Jacobs et al.'s (2010a) diabetics after 2 hours of exposure. In Allen et al.'s (2011) HEPA filter intervention study, *band cells* were the only outcome for which there was any evidence of an indoor levoglucosan effect (see new biomarkers of exposure), with an 11.3% decrease in *band cells* per standardized reduction in levoglucosan. *Lymphocytes (T and B)* were associated with carbon load and PM_{2.5} in Jacobs et al.'s (2010a) with *lymphocyte proliferation* (as measured by *anti-CD3-stimulated lymphocyte proliferation*) inversely associated with 3-day averages of PM_{2.5} (Williams et al., 2011), however found no association with the cytotoxicity of natural killer cells.

The role of *white blood cells (WBC)* remains vague and inconclusive ranging from no association in Luttmann-Gibson et al. (2010) and Thompson et al. (2010) and reductions in ischemic heart patients at lag 1-3 (Huttunen et al., 2012) and a healthy population at lag 4-6 (Rich et al., 2012) to increases in diabetics at a lag 2 hours (Jacobs et al., 2010a).

Oxidative stress

5 biomarkers: *isoprostanes; oxidized LDL; malondialdehyde (MDA)/thiobarbituric reactive substances (TBARS); 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG); 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-oxodG)*

Early evidence of oxidative stress within different populations and lag periods was investigated in *isoprostanes* (Allen et al., 2009; Liu et al., 2009a, 2009b; Bagryantseva et al., 2010; Raulf-Heimsoth et al., 2010; Rossner et al., 2011; Allen et al., 2011; Huang et al., 2012b; Patel et al., 2013), *oxidized LDL* (Kelishadi et al., 2009), *MDA/TBARS* (Kelishadi et al., 2009; Kim et al., 2009; Liu et al., 2009a, 2009b; Bae et al., 2010; Stockfelt et al., 2012), *8-OHdG* (Marie et al., 2009; Wei et al., 2009; Allen et al., 2009; Lee et al., 2010b; Ren et al., 2010, 2011; Arayasiri et al., 2010, Huang et al., 2012a, 2012b) and *8-oxodG* (Svecova et al., 2009, Bagryantseva et al., 2010; Rossner et al., 2011, Al Zabadi et al., 2011).

Those studies which investigated evidence of lipid peroxidation in the form of *MDA/TBARS*, *oxidized LDL* and *isoprostanes* had the additional control of dietary lipids within the previous 24-48 hours most often off set through the form of fasting blood samples (Kelishadi et al., 2009; Liu et al., 2009a; Allen et al., 2009; Huang et al., 2012b). However, there are still many considerations that must be made when evaluating these biomarkers in regards to acute exposure. Table S10 (in supplementary material) denotes those studies along with the results and which controlled for dietary lipids. While it is evident that no causal link between biomarkers of oxidative stress and air pollution can be made in the acute exposure scenario, research suggests that excessive exposure to pollutants will cause ROS, however how medications, diet, alcohol use, and age modify and attempt to compensate for the increased reactive species remains unclear and will most likely remain only a vague indication of a contributory role rather than a causal one. For example, Liu et al. (2010) found *MDA* in association with *I-OHP* rather than measured air pollution levels and later considered it to be confounded with co-exposure to metals and PAHs and smoking status. However Bae et al. (2010), found that outdoor PM and *I-OHP* was synergistically associated with *MDA*.

Several well-designed and controlled studies though offer evidence of significant associations with air pollutants and acute changes in levels of oxidative stress and are

summarized in table S10 (supplemental material). As can be observed, this type of research has several advantages to being investigated in susceptible populations, such as the implicating appearance of nitrogen species in asthmatics (Liu et al., 2009; Patel et al., 2013), and the evident strength of cPAHs and PM in the production of ROS.

Some specific findings with medication use may offer insight into the mechanism of action of these pollutants, such as Liu et al.'s (2009b) study that found healthy elderly individuals had a greater interaction of PM_{2.5} and *MDA/TBARS* when compared to those with cardiovascular disease or diabetes; in this same study an association with particle metrics (PM_{2.5}) and *MDA/TBARS* was found for non-hypertensive elderly taking ASA (acetylsalicylic acid).

DNA Damage

8 biomarkers: *% of tail DNA, aberrations %AB.C, acentric fragments (Ace), DNA repair capacity, DNA strand breaks, micronuclei (MN), Olive Tail moment, tail length*

A total of 6 different studies measured evidence of DNA damage with the use of 8 different biomarkers. The *% of tail DNA* was measured in 2 different studies of occupational exposed groups matched with a control; both Al Zabadi et al.'s (2011) sewage workers and the “traffic pollution” exposed bus drivers and garage men had statistically higher damage than their control groups in short term exposure (24 and 48 hours, respectively) – with Bagryantseva et al. (2010) finding that the exposure to *benzene* and *triglycerides* increased this damage. In Arayasiri et al.'s (2010) study of traffic workers (with ambient air levels and a lag of 8 hours) *DNA repair capacity* was reported to be reduced significantly in relation to benzene exposure, along with an increase in *olive tail movement* with both exposure to benzene and 1,3-butadiene – though no impact on *tail length*. While they found that 1,3 butadiene and benzene exposure was suggested in causing an increase in *DNA strand breaks*, Huang et al.'s (2012a) study with traffic workers found no relation significant differences in

relation to *1-OHP*. In Rossnerova et al.'s (2009) study with policemen a significant association of *MN frequencies* and personal exposure to c-PAHs and xylene, supporting Al Zabadi et al.'s (2011) finding with sewage workers significantly higher percentage of micronuclei compared with the control group. *Acentric fragments* were not found to be associated with short-term exposure in Rossner et al. (2011) study with policemen.

Long-term effects of air pollution

Beyond the initial phase of exposure, researchers have investigated the more long-term effects of air pollution on the human body. Their investigations have important implications in the manner in which our immune system is changing in response to chronic exposure to pollution. Another key to air pollution research are those that are exposed to extreme levels of exposure such as indoor cooking with biomass or occupationally exposed workers of mines. These studies offer a bridge of the participation of the immune system in acute inflammation to its long-term effect of the immune system of the chronically exposed: offering insight into the mechanisms that may be underway in the process.

Unlike research in the acute inflammatory phase, which looks at the changes of our body in relation to fluctuations to pollutants, the studies investigating the effects of long-term exposure attempt to match and compare at least two different exposure scenarios (one heavily polluted and a control group). The differences between these two groups would as such represent the immunological changes within the system under chronic exposure to pollutants. Within chronic exposure there exists different populations which represent different phases and stages of our systems in attempting to react / resolve / adapt to a changing environment. Extreme exposure which would represent an immune system that is in constant bombardment of pollution daily such as those who have indoor exposure to biomass burning, i.e., use of wood for heating or cooking. This exposure scenario would not necessarily represent

adaptation as it is being exposed to such extreme levels that the system would be in a state of chronic inflammation. In contrast, chronic outdoor exposure would represent the exposure of a developing system – such as in children – whose immune system would attempt to adapt from a chronic state of inflammation to recognizing (or not) pollutants as a non-inflammatory agent. Occupationally – exposed individuals would not likely have been exposed at the same levels during their youth and as such their immune system adaptation would be taking place at a later point in their development. All of these chronically exposed groups display different points of the immunological view, such as extreme would most likely be demonstrating high levels of acute and systemic inflammation, it would be in an exaggerated form, chronic outdoor inflammation would represent an immunological system in attempts to adapt to polluted air, and occupationally exposed would represent possibly a mixture of them both though more pollutant specific to their particular pollutant exposure.

The Extreme

Several age-matched studies were done examining this exposure scenario, mostly using those exposed to high levels of biomass burning from cooking or heating within the home environment. Not surprisingly, the 6 studies done in these extreme exposure conditions found consistent results amongst themselves with elevated levels being sometimes double or triple than that of their matched controls. Table 2 represents the immunological profile of individuals under this exposure scenario. This profile offers clues into the different mechanisms in our immune system that may be accompanying exposure to biomass burning.

Notably, *inducible nitric oxide synthase (iNOS)* and participants in its activation, *p-AKT Ser⁴⁷³* and *p-AKT Thr³⁰⁸*, which control key cellular processes like glucose metabolism, cell cycle progression, apoptosis and cell survival and are linked to various mechanisms of carcinogenesis (Al-Bazz et al., 2009; Al-Saad et al., 2009; Balsara et al., 2004; Chun et al., 2003; Tsao et al., 2003; Watanabe et al., 2009) and inflammation (Beaver et al., 2009; Lee et

al., 2010a; Mondal et al., 2010b) were found to be elevated with statistically significant increases of phosphorylated forms of Akt protein (pAkt^{ser473} and p-Akt^{thr308}) in peripheral blood lymphocytes, airway epithelial cells, alveolar macrophages and neutrophils in sputum of biomass cookers with Akt activation positively associated with particulate pollution even after controlling potential confounders. This provides strong evidence of protein oxidative stress mechanisms.

Of interest as well is cardiolipin, a component of the inner mitochondrial membrane that serves as an insulator and stabilizes the activity of protein complexes important to the electron transport chain. Two anticardiolipin antibodies associated with atherosclerosis and blood clots in veins or arteries (Sherer et al., 2000, 2001) *immunoglobulin G (IgG)* involved in hypersensitivity I (allergy), II (cytotoxic, antibody dependent), III (immune complex disease) and V (receptor mediated autoimmune diseases) and *immunoglobulin, IgM*, also involved in hypersensitivity type II, III and V were both found to be elevated in extreme exposure conditions (Dutta et al., 2011).

There was a significant increase in *neutrophil band cells* (Allen et al., 2011) that were slightly more pronounced in men, obese and young – Identifying a possible greater susceptibility in these populations.

DNA damage was consistently confirmed in studies of extreme exposure with *% DNA tail, tail length, olive tail movement* (Mondal et al., 2010a, 2011) and *double DNA strand breaks* (Mondal et al. 2010a). However, as well, increases were accompanied in *DNA repair proteins* Mre11 and Ku70 (Mondal et al. 2010a).

Occupationally exposed

Within those exposed to extreme levels of pollutants are those that are occupationally exposed. These studies are summarized in table 2-3 and organized by type of work. The results amongst this group are more varying as the exposure conditions and related pollutants

are varied, as well as the degree of exposure ranging from those working underground in mines or incinerating hospital residues to bus drivers.

Biomarkers of oxidative stress in these populations not only must consider dietary lipid peroxidation but also those are comparable only populations of matched age and lifestyle. Many of these studies while finding results and relationships between pollutants and oxidative stress, must be considered with caution as lifestyle may be a difficult factor to match. Even so, *8-oxodG* was consistently elevated in the occupationally exposed (Marczynski et al., 2009; Bagryantseva et al., 2010; Rossner et al., 2011), and while sewage workers did not find statistically significant levels, there was a tendency (Al Zabadi et al., 2011).

Notably two intervention studies with the use of anti-oxidants showed indirectly the varying levels of oxidative stress from pre and post measurements demonstrating reduced levels of *protein thiols* related to pollution (Possamai et al., 2010; Wilhelm Filho et al., 2010). Another noteworthy finding was the enzyme *matrix metalloproteinase-9 (MMP)*, conjectured to be associated with aortic aneurysms was found in elevated levels in healthy shipyard workers whom neither had known acute or chronic diseases in comparison to an urban control group (Bulog et al., 2011).

DNA damage was confirmed in those occupational exposures through several different measures including *damage index* (León-Mejía et al., 2011), *leukocyte telomere length (LTL)* (Hoxha et al., 2009), *% DNA tail* (Bagryantseva et al., 2010; Al Zabadi et al., 2011; León-Mejía et al., 2011), *tail length* (Arayasiri et al., 2010; León-Mejía et al., 2011; Ruchirawat et al., 2010), *micronucleus (MN)* (Al Zabadi et al., 2011; León-Mejía et al., 2011), and *DNA adducts* (Peluso et al., 2010; Ruchirawat et al., 2010). Seasonal differences in damage were investigated finding differences in the *% of aberrant cells* significantly affected by exposure to B[a]P in spring than in winter (Rossner et al., 2011).

Chronically exposed

It is the study of the chronically exposed that demonstrates the ominous effects of air pollution on the human system. The long-term effects on the developing immune system will attempt to adapt to a chronic level of inflammation and while in some cases this adaptation may allow for a relief of the acute inflammatory state, it often has dire consequences in the long term. Our review of those studies evaluating chronic exposure shows some similarities to mechanisms in acute inflammation, at the same time demonstrating a shift in the fundamental immune profile, as well the consequences of these shifts in the form of damage to proteins, DNA and lipids, and the resulting diseases associated with these shifts.

We have presented the chronically exposed immune profile along with those biomarkers that have been evaluated in the human system in table 2, where we can see several alterations within the immune system in those chronically exposed to high levels of pollution. Several links towards diabetes have been made through the use of *fasting glucose level*, *hemoglobin* and *HOMA-IR* however with inconsistent results across age groups. Atherosclerosis as expected as well shows several signs within the immune profile of those chronically exposed. Notably, work by Calderón-Guarcidueñas et al. (2011) has linked neurodegenerative conformational disorders (Surguchev and Surguchov, 2010) to chronic exposure of air pollution through the biomarkers *α-synuclein* and *β amyloid₁₋₄₂* associated with Parkinson's (Tong et al., 2010; Marques and Outeiro, 2012) and Alzheimer's diseases (Bazenet and Lovestone, 2012), respectively.

Several participants in the mechanisms have been implicated in the presence of either increases or decreases. Of particular interest are *CD163*, the LPS recognition complex *lipopolysaccharide-binding protein (LBP)*, its main LBP counterpart CD14, in both soluble form *sCD14* and anchored by a glycosylphosphatidylinositol tail of monocytes (*mCD14+monocytes*) as well as other LPS-binding proteins, *heat shock protein 60 (HSP60)*

and *lactoferrin (LF)*. As demonstrated in table 2 other increases were found in *monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)*, *transforming growth factor beta (TGF-beta)*, and *macrophage-derived chemokine (MDC)* (Calderón-Garcidueñas et al., 2009).

Damage on DNA, lipids and proteins was consistently confirmed in studies of chronic exposure with *prostaglandin E metabolite* (Calderón-Garcidueñas et al., 2009), *leukocytes telemeter length (LTL)* (McCracken et al., 2010), *micronucleus (MN)* (Pedersen et al., 2009) and *DNA adducts* (Pedersen et al., 2009; Obolenskaya et al., 2010; Ayi-Fanou et al., 2011) (table 3). Long-term neural effects were measured by *brainstem auditory evoked potential (BAEPs)* demonstrating delays and longer latencies in chronically exposed children (Calderón-Garcidueñas et al., 2011).

One area of research that demonstrated another dimension of long-term effects of chronic exposure were the studies done amongst generations, such as those conducted in pregnant women and their newborns. While some studies such as Obolenskaya et al. (2010), which investigated placenta from pregnant women in different exposed populations of radiation, extreme, mild, and traffic-related air pollution along with a control group had many variables that needed to be considered and the results remained difficult to interpret based upon the varied results which showed no obvious pattern; other studies such as Mohorovic et al. (2010) found elevated *methylmoglobin* in a well-controlled study of matched pregnant women from the same area linked as well with a statistically significant increase in stillbirths in the exposure group. Another study of pregnant women and umbilical cords found that the maternal *MN frequencies* were related to age and significantly higher than those found in newborns. However, within the newborn populations there was a significantly higher MN frequency in those whose mothers were exposed to high urban traffic (Pedersen et al., 2009).

Discussion/Comments of Biomarkers of effect

Our review of the 55 articles examining effects to short term exposure of air pollutants uncovered a broad, multi-dimensional area of research spanning multiple bodily systems. Unlike exposure, which focuses on chemical components and their related detection in the human body, this area focuses on participants within our immune system and their relationship with ambient gases and the size and composition of atmospheric particulate matter (the suspended pieces of solid or liquid matter). The complexity of the area could not be understated: this body of research touches upon not only the presence of biomarkers, but several other dimensions investigating causal components of mixtures, systemic mechanisms and environmental influences. To aptly present this data we have included table S3 to table S10 in the supplemental material to accompany the results presented in the above text. Our review of these papers discusses the use of 91 different biomarkers, presented in general systems of airways, inflammation (general and neuro), ocular, early endothelial dysfunction, coagulation, atherosclerosis, autonomic nervous system, oxidative stress and DNA damage – and whether they were found or not. We would be amiss without mentioning and discussing the importance of the time points (lags), which has implication in the direct and indirect effects of air pollution and their association with the different pollutants. We suggest that the only way to use these biomarkers and to correctly interpret this area of research – a clearer understanding and consideration of the specific pollutants and the association between primary and secondary pollutants is essential.

The time points (lags) and specific pollutant components (Primary/Secondary) investigated directly influence the capacity of measuring and interpreting the biomarkers used. We present the results of all the acute exposure studies by lag and component in table S3 to table S10, offering a reference of the studies findings by biomarker. While the association amongst several biomarkers has been convincingly established (i.e., *CC16*,

platelet aggregation, *FeNO*), the timing of their appearance and its differences across different populations offers reference points to follow and/or compare for future studies – emphasizing their importance to consider for study design.

We found that interpretation of the results required consideration of several factors, such as: differences in biomarker measurement (when different methods are commonly used – fibrinogen, *FeNO*), sample type (i.e., blood, urine, EBC) participants' used (i.e., healthy, children, diabetic), personal characteristics (use of medication, smoking status, age). Based upon the review of these recent studies, we do not recommend the use of online methodology to measure *FeNO* in the field until further studies are conducted to validate the online methodology; as we suspect that the discrepancy between the methods used to quantify *FeNO* (either by online or offline methods) accounts for the division across studies in associations with pollutant levels. Fibrinogen also presented several difficulties in its interpretation and comparison and effectiveness in measures (Cunningham et al., 2012), suggesting the need for greater consistency in its measurement.

Air pollution studies exploring biomarkers in susceptible populations are an area of important interest. It reflects both the possible vulnerabilities of specific populations as well as the likely exacerbation or contributory effects of these conditions. Clearly the population studied is an important factor, though the interpretation of the evidence of some biomarkers (i.e., *sICAM*, *sVCAM* = NAS) must be considered with caution when the only findings reported are from the same populations of individuals; regardless of them being across 4 different studies investigating different lag times. As such, there is a need for confirmation of biomarkers such as *sICAM* and *sVCAM* as they are important findings - being indicative of processes such as atherosclerosis - with other groups. In addition, studies that used and reported extensive stratification offered important clues into gender bias (Liu et al., 2009b; Hertel et al., 2009; Hoffmann et al., 2009; Tsai et al., 2012) and influence of medication (Liu

et al. 2009b; Hertel et al., 2009; Folino et al., 2009; Dvonch et al., 2009; Delfino et al., 2009); we propose stratification must play a stronger role in the studies evaluating environmental influences to better accommodate results that can be effectively compared with other studies.

Integrating this area of research (short-term exposure) will stupefy even the most able puzzle enthusiasts (and immunologists). We have composed Box 2 to offer a visual representation of several of the findings that offer clues into the complex relationships found across different types of populations, biomarkers and pollutant components (including primary and secondary aerosols).

Oxidative stress, in general, is indicative of an imbalance and excess of free radical oxygen species, as such the response to air pollutants must accompany a number of factors such as age, life style factors such as stress, smoking and diet; with the overall immune health status of individuals playing an active role in attempting to compensate these damaging radicals. The process of oxidative stress damaging proteins, lipids and DNA all have particular mitigating factors that must be considered, most notably lipid peroxidation of dietary lipids will be a confound unless otherwise controlled. Nevertheless, there is growing evidence from studies that suggests the different components of air pollution impact biomarkers of oxidative stress differently (Ghio et al., 2012). Many factors such as disease, medication and not the least age, all must be considered when interpreting associations with air pollution and oxidative stress. Associations in the acute exposure scenario may or may not offer clues into the degree of reactive oxygen species generation by the different components, however an increase and or associated levels of oxidative stress biomarkers may identify those pollutants or components of pollutants that are most damaging in our system (i.e. causing the most ROS) and those that are specific to a susceptible population indicating the immediate influx of ROS that our body is incapable of compensating in time. On the other

hand, research in the area of long-term effects provides convincing evidence that many of the adverse effects of air pollution exposure are through the oxidative stress pathway.

The review of the 48 long-term exposure scenarios provided strong evidence towards systemic inflammation and a down regulation of several biomarkers in efforts to reduce a chronic state of inflammation. Several disease processes are linked including cancer, vestibular, cardiovascular and respiratory disorders.

As demonstrated in the table 2, several immune indicators were consistently elevated across exposure scenario such as in *TNF- α* , *sVCAM-1*, *sICAM-1*, *blood pressure*, and *HOMA-IR*. Several biomarkers showed inverse relationships across exposure type (i.e., *IL-8* and *CC16*) or in particular susceptible populations, which may represent a type of compensatory measure in these down-regulations. In addition, several biomarkers only showed alterations in the chronically and occupationally exposed groups such as *NK cells*, *prostaglandin* and *SP-D*. Indications of oxidative stress were evident across exposure type, with consistent increases in *MDA/TBARS*, *protein carbonyls*, and *oxidized-LDL* and decreases in *superoxide dismutase (SOD)* and *glutathione peroxidase (GPx)*. DNA damage was consistent as well across the chronically, occupationally and extremely exposed groups with significantly elevated levels of DNA strand and olive tail movement.

Studies of the long-term effects of chronic exposure showed similar complexity in regards to time – though rather than days or hours, changes across years, age, length and type of exposure. In chronically exposed cohorts a difference in 2-3 years of age can create doubt when interpreting results in even the most well-designed of studies (Fan et al., 2012). In our review of these studies, we saw evidence of a changing immune system with several biomarkers appearing to have conclusive results one day and become inconclusive with the next study. The best illustration of this are the studies of Calderón-Garcidueñas et al. (2009 and 2011) with cohorts of MC children; in 2009, they found a strong significant decrease

($p < 0.0001$) of *GM-CSF*, whose difference was absent in her 2011; this is one of several biomarkers that changed between these studies, others include: *IFN- γ* , *IL-10*, *lymphocytes*, *monocytes*, *neutrophils*, *WBC* and *HLA-DR*. Whether these differences are within the same cohort or not (appears to have at least an overlap of the population), it brings to light a bigger question to consider: adaptation.

In a system that reacts so dynamically as to show differences from one exposure scenario to another – it certainly lends to its ability to adapt across a year, several years and most definitely a lifetime to reach the greatest survival strategy of the organism. This transformative ability is the emerging conundrum within the use of biomarkers in air pollution research: the whirlwind of tools of adaptation that the human body has at its disposal - making research in this area ever more complicating. Research must extend beyond just the complexity of the biomarker (effect and exposure) and consider polymorphisms - from that now has emerged epigenetic interactions. Several study designs we reviewed have begun to apply these considerations such as in Calderón-Guarcidueñas et al. (2009) which needed to exclude Asp299Gly TLR4 in LPS; or addressed considerations in evaluating biomarkers such as *IL-6* (Ljungman et al., 2009), *fibrinogen* (Jacquemin et al., 2008; Ljungman et al., 2009), *sVCAM-1* and *sICAM* (Wilker et al., 2011), *Glutathione-S-Transferase (GST)* (Obolenskaya et al., 2010) among others.

Methodology and use of this article

Our review of biomarkers used in air pollution research covered 119 studies and 234 different biomarkers. We believe this to be the first article published of this type with such an extensive scope in a field as vast as air pollution. The benefit of such a panoramic view offers the ability for researchers and students in the area of air pollution utilizing biomarkers with human subjects is to contextualize themselves within the field – and hopefully offer new ideas, strategies and considerations in future studies. In an epic of rapid turn-around in

publications and paradigms, it becomes ever more important to grasp the scope of recent research findings. We believe this type of “cross-sectional review” offers the ability for researchers from different areas of air pollution research who utilize biomarkers in human research to create connections across the different areas and themes far better than a “longitudinal review” which investigates a single area to greater depth.

The limitations of this review were predominantly the “key words” chosen to search. Clearly choosing the appropriate key words are instrumental in the retrieval of appropriate articles, however in following the guidelines of PRISM for systematic reviews, we performed an thorough bibliographic review of the articles included in the study. This single measure of bibliography reviews, we suspect mitigated this limitation; as seen in Box 2 we had a greater portion of the studies reviewed originate from the reviews of the bibliographies of included articles.

The intention of this article was not meant to be an extensive review of all biomarkers in the field – as this would be more appropriate for a book – but is deliberately restricted to focus on the use of biomarkers in recent air pollution research. A further restriction to our review was placed early on in our abstract review process – with polymorphisms.

As mentioned in the discussion of biomarkers of effect, these are beginning to play a larger role in study designs and interpretation of study findings and had originally intended to include this dimension. The complexity of the subject matter and the scope of polymorphisms affecting the biomarkers we presented were limited in our search criteria and time frame; thus, we decided early on in our review that we would be unable to provide a sufficient review of the articles to provide a balanced presentation and narrowed our review to include only the above biomarkers. And we readily acknowledge that the discussion of biomarkers cannot be fully done today without the inclusion of polymorphisms and the genetic components involved in the expression of these biomarkers (Huang et al., 2011).

Comments of authors: Interpretation of results

Research, in general, has needed to incorporate in the interpretation of findings and study design the dimension of the human exposome – the totality of human environmental (i.e. non-genetic) exposures from conception onwards, complementing the genome – and this applies to our interpretation of this review. After reading and re-reading sometimes dozens of times these 119 studies, the importance of the human exposome in this field becomes more evident with each study. As scientists uncover the mechanisms of how our immune system reacts to air pollutants, these findings enter into not one web-like process but a multitude of web-like processes in which the organism is not only adapting to pollutants but to equally vital processes and human factors such as stress, psychological health, diet, emergence of intellectual versus physical labor – creating a rapidly changing biological state for the human body, all of which have similar complexities surrounding their incorporation into our being.

While the analysis of the immune profile offers evidence for contributing to the pathologies of various different disease such as diabetes (Hong et al., 2009), vestibular diseases (Calderón-Guarcidueñas et al., 2013), respiratory problems (Sava and Carlsten, 2012), cardiovascular disease, and thrombosis (Brook et al., 2010), it remains limited in its ability to capture the true effect of chronic exposure. We recognize that immune system is but one large dynamic mechanism whose primary goal is to survive within the given environment at the given moment. The adaptation of this dynamic system to a changing composition of air so vital for its survival has undoubtedly provoked an emergence of strategies for its adaptation, and is evident in the emergence of new pathologies. It is not to say that these new pathologies are in anyway worse than a system that remains in a chronic state of acute inflammation or is awaiting the return of clean air. The persistency of these diseases and whether these new pathologies represent a prolonged or more successful survival for us is beyond perhaps our full understanding at this time.

The role of biomarkers in research is but clues to the pathways in which our system is attempting to adapt and should thus be considered like individual letters of an alphabet that we have not fully deciphered in a sentence, which has a meaning that we do not yet understand other than its objective to be written is for us to survive.

References

Agricola, G. 1556. De Re Metallica.

Al Zabadi, H., Ferrari, L., Sari-Minodier, I., Kerautret, M-A., Tiberguent, A., Paris, C., Zmirou-Navier, D. 2011. Integrated exposure assessment of sewage workers to genotoxicants: an urinary biomarker approach and oxidative stress evaluation. *Environ. Heal. a Glob. access Sci. source* 10: 23.

Al-Bazz, Y. O., Brown, B. L., Underwood, J. C. E., Stewart, R. L., Dobson, P. R. M. 2009. Immuno-analysis of phospho-Akt in primary human breast cancers. *Int. J. Oncol.* 35: 1159–67.

Alexeeff, S. E., Coull, B. A., Gryparis, A., Suh, H., Sparrow, D., Vokonas, P. S., Schwartz, J. 2011. Medium-term exposure to traffic-related air pollution and markers of inflammation and endothelial function. *Environ. Health Perspect.* 119: 481–6.

Allen, J., Trenga, C. A., Peretz, A., Sullivan, J. H., Carlsten, C. C., Kaufman, J. D. 2009. Effect of diesel exhaust inhalation on antioxidant and oxidative stress responses in adults with metabolic syndrome. *Inhal. Toxicol.* 21: 1061–7.

Allen, R. W., Carlsten, C., Karlen, B., Leckie, S., van Eeden, S., Vedal, S., Wong, I., Brauer, M. 2011. An air filter intervention study of endothelial function among healthy adults in a woodsmoke-impacted community. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183: 1222–30.

- Al-Saad, S., Donnem, T., Al-Shibli, K., Persson, M., Bremnes, R. M., Busund L-T. 2009. Diverse prognostic roles of Akt isoforms, PTEN and PI3K in tumor epithelial cells and stromal compartment in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 29: 4175–83.
- Anon. 2007. [Naphthalene/naphthols and human biomonitoring. Position of the Human Biomonitoring Committee of the Federal Environmental Office] (in German). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 50:1357–64.
- Arayasiri, M., Mahidol, C., Navasumrit, P., Autrup, H., Ruchirawat, M. 2010. Biomonitoring of benzene and 1,3-butadiene exposure and early biological effects in traffic policemen. *Sci. Total Environ.* 408: 4855–62.
- Avila Júnior, S., Possamai, F. P., Budni, P., Backes, P., Parisotto, E. B., Rizelio, V. M., Torres, M. A., Colepicolo, P., Wilhelm Filho, D. 2009. Occupational airborne contamination in south Brazil: 1. Oxidative stress detected in the blood of coal miners. *Ecotoxicology.* 18: 1150–7.
- Ayi-Fanou L, Avogbe PH, Fayomi B, Keith G, Hountondji C, Creppy EE, Autrup, H., Rihn, B. H., Sanni, A. 2011. DNA-adducts in subjects exposed to urban air pollution by benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Cotonou, Benin. *Environ. Toxicol.* 26: 93–102.
- Aylward, L. L., Hays, S. M., Smolders, R., Koch, H. M., Cocker, J., Jones, K., Warren, N., Levy, L., Bevan, R. 2014. Sources of variability in biomarker concentrations. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 17: 45-61.
- Bae, S., Pan, X-C., Kim, S-Y., Park, K., Kim, Y-H., Kim, H., Hong, Y-C. 2010. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. *Environ. Health Perspect.* 118: 579–83.
- Bagryantseva, Y., Novotna, B., Rossner, P., Chvatalova, I., Milcova, A., Svecova, V., Lnenickova, Z., Solansky, I., Sram, R. J.. 2010. Oxidative damage to biological

- macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms. *Toxicol. Lett.* 199: 60–8.
- Balsara, B. R., Pei, J., Mitsuuchi, Y., Page, R., Klein-Szanto, A., Wang, H., Unger, M., Testa, J. R. 2004. Frequent activation of AKT in non-small cell lung carcinomas and preneoplastic bronchial lesions. *Carcinogenesis* 25: 2053–9.
- Bazenet, C., Lovestone, S. 2012. Plasma biomarkers for Alzheimer’s disease: much needed but tough to find. *Biomark. Med.* 6: 441–54.
- Beaver, L. M., Stemmy, E. J., Constant, S. L., Schwartz, A., Little, L. G., Gigley, J. P., Chun, G., Sugden, K. D., Ceryak, S. M., Patierno, S. R. 2009. Lung injury, inflammation and Akt signaling following inhalation of particulate hexavalent chromium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 235: 47–56.
- Behndig, A. F., Larsson, N., Brown, J. L., Stenfors, N., Helleday, R., Duggan, S. T., Dove, R. E., Wilson, S. J., Sandstrom, T., Kelly, F. J., Mudway, I. S., Blomberg, A. 2011. Proinflammatory doses of diesel exhaust in healthy subjects fail to elicit equivalent or augmented airway inflammation in subjects with asthma. *Thorax.* 66: 12–9.
- Bind, M-A., Baccarelli, A., Zanobetti, A., Tarantini, L., Suh, H., Vokonas, P., Schwartz, J. 2012. Air pollution and markers of coagulation, inflammation, and endothelial function: associations and epigene-environment interactions in an elderly cohort. *Epidemiology* 23: 332–40.
- Brook, R. D., Rajagopalan, S., Pope, C. A., Brook, J. R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A. V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R. V., Mittleman, M. A., Peters, A., Siscovick, D., Smith, S. C. Jr., Whitsel, L., Kaufman, J. D., American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, Council on the Kidney in Cardiovascular Disease, and Council on Nutritional, Physical Activity and Metabolism. 2010. Particulate matter air

- pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 121: 2331–78.
- Brotman B, Prince AM. 1988. Gamma-glutamyltransferase as a potential surrogate marker for detection of the non-A, non-B carrier state. *Vox Sang.* 54: 144–7.
- Bulog, A., Mićović, V., Suljić, P., Mrakovčić-Sutić, I. 2011. Determination of enzyme matrix metalloproteinases-9 and immune status as indicators of development of the environmental diseases. *Coll. Antropol.* 35 Suppl 2: 153–6.
- Calderón-Garcidueñas, L., D'Angiulli, A., Kulesza, R. J., Torres-Jardón, R., Osnaya, N., Romero, L., Keefe, S., Herritt, L., Brooks, D. M., Avila-Ramirez, J., Delgado-Chávez, R., Medina-Cortina, H., González-González, L. O. 2011. Air pollution is associated with brainstem auditory nuclei pathology and delayed brainstem auditory evoked potentials. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev. Neurosci.* 29: 365–75.
- Calderón-Garcidueñas, L., Franco-Lira, M., Mora-Tiscareño, A., Medina-Cortina, H., Torres-Jardón, R., Kavanaugh, M. 2013. Early Alzheimer's and Parkinson's disease pathology in urban children: Friend versus Foe responses--it is time to face the evidence. *Biomed Res. Int.* 2013: 161687.
- Calderón-Garcidueñas, L., Macías-Parra, M., Hoffmann, H. J., Valencia-Salazar, G., Henríquez-Roldán, C., Osnaya, N., Monte, O. C., Barrangán-Mejía, G., Villarreal-Calderon, R., Romero, L., Granada-Macías, M., Torres-Jardón, R., Medina-Cortina, H., Maronpot, R. R. 2009. Immunotoxicity and environment: immunodysregulation and systemic inflammation in children. *Toxicol. Pathol.* 37: 161–9.
- Campo, L., Cattaneo, A., Consonni, D., Scibetta, L., Costamagna, P., Cavallo, D. M., Bertazzi, P. A., Fustinoni, S. 2011. Urinary methyl tert-butyl ether and benzene as biomarkers of exposure to urban traffic. *Environ. Int.* 37: 404–11.

- Chuang, K.-J., Yan, Y.-H., Chiu, S.-Y., Cheng, T.-J. 2011. Long-term air pollution exposure and risk factors for cardiovascular diseases among the elderly in Taiwan. *Occup. Environ. Med.* 68: 64–8.
- Chun, K.-H., Kosmeder, J. W., Sun, S., Pezzuto, J. M., Lotan, R., Hong, W. K., Lee, H. Y. 2003. Effects of deguelin on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and apoptosis in premalignant human bronchial epithelial cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 95: 291–302.
- Cunningham, M. T., Olson, J. D., Chandler, W. L., Van Cott, E. M., Eby, C. S., Teruya, J., Hollensead, S. C., Adcock, D. M., Allison, P. M., Kottke-Marchant, K. K., Smith, M. D. 2012. External quality assurance of fibrinogen assays using normal plasma: results of the 2008 College of American Pathologists proficiency testing program in coagulation. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 136: 789–95.
- De Hartog, J.J., Lanke, T., Timonen, K.L., Hoek, G., Janssen, N. a H., Ibalde-Mulli, A., Peters, A., Heinrich, J., Tarkiainen, T.H., van Grieken, R., van Wijnen, J.H., Brunekreef, B., Pekkanen, J. 2009. Associations between PM_{2.5} and heart rate variability are modified by particle composition and beta-blocker use in patients with coronary heart disease. *Environ. Health Perspect.* 117: 105–11.
- Delfino, R. J., Staimer, N., Tjoa, T., Arhami, M., Polidori, A., Gillen, D. L., Kleinman, M. T., Schauer, J. J., Sioutas, C. 2010a. Association of biomarkers of systemic inflammation with organic components and source tracers in quasi-ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* 118: 756–62.
- Delfino, R. J., Staimer, N., Tjoa, T., Arhami, M., Polidori, A., Gillen, D. L., George, S. C., Shafer, M. M., Schauer, J. J., Sioutas, C. 2010b. Associations of primary and secondary organic aerosols with airway and systemic inflammation in an elderly panel cohort. *Epidemiology* 21: 892–902.

- Delfino, R. J., Staimer, N., Tjoa, T., Gillen, D. L., Polidori, A., Arhami, M., Kleinman, M. T., Vaziri, N. D., Longhurst, J., Sioutas, C. 2009. Air pollution exposures and circulating biomarkers of effect in a susceptible population: clues to potential causal component mixtures and mechanisms. *Environ. Health Perspect.* 117: 1232–8.
- Delfino, R. J., Tjoa, T., Gillen, D. L., Staimer, N., Polidori, A., Arhami, M., Jamner, L., Sioutas, C., Longhurst, J. 2010c. Traffic-related air pollution and blood pressure in elderly subjects with coronary artery disease. *Epidemiology.* 21: 396–40.
- Dutta, A., Mukherjee, B., Das, D., Banerjee, A., Ray, M. R. 2011. Hypertension with elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and anticardiolipin antibody in the circulation of premenopausal Indian women chronically exposed to biomass smoke during cooking. *Indoor Air* 21: 165–76.
- Dvonch, J.T., Kannan, S., Schulz, A.J., Keeler, G., Mentz, G., House, J., Benjamin, A., Max, P., Bard, R.L., and Brook, R.D., 2009. Acute effects of ambient particulate matter on blood pressure: differential effects across urban communities. *Hypertension*, 53 (5), 853–859
- Fan, R., Wang, D., Mao, C., Ou, S., Lian, Z., Huang, S., Lin, Q., Ding, R., She, J. 2012. Preliminary study of children's exposure to PAHs and its association with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Guangzhou, China. *Environ. Int.* 42: 53–8.
- Firket, J. 1936. Fog along the Meuse Valley. *Trans Faraday Soc* 32: 1192–1197.
- Flamant-Hulin, M., Caillaud, D., Sacco, P., Penard-Morand, C., Annesi-Maesano, I. 2010. Air pollution and increased levels of fractional exhaled nitric oxide in children with no history of airway damage. *J. Toxicol. Environ. Health. A* 73: 272–83.
- Folino, A.F., Scapellato, M.L., Canova, C., Maestrelli, P., Bertorelli, G., Simonato, L., Iliceto, S., Lotti, M., 2009. Individual exposure to particulate matter and the short-term

- arrhythmic and autonomic profiles in patients with myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 30: 1614–20.
- Forbes, L. J. L., Patel, M. D., Rudnicka, A. R., Cook, D. G, Bush, T., Stedman, J. R., Whincup, P. H., Strachan, D. P., Anderson, R. H. 2009. Chronic exposure to outdoor air pollution and markers of systemic inflammation. *Epidemiology* 20: 245–53.
- Freire, C., Abril, A., Fernández, M. F., Ramos, R., Estarlich, M., Manrique, A., Aguirre, A., Ibarluzea, J., Olea, N. 2009. Urinary 1-hydroxypyrene and PAH exposure in 4-year-old Spanish children. *Sci. Total Environ.* 407: 1562–9.
- Fustinoni, S., Rossella, F., Campo, L., Mercadante, R., Bertazzi, P. A. 2010. Urinary BTEX, MTBE and naphthalene as biomarkers to gain environmental exposure profiles of the general population. *Sci. Total Environ.* 408: 2840–9.
- Gaines, L. G. T., Fent, K. W., Flack, S. L., Thomasen, J. M., Ball, L. M., Richardson, D. B., Ding, K., Whittaker, S. G., Nylander-French, L. A. 2010. Urine 1,6-hexamethylene diamine (HDA) levels among workers exposed to 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI). *Ann. Occup. Hyg.* 54: 678–91.
- Ghio, A. J., Carraway, M. S., Madden, M. C. 2012. Composition of air pollution particles and oxidative stress in cells, tissues and living systems. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 15: 1-21.
- Grob, N. M., Aytakin, M., Dweik, R. A. 2008. Biomarkers in exhaled breath condensate: a review of collection, processing and analysis. *J. Breath Res.* 2: 037004.
- Han, Y.-Y., Donovan, M., and Sung, F.-C. 2010. Increased urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion in long-distance bus drivers in Taiwan. *Chemosphere.* 79: 942–8.

- Hemat, H., Wittsiepe, J., Wilhelm, M., Müller, J., Göen, T. 2012. High levels of 1-hydroxypyrene and hydroxyphenanthrenes in urine of children and adults from Afghanistan. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 22: 46–51.
- Hertel, S., Viehmann, A., Moebus, S., Mann, K., Bröcker-Preuss, M., Möhlenkamp, S., Nonnemacher, M., Erbel, R., Jakobs, H., Memmesheimer, M., Jöckel, K.-H., Hoffmann, B. 2010. Influence of short-term exposure to ultrafine and fine particles on systemic inflammation. *Eur. J. Epidemiol.* 25: 581–92.
- Hildebrandt, K., Ruckerl, R., Koenig, W., Schneider, A., Pitz, M., Heinrich, J., Marder, V., Frampton, M., Oberdörster, G., Wichmann, H. E., Peters, A. 2009. Short-term effects of air pollution: a panel study of blood markers in patients with chronic pulmonary disease. *Part. Fibre Toxicol.* 6: 25.
- Hoet, P., De Smedt, E., Ferrari, M., Imbriani, M., Maestri, L., Negri, S., De Wilde, P., Lison, D., Haufroid, V. 2009. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 82: 985–95.
- Hoffmann, B., Moebus, S., Dragano, N., Stang, A., Möhlenkamp, S., Schmermund, A., Memmesheimer, M., Bröcker-Preuss, M., Mann, K., Erbel, R., Jöckel, K. H. 2009. Chronic residential exposure to particulate matter air pollution and systemic inflammatory markers. *Environ. Health Perspect.* 117: 1302–8.
- Hong, Y-C., Park, E-Y., Park, M-S., Ko, J. A., Oh, S-Y., Kim, H., Lee, K. H., Leem, J. H., Ha, E. H. 2009. Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicol. Lett.* 184: 139–44.
- Hoxha, M., Dioni, L., Bonzini, M., Pesatori, A. C., Fustinoni, S., Cavallo, D., Carugno, M., Albetti, B., Marinelli, B., Schwartz, J., Bertazzi, P. A., Baccarelli, A. 2009. Association

- between leukocyte telomere shortening and exposure to traffic pollution: a cross-sectional study on traffic officers and indoor office workers. *Environ. Health* 8: 41.
- Huang, H-B., Lai, C-H., Chen, G-W., Lin, Y-Y., Jaakkola, J. J., Liou, S-H., Wang, S. L. 2012a. Traffic-related air pollution and DNA damage: a longitudinal study in Taiwanese traffic conductors. *PLoS One* 7: e37412.
- Huang, W., Wang, G., Lu, S-E., Kipen, H., Wang, Y., Hu, M., Lin, W., Rich, D., Ohman-Strickland, P., Diehl, S. R., Zhu, P., Tong, J., Gong, J., Zhu, T., Zhang, J. 2012b. Inflammatory and oxidative stress responses of healthy young adults to changes in air quality during the Beijing Olympics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186: 1150–9.
- Huang, Y. C., Karoly, E. D., Dailey, L. A., Schmitt, M. T., Silbajoris, R., Graff, D. W., Devlin, R. B. 2011. Comparison of gene expression profiles induced by coarse, fine, and ultrafine particulate matter. *J Toxicol Environ Health A.* 74: 296-312.
- Huttunen, K., Siponen, T., Salonen, I., Yli-Tuomi, T., Aurela, M., Dufva, H., Hillamo, R., Linkola, E., Pekkanen, J., Pennanen, A., Salonen, R. O., Schneider, A., Tiittanen, P., Hirvonen, M. R., Lanki, T. 2012. Low-level exposure to ambient particulate matter is associated with systemic inflammation in ischemic heart disease patients. *Environ. Res.* 116: 44–51.
- Jacobs, L., Emmerechts, J., Hoylaerts, M. F., Mathieu, C., Hoet, P. H., Nemery, B., Nawrot, T. S. 2011. Traffic air pollution and oxidized LDL. *PLoS One* 6: e16200.
- Jacobs, L., Emmerechts, J., Mathieu, C., Hoylaerts, M. F., Fierens, F., Hoet, P. H., Nemery, B., Nawrot, T. S. 2010a. Air pollution related prothrombotic changes in persons with diabetes. *Environ. Health Perspect.* 118: 191–6.
- Jacobs, L., Nawrot, T. S., De Geus, B., Meeusen, R., Degraeuwe, B., Bernard, A., Sughis, M., Nemery, B., Panis, L. I. 2010b. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environ. Health* 9: 64.

- Jacquemin, B., Antoniadou, C., Nyberg, F., Plana, E., Müller, M., Greven, S., Salomaa, V., Sunyer, J., Bellander, T., Chalamandaris, A. G., Pistelli, R., Koenig, W., Peters, A. 2008. Common genetic polymorphisms and haplotypes of fibrinogen alpha, beta, and gamma chains affect fibrinogen levels and the response to proinflammatory stimulation in myocardial infarction survivors: the AIRGENE study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 52: 941–52.
- Jacquemin, B., Lanki, T., Yli-Tuomi, T., Vallius, M., Hoek, G., Heinrich, J., Timonen, K., Pekkanen, J. 2009. Source category-specific PM_{2.5} and urinary levels of Clara cell protein CC16. The ULTRA study. *Inhal. Toxicol.* 21: 1068–76.
- Jiménez-Garza, O., Márquez-Gamiño, S., Albores, A., Caudillo-Cisneros, C., Carrieri, M., Bartolucci, G. B., Bartolucci, G. B., Manno, M. 2012. CYP2E1 phenotype in Mexican workers occupationally exposed to low levels of toluene. *Toxicol. Lett.* 210: 254–63.
- Jongeneelen, F. J., van Leeuwen, F. E., Oosterink, S., Anzion, R. B., van der Loop, F., Bos, R. P., van Veen, H. G. 1990. Ambient and biological monitoring of coke oven workers: determinants of the internal dose of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Br. J. Ind. Med.* 47: 454–461.
- Kalappanavar, N. K., Vinodkumar, C. S., Gouli, C., Sanjay, D., Nagendra, K., Basavarajappa, K. G., Patil, R. 2012. Carbon particles in airway macrophage as a surrogate marker in the early detection of lung diseases. *Int. J. Occup. Environ. Med.* 3: 68–75.
- Kelishadi, R., Mirghaffari, N., Poursafa, P., Gidding, S. S. 2009. Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children. *Atherosclerosis* 203: 311–9.
- Kim, K., Park, E-Y., Lee, K-H., Park, J-D., Kim, Y-D., Hong, Y-C. 2009. Differential oxidative stress response in young children and the elderly following exposure to PM_{2.5}. *Environ. Health Prev. Med.* 14: 60–6.

- Lai, C-H., Liou, S-H., Jaakkola, J. J. K., Huang, H-B., Su, T-Y., Strickland, P. T. 2012. Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with Traffic Exhaust: The Increase of Lipid Peroxidation and Reduction of Antioxidant Capacity. *Aerosol Air Qual. Res.* 12:941–950.
- Langrish, J. P., Mills, N. L., Chan, J. K., Leleman, D. L., Aitken, R. J., Fokkens, P. H., Cassee, F. R., Li, J., Donaldson, K., Newby, D. E., Jiang, L. 2009. Beneficial cardiovascular effects of reducing exposure to particulate air pollution with a simple facemask. *Part. Fibre Toxicol.* 6: 8.
- Lee, I-T., Lin, C-C., Wu, Y-C., Yang, C-M. 2010a. TNF-alpha induces matrix metalloproteinase-9 expression in A549 cells: role of TNFR1/TRAF2/PKCalpha-dependent signaling pathways. *J. Cell. Physiol.* 224: 454–64.
- Lee, M-W., Chen, M-L., Lung, S-C. C., Tsai, C-J., Yin, X-J., Mao, I-F. 2010b. Exposure assessment of PM2.5 and urinary 8-OHdG for diesel exhaust emission inspector. *Sci. Total Environ.* 408: 505–10.
- Lee, P-C., Talbott, E. O., Roberts, J. M., Catov, J. M., Sharma, R. K., Ritz, B. 2011. Particulate air pollution exposure and C-reactive protein during early pregnancy. *Epidemiology* 22: 524–31.
- León-Mejía, G., Espitia-Pérez, L., Hoyos-Giraldo, L. S., Da Silva, J., Hartmann, A., Henriques, J. A. P., Quintana, M. 2011. Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay. *Sci. Total Environ.* 409: 686–91.
- Leroyer, A., Jeandel, F., Maitre, A., Howsam, M., Deplanque, D., Mazzuca, M., Nisse, C. 2010. 1-Hydroxypyrene and 3-hydroxybenzo[a]pyrene as biomarkers of exposure to PAH in various environmental exposure situations. *Sci. Total Environ.* 408: 1166–73.

- Lesur, O., Hermans, C., Chalifour, J-F., Picotte, J., Lévy, B., Bernard, A., Lane, D. 2003. Mechanical ventilation-induced pneumoprotein CC-16 vascular transfer in rats: effect of KGF pretreatment. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 284: L410–9.
- Lewis, R. A., Austen, K. F., Soberman, R. J. 1990. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway: biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N. Engl. J. Med.* 323:645–55.
- Li, Z., Mulholland, J. a., Romanoff, L.C., Pittman, E.N., Trinidad, D. a., Lewin, M.D., and Sjödin, A., 2010. Assessment of non-occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons through personal air sampling and urinary biomonitoring. *J. Environ. Monit.* 12: 1110.
- Lin, W., Huang, W., Zhu, T., Hu, M., Brunekreef, B., Zhang, Y., Liu, X., Cheng, H., Gehring, U., Li, C., Tang, X. 2011. Acute respiratory inflammation in children and black carbon in ambient air before and during the 2008 Beijing Olympics. *Environ. Health Perspect.* 119: 1507–12.
- Liu, H-H., Lin, M-H., Chan, C-I., Chen, H-L. 2010. Oxidative damage in foundry workers occupationally co-exposed to PAHs and metals. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 213: 93–8.
- Liu, L., Poon, R., Chen, L., Frescura, A-M., Montuschi, P., Ciabattoni, G., Wheeler, A., Dales, R. 2009a. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environ. Health Perspect.* 117: 668–74.
- Liu, L., Ruddy, T., Dalipaj, M., Poon, R., Szyszkowicz, M., You, H., Dales, R. E., Wheeler, A. J. 2009b. Effects of indoor, outdoor, and personal exposure to particulate air pollution on cardiovascular physiology and systemic mediators in seniors. *J. Occup. Environ. Med.* 51: 1088–98.

- Ljungman, P., Bellander, T., Schneider, A., Breitner, S., Forastiere, F., Hampel, R., Illig, T., Jacquemin, B., Katsouyanni, K., von Klot, S., Koenig, W., Lanki, T., Nyberg, F., Pekkanen, J., Pistelli, R., Pitsavos, C., Rosenqvist, M., Sunyer, J., Peters, A. 2009. Modification of the interleukin-6 response to air pollution by interleukin-6 and fibrinogen polymorphisms. *Environ. Health Perspect.* 117: 1373–9.
- Lovreglio, P., Barbieri, A., Carrieri, M., Sabatini, L., Fracasso, M.E., Doria, D., Drago, I., Basso, A., D’Errico, M.N., Bartolucci, G.B., Violante, F.S., and Soleo, L., 2010. Validity of new biomarkers of internal dose for use in the biological monitoring of occupational and environmental exposure to low concentrations of benzene and toluene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 83: 341–56.
- Lovreglio, P., D’Errico, M. N., Fustinoni, S., Drago, I., Barbieri, A., Sabatini, L., Carrieri, M., Apostoli, P., Soleo, L. 2011. Biomarkers of internal dose for the assessment of environmental exposure to benzene. *J. Environ. Monit.* 13: 2921–8.
- Luttmann-Gibson, H., Suh, H. H., Coull, B. A., Dockery, D. W., Sarnat, S. E., Schwartz, J., Stone, P. H., Gold, D. R. 2010. Systemic inflammation, heart rate variability and air pollution in a cohort of senior adults. *Occup. Environ. Med.* 67: 625–30.
- Madrigano, J., Baccarelli, A., Wright, R. O., Suh, H., Sparrow, D., Vokonas, P. S., Schwartz, J. 2010. Air pollution, obesity, genes and cellular adhesion molecules. *Occup. Environ. Med.* 67: 312–7.
- Marczynski, B., Pesch, B., Wilhelm, M., Rossbach, B., Preuss, R., Hahn, J-U., Rabstein, S., Raulf-Heimsoth, M., Seidel, A., Rihs, H. P., Adams, A., Scherenberg, M., Erkes, A., Engelhardt, B., Straif, K., Kafferlein, H. U., Angerer, J., Bruning, T. 2009. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage by industry: a nationwide study in Germany. *Arch. Toxicol.* 83: 947–57.

- Marie, C., Ravanat, J., Badouard, C., Marques, M., Balducci, F., Maître, A. 2009. Urinary Levels of Oxidative DNA and RNA Damage Among Workers Exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Silicon Production: Comparison with 1-hydroxypyrene. *Environ Mol Mutagen.* 50:88–95.
- Marques, O., Outeiro, T. F. 2012. Alpha-synuclein: from secretion to dysfunction and death. *Cell Death Dis.* 3: e350.
- Martens, H., Törnberg, D. C., Weitzberg, E., Schedin, U., Alving, K. 2005. Origin of nitrite and nitrate in nasal and exhaled breath condensate and relation to nitric oxide formation. *Thorax* 60: 219–25.
- Martínez-Salinas, R.I., Elena Leal, M., Batres-Esquivel, L.E., Domínguez-Cortinas, G., Calderón, J., Díaz-Barriga, F., and Pérez-Maldonado, I.N., 2010. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* . 83: 617–23.
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., Turner, R. C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 28: 412-9.
- McCracken, J., Baccarelli, A., Hoxha, M., Dioni, L., Melly, S., Coull, B., Shu, H., Vokonas, P., Schwartz, J. 2010. Annual ambient black carbon associated with shorter telomeres in elderly men: Veterans Affairs Normative Aging Study. *Environ. Health Perspect.* 118: 1564–70.
- Migliaccio, C. T., Bergauff, M. A., Palmer, C. P., Jessop, F., Noonan, C. W., Ward, T. J. 2009. Urinary levoglucosan as a biomarker of wood smoke exposure: observations in a mouse model and in children. *Environ. Health Perspect.* 117: 74–9.
- Mohorovic, L., Petrovic, O., Haller, H., Micovic, V. 2010. Pregnancy loss and maternal methemoglobin levels: an indirect explanation of the association of environmental toxics

- and their adverse effects on the mother and the fetus. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7: 4203–12.
- Mondal, N. K., Bhattacharya, P., Ray, M. R. 2011. Assessment of DNA damage by comet assay and fast halo assay in buccal epithelial cells of Indian women chronically exposed to biomass smoke. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214: 311–8.
- Mondal, N. K., Mukherjee, B., Das, D., Ray, M. R. 2010a. Micronucleus formation, DNA damage and repair in premenopausal women chronically exposed to high level of indoor air pollution from biomass fuel use in rural India. *Mutat. Res.* 697: 47–54.
- Mondal, N. K., Roy, A., Mukherjee, B., Das, D., Ray, M. R. 2010b. Indoor air pollution from biomass burning activates Akt in airway cells and peripheral blood lymphocytes: a study among premenopausal women in rural India. *Toxicol. Pathol.* 38: 1085–98.
- Mordukhovich, I., Wilker, E., Suh, H., Wright, R., Sparrow, D., Vokonas, P.S., and Schwartz, J., 2009. Black carbon exposure, oxidative stress genes, and blood pressure in a repeated-measures study. *Environmental health perspectives*, 117 (11), 1767–72.
- Nethery, E., Wheeler, A. J., Fisher, M., Sjödin, A., Li, Z., Romanoff, L. C., Foster, W., Arbuckle, T. E. 2012. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to PAHs in air: a pilot study among pregnant women. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 22: 70–81.
- Novaes, P., Saldiva, P. H. do N., Matsuda, M., Macchione, M., Rangel, M. P., Kara-José, N., Berra, A. 2010. The effects of chronic exposure to traffic derived air pollution on the ocular surface. *Environ. Res.* 110: 372–4.
- O’Toole, T. E., Hellmann, J., Wheat, L., Haberzettl, P., Lee, J., Conklin, D. J., Bhatnagar, A., Pope, C. A. 3rd. 2010. Episodic exposure to fine particulate air pollution decreases circulating levels of endothelial progenitor cells. *Circ. Res.* 107: 200–3.

- Obolenskaya, M. Y., Teplyuk, N. M., Divi, R. L., Poirier, M. C., Filimonova, N. B., Zadrozna, M., Pasanen, M. J. 2010. Human placental glutathione S-transferase activity and polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts as biomarkers for environmental oxidative stress in placentas from pregnant women living in radioactivity- and chemically-polluted regions. *Toxicol. Lett.* 196: 80–6.
- Panasevich, S., Leander, K., Rosenlund, M., Ljungman, P., Bellander, T., de Faire, U., Pershgen, G., Nyberg, F. 2009. Associations of long- and short-term air pollution exposure with markers of inflammation and coagulation in a population sample. *Occup. Environ. Med.* 66: 747–53.
- Paracelsus. 1567. Von der Bergsucht und anderen Bergkrankheiten.
- Patel, M. M., Chillrud, S. N., Deepti, K. C., Ross, J. M., Kinney, P. L. 2013. Traffic-related air pollutants and exhaled markers of airway inflammation and oxidative stress in New York City adolescents. *Environ. Res.* 121: 71–8.
- Pedersen, M., Wichmann, J., Autrup, H., Dang, D. A., Decordier, I., Hvidberg, M., Bossi, R., Jakobsen, J., Loft, S., Knudsen, L. E. 2009. Increased micronuclei and bulky DNA adducts in cord blood after maternal exposures to traffic-related air pollution. *Environ. Res.* 109: 1012–20.
- Peek, M. K., Cutchin, M. P., Freeman, D., Stowe, R. P., Goodwin, J. S. 2009. Environmental hazards and stress: evidence from the Texas City Stress and Health Study. *J. Epidemiol. Community Health* 63: 792–8.
- Peluso, M., Srivatanakul, P., Munnia, A., Jedpiyawongse, A., Ceppi, M., Sangrajrang, S., Piro, S., Boffetta, P. 2010. Malondialdehyde-deoxyguanosine adducts among workers of a Thai industrial estate and nearby residents. *Environ. Health Perspect.* 118: 55–9.

- Petchpoung, K., Kaojarern, S., Yoovathaworn, K., Sura, T., Sirivarasai, J. 2011. The influence of metabolic gene polymorphisms on urinary 1-hydroxypyrene concentration in Thai bus drivers. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 31: 160–4.
- Polańska, K., Hanke, W., Sobala, W., Brzeźnicki, S., and Ligocka, D., 2011. Predictors of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among pregnant women--prospective cohort study in Poland. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 24: 8–17.
- Polderman, K. H., Stehouwer, C. D., van Kamp, G. J., Dekker, G. A., Verheugt, F. W., Gooren, L. J. 1993. Influence of sex hormones on plasma endothelin levels. *Ann. Intern. Med.* 118: 429–32.
- Possamai, F. P., Avila, S., Budni, P., Backes, P., Parisotto, E. B., Rizelio, V. M., Torres, M. A., Colepicolo, P., Wilhelm Filho, D. 2009. Occupational airborne contamination in South Brazil: 2. Oxidative stress detected in the blood of workers of incineration of hospital residues. *Ecotoxicology.* 18: 1158–64.
- Possamai, F. P., Júnior, S. Á., Parisotto, E. B., Moratelli, A. M., Inácio, D. B., Garlet, T. R., Dal-Pizzol, F., Filho, D. W. 2010. Antioxidant intervention compensates oxidative stress in blood of subjects exposed to emissions from a coal electric-power plant in South Brazil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 30: 175–80.
- Poursafa, P., Kelishadi, R., Lahijanzadeh, A., Modaresi, M., Javanmard, S. H., Assari, R., Amin, M. M., Moattar, F., Amini, A., Sadeghian, B. 2011. The relationship of air pollution and surrogate markers of endothelial dysfunction in a population-based sample of children. *BMC Public Health* 11: 115.
- Protano, C., Guidotti, M., Manini, P., Petyx, M., La Torre, G., Vitali, M. 2010. Benzene exposure in childhood: Role of living environments and assessment of available tools. *Environ. Int.* 36: 779–87.

- Pruneda-Álvarez, L. G., Pérez-Vázquez, F. J., Salgado-Bustamante, M., Martínez-Salinas, R. I., Pelallo-Martínez, N. A., Pérez-Maldonado, I. N. 2012. Exposure to indoor air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons, toluene, benzene) in Mexican indigenous women. *Indoor Air* 22: 140–7.
- Pruneda-Álvarez, L. G., Pérez-Vázquez, F. J., Salgado-Bustamante, M., Martínez-Salinas, R. I., Pelallo-Martínez, N. A., Pérez-Maldonado, I. N. 2012. Exposure to indoor air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons, toluene, benzene) in Mexican indigenous women. *Indoor Air* 22: 140–7.
- Raulf-Heimsoth, M., Hoffmeyer, F., van Thriel, C., Blaszkewicz, M., Bünger, J., Brüning, T. 2010. Assessment of low dose effects of acute sulphur dioxide exposure on the airways using non-invasive methods. *Arch. Toxicol.* 84: 121–7.
- Rava, M., Varraso, R., Decoster, B., Huyvaert, H., Le Moual, N., Jacquemin, B., Künzli, N., Kauffmann, F., Zerimech, F., Matran, R., Nadif, R. 2012. Plasma and exhaled breath condensate nitrite-nitrate level in relation to environmental exposures in adults in the EGEA study. *Nitric oxide.* 27: 169–75.
- Ren, C., Fang, S., Wright, R. O., Suh, H., Schwartz, J. 2011. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage induced by ambient pollution in the Normative Aging Study. *Occup. Environ. Med.* 68: 562–9.
- Ren, C., Vokonas, P. S., Suh, H., Fang, S., Christiani, D. C., Schwartzm J. 2010. Effect modification of air pollution on Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by genotypes: an application of the multiple testing procedure to identify significant SNP interactions. *Environ. Health* 9: 78.
- Report of the Committee on Public Health Relations of the New York Academy of Medicine. 1931. Effect of Air Pollution on Health. *Bull N Y Acad Med.*7: 751–775.

- Rich, D. Q., Kipen, H. M., Huang, W., Wang, G., Wang, Y., Zhu, P., Ohman-Strickland, P., Hu, M., Philipp, C., Diehl, S. R., Lu, S. E., Tong, J., Gong, J., Thomas, D., Zhu, T., Zhang, J. J. 2012. Association between changes in air pollution levels during the Beijing Olympics and biomarkers of inflammation and thrombosis in healthy young adults. *JAMA* 307: 2068–78.
- Riojas-Rodriguez, H., Schilman, A., Marron-Mares, A. T., Masera, O., Li, Z., Romanoff, L., Sjödin, A., Rojas-Brancho, L., Needham, L. L., Romieu, I. 2011. Impact of the improved patsari biomass stove on urinary polycyclic aromatic hydrocarbon biomarkers and carbon monoxide exposures in rural Mexican women. *Environ. Health Perspect.* 119: 1301–7.
- Rioux, C. L., Tucker, K. L., Brugge, D., Gute, D. M, Mwamburi, M. 2011. Traffic exposure in a population with high prevalence type 2 diabetes--do medications influence concentrations of C-reactive protein? *Environ. Pollut.* 159: 2051–60.
- Rossella, F., Campo, L., Pavanello, S., Kapka, L., Siwinska, E., & Fustinoni, S. (2009). Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and monohydroxy metabolites as biomarkers of exposure in coke oven workers. *Occupational and Environmental Medicine*, 66(8), 509–16.
- Rossner, P., Rossnerova, A., Sram, R. J. 2011. Oxidative stress and chromosomal aberrations in an environmentally exposed population. *Mutat. Res.* 707: 34–41.
- Rossnerova, A, Spatova, M., Rossner, P., Solansky, I., Sram, R. J. 2009. The impact of air pollution on the levels of micronuclei measured by automated image analysis. *Mutat. Res.* 669: 42–7.
- Ruchirawat, M., Navasumrit, P., Settachan, D. 2010. Exposure to benzene in various susceptible populations: co-exposures to 1,3-butadiene and PAHs and implications for carcinogenic risk. *Chem. Biol.l Interact.* 184: 67–76.

- Rudez, G., Janssen, N. A. H., Kilinc, E., Leebeek, F. W. G., Gerlofs-Nijland, M. E., Spronk, H. M. H., ten Cate, H., Cassee, F. R., de Maat, M. P. 2009. Effects of ambient air pollution on hemostasis and inflammation. *Environ. Health Perspect.* 117: 995–1001.
- Sava, F., Carlsten, C. 2012. Respiratory health effects of ambient air pollution: an update. *Clin. Chest Med.* 33: 759–69.
- Schrenk, H. H., Heimann, H., Clayton, G. D., Gafafer, W. M., Wexler, H. 1949. Air Pollution in Donora, PA: Epidemiology of the Unusual Smog Episode of October 1948, Preliminary Report. Public Health Bulletin No 306. Washington, DC: U.S. Public Health Service.
- Sherer, Y., Shemesh, J., Tenenbaum, A., Praprotnik, S., Harats, D., Fisman, E. Z., Blank, M., Motro, M., Shoenfeld, Y. 2000. Coronary calcium and anti-cardiolipin antibody are elevated in patients with typical chest pain. *Am. J. Cardiol.* 86: 1306–11.
- Sherer, Y., Tenenbaum, A., Praprotnik, S., Shemesh, J., Blank, M., Fisman, E. Z., Harats, D., George, J., Levy, Y., Peter, J. B., Motro, M., Shoenfeld, Y. 2001. Coronary artery disease but not coronary calcification is associated with elevated levels of cardiolipin, beta-2-glycoprotein-I, and oxidized LDL antibodies. *Cardiology* 95: 20–4.
- Shih, H.-T., Yu, C.-L., Wu, M.-T., Liu, C.-S., Tsai, C.-H., Hung, D.-Z., Wu, C.-S., and Kuo, H.-W., 2011. Subclinical abnormalities in workers with continuous low-level toluene exposure. *Toxicol. Ind. Health.* 27: 691–9.
- Shoemark, A., Wilson, R. 2011. Exhaled Breath Condensate pH as a Non-invasive Measure of Inflammation in Non-CF Bronchiectasis. *Pulmonology.* 2011: 6.
- Sobus, J. R., Waidyanatha, S., McClean, M. D., Herrick, R. F., Smith, T. J., Garshick, E., Laden, F., Hart, J. E., Zheng, Y., Rappaport, S. M. (2009). Urinary naphthalene and phenanthrene as biomarkers of occupational exposure to polycyclic aromatic

- hydrocarbons. *Occupational and Environmental Medicine*, 66(2), 99–104.
doi:10.1136/oem.2008.041418
- Stockfelt, L., Sallsten, G., Olin, A-C., Almerud, P., Samuelsson, L., Johannesson, S., Molnar, P., Strandberg, B., Almstrand, A. C., Bergemalm-Rynell, K., Barregard, L. 2012. Effects on airways of short-term exposure to two kinds of wood smoke in a chamber study of healthy humans. *Inhal. Toxicol.* 24: 47–59.
- Surguchev, A., Surguchov, A. 2010. Conformational diseases: looking into the eyes. *Brain Res. Bull.* 81: 12–24.
- Svecova, V., Rossner, P., Dostal, M., Topinka, J., Solansky, I., Sram, R. J. 2009. Urinary 8-oxodeoxyguanosine levels in children exposed to air pollutants. *Mutat. Res.* 662: 37–43.
- Thompson, A. M. S., Zanobetti, A., Silverman, F., Schwartz, J., Coull, B., Urch, B., Speck, M., Brook, J. R., Manno, M., Gold, D. R. 2010. Baseline repeated measures from controlled human exposure studies: associations between ambient air pollution exposure and the systemic inflammatory biomarkers IL-6 and fibrinogen. *Environ. Health Perspect.* 118: 120–4.
- Thompson, L. M., Clark, M., Cadman, B., Canú, E., Smith, K. R. 2011. Exposures to high levels of carbon monoxide from wood-fired temazcal (steam bath) use in highland Guatemala. *Int. J. Occup. Environ. Health* 17: 103–12.
- Tong, J., Wong, H., Guttman, M., Ang, L. C., Forno, L. S., Shimadzu, M., Rajput, A. H., Muentner, M. D., Kish, S. J., Hornykiewicz, O., Furukawa, Y. 2010. Brain alpha-synuclein accumulation in multiple system atrophy, Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: a comparative investigation. *Brain* 133: 172–88.
- Tsai, D-H., Amyai, N., Marques-Vidal, P., Wang, J-L., Riediker, M., Mooser, V., Paccaud, F., Waeber, G., Vollenweider, P., Bochud, M. 2012. Effects of particulate matter on inflammatory markers in the general adult population. *Part. Fibre Toxicol.* 9: 24.

- Tsao, A. S., McDonnell, T., Lam, S., Putnam, J. B., Bekele, N., Hong, W. K., Kurie, J. M. 2003. Increased phospho-AKT (Ser(473)) expression in bronchial dysplasia: implications for lung cancer prevention studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12: 660–4.
- United State Environmental Protection Agency (USEPA). Pesticides: Science and Policy – Defining biomarkers [accessed in 8/25/2014]. Available in <http://www.epa.gov/pesticides/science/biomarker.html>
- Van Miert, E., Sardella, A., Nickmilder, M., Bernard, A. 2012. Respiratory effects associated with wood fuel use: a cross-sectional biomarker study among adolescents. *Pediatr. Pulmonol.* 47: 358–66.
- Viau, C., Zaoui, C., Charbonneau, S. 2004. Dietary fibers reduce the urinary excretion of 1-hydroxypyrene following intravenous administration of pyrene. *Toxicol. Sci.* 78:15–9.
- Wang, Q., Wang, L., Chen, X., Rao, K. M., Lu, S. Y., Ma, S. T., Jiang, P., Zheng, D., Xu, S. Q., Zheng, H. Y., Wang, J. S., Yu, Z. Q., Zhang, R., Tao, Y., Yuan, J. 2011. Increased urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in workers exposed to di-(2-ethylhexyl) phthalate in a waste plastic recycling site in China. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 18: 987–96.
- Watanabe, S., Sato, K., Okazaki, Y., Tonogi, M., Tanaka, Y., Yamane, G. 2009. Activation of PI3K-AKT pathway in oral epithelial dysplasia and early cancer of tongue. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 50: 125–33
- Wei, Y., Han, I. K., Shao, M., Hu, M., Zhang, O. J., Tang, X. 2009. PM_{2.5} constituents and oxidative DNA damage in humans. *Environ. Sci. Technol.* 43: 4757-62.
- Weis, B. K., Balshaw, D., Barr, J. R., Brown, D., Ellisman, M., Liroy, P., Omenn, G., Potter, J. D., Smith, M. T., Sohn, L., Suk, W. A., Sumner, S., Swenberg, J., Walt, D. R., Watkins, S., Thompson, C., Wilson, S. H. 2005. Personalized exposure assessment: promising

- approaches for human environmental health research. *Environ. Health Perspect.* 113: 840-8.
- Wilhelm, Filho D., Avila, S., Possamai, F. P., Parisotto, E. B., Moratelli, A. M., Garlet, T. R., Inácio, D. B., Torres, M. A., Colepicolo, P., Dal-Pizzol, F. 2010. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in the blood of subjects exposed to occupational airborne contamination from coal mining extraction and incineration of hospital residues. *Ecotoxicology* 19: 1193–200.
- Wilker, E. H., Alexeeff, S. E., Suh, H., Vokonas, P. S., Baccarelli, A., Schwartz, J. 2011. Ambient pollutants, polymorphisms associated with microRNA processing and adhesion molecules: the Normative Aging Study. *Environ. Health* 10: 45.
- Williams, L., Ulrich, C. M., Larson, T., Wener, M. H., Wood, B., Chen-Levy, Z., Campbell, P. T., Potter, J., Mc Tiernan, A., Roos, A. J. 2011. Fine particulate matter (PM_{2.5}) air pollution and immune status among women in the Seattle area. *Arch. Environ. Occup. Health* 66: 155–65.
- World Health Organization (WHO). 2005. Air Quality Guidelines Global; Report on a Working Group Meeting, Bonn, Germany, October 18–20, 2005; World Health Organization, Regional Office for Europe: Copenhagen, Denmark.
- World Health Organization (WHO). News release: 7 million premature deaths annually linked to air pollution [accessed in 8/25/2014]. Available in <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/air-pollution/en/>
- 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.

Figures and tables

Box 1. Factors that should be considered in the measuring of the biomarker

BOX 1

Factors that were considered:

- *Experimental design*
- *Sample size and/or number of samples*
- *Method of measuring/verifying smoking status*
- *Significant differences within control and experimental groups*
- *Biological properties of the biomarker studied*
- *Whether the effects (+ or -) were captured and to what degree*

Considering the contribution of confounding:

- *If confound was controlled would the results most likely be contrary, strengthened, weakened or unknown*
- *The percentage of the experiment is modified by the confounding factor (ex. What percent of the population lied about their smoking status?)*
- *What was the study able to clearly show*
- *What is the implication of the confound on the mechanism of air pollution*

Box 2. A visual representation of several of the findings.

Box 2

Some notable findings:

- From Delfino et al. (2010b): Evidence suggest that primary and secondary organic aerosols are relatively independent of each other, with ozone showing null to negative correlations with most exposures except secondary organic carbons, with which it has a weak positive correlation with.
- Delfino et al.'s (2009) study with 60 elderly found 7 who had no notable differences with air pollutants – all of which appeared to be healthier, only 1 of which had a history of myocardial infarction and none of which had ever taken antiplatelet medication. All were positive for polymorphism GPx-1 and CuZn-SOD.
- FeNO demonstrated an inverse relationship with O₃ during lag 1-3, a longer lag time with SO₂ (Huang et al. 2012b) independent of dose (Raulf-Heimsoth et al., 2010), and responding principally to SOA rather than POA (Delfino et al., 2010b)
- Curiously, the one study that investigated pregnant women found that CRP was most directly and independently related to the gestational week of the pregnancy beyond even that of actively smoking or pollutant exposure (Lee et al., 2011).
- In Hildebrandt et al.'s (2009) study with chronic pulmonary disease there was a consistent decrease of vWF with pollution, however in Rich's Olympic intervention study of healthy adults an increase was found with O₃ at lag 0-4.
- In a study by Luttmann-Gibson et al. (2010) examining elderly found a link between chronic inflammation and autonomic dysfunction and observed that individuals either diabetic or with systemic inflammation (defined by an increase in platelets, C-reactive protein and fibrinogen) had stronger negative effects on heart rate variability to air pollution.
- Pedersen et al.'s (2009) study of pregnant women and umbilical cords found that the maternal MN frequencies were related to age and significantly higher than those found in newborns and not related to exposure to air pollution. Though interestingly, within the newborn population there was a significantly higher MN frequency in those whose mothers were exposed to high urban traffic.

Figure 1: Flow diagram of the systematic review.

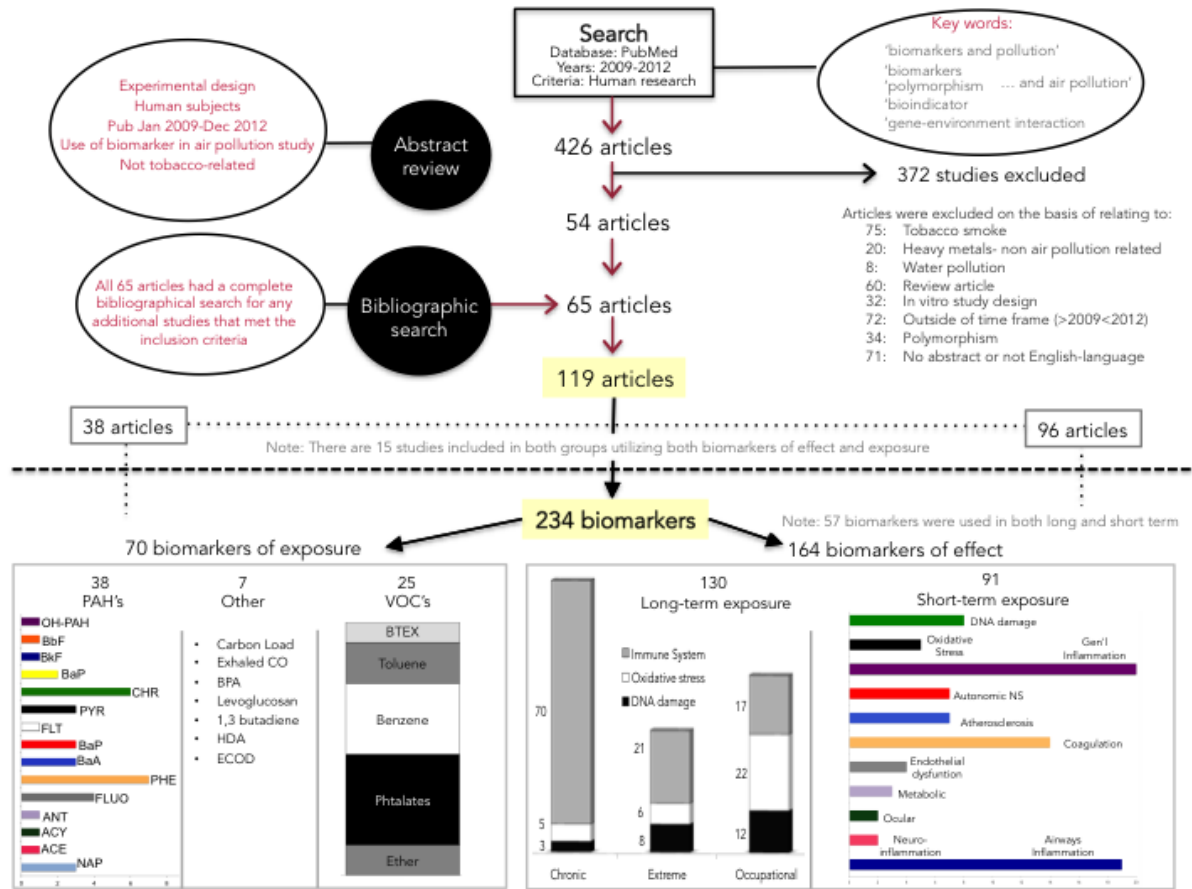


Figure 2: Geographical representation of the population studied.

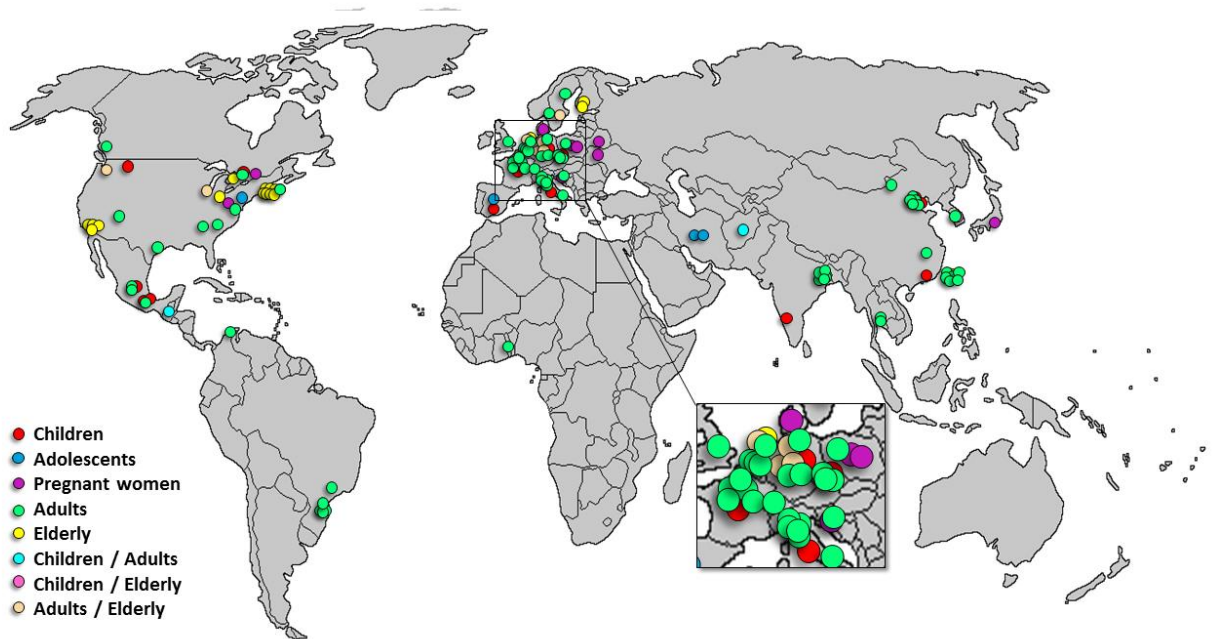


Figure 3: Representation of Rosella et al.'s (2009) study.

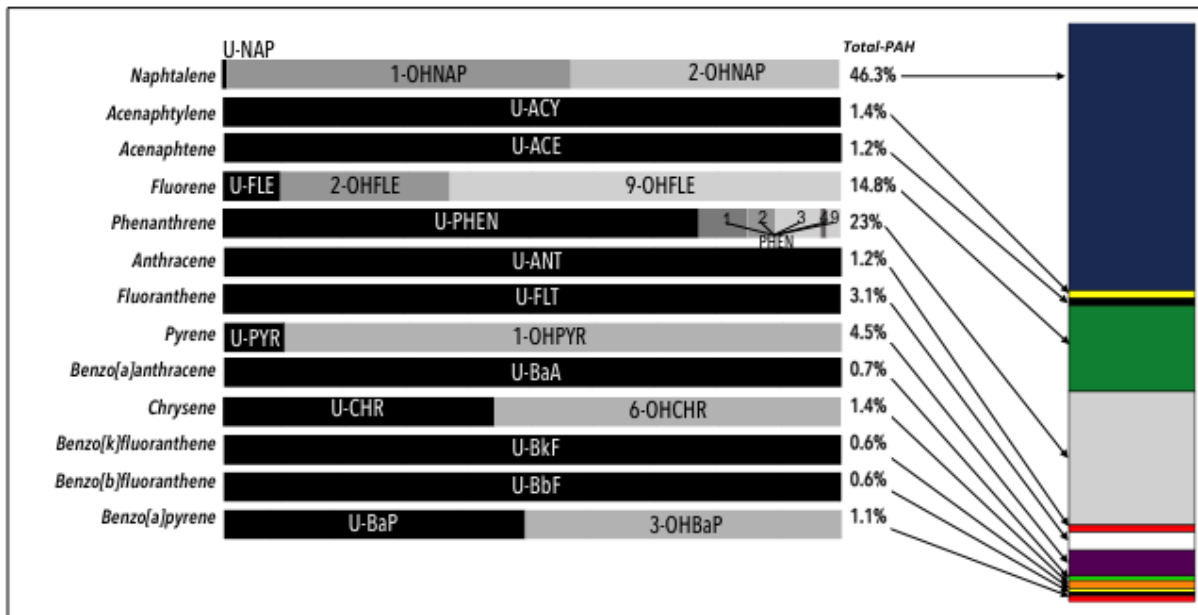


Table 1: Biomarkers of Exposure: Validation Summary

D	S	Biomarkers	Environmental Measurement		Exposure Scenarios	
			Yes	No	Yes	No
I	I	U-NAP		<i>Fustinoni et al., 2010</i>	<i>Sobus et al., 2009</i>	
I	✓*	1-OHNAP	<i>Li et al., 2010</i>	<i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Fan et al., 2012</i> <i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	
I	✓*	2-OHNAP	<i>Nethery et al., 2012</i>	<i>Li et al., 2010</i>	<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i> <i>Fan et al., 2012</i>	
I	✓*	2-OHFLE	<i>Nethery et al., 2012</i> <i>Li et al., 2010</i>		<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	
I	✓*	3-OHFLE	<i>Nethery et al., 2012</i> <i>Li et al., 2010</i>		<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	
I	✓*	9-OHFLE	<i>Nethery et al., 2012</i> <i>Li et al., 2010</i>			
I	I	U-PHE			<i>Sobus et al., 2009</i>	
I	✓*	1-OHPHE	<i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Li et al., 2010</i>	<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	
I	✓*	2-OHPHE	<i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Li et al., 2010</i>		<i>Riojas-Rodriguez al., 2011</i> <i>Fan et al., 2012</i>
I	✓*	3-OHPHE	<i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Li et al., 2010</i>		
I	✓*	4-OHPHE		<i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i> <i>Fan et al., 2012</i>	
I	✓*	9-OHPHE			<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	<i>Fan et al., 2012</i>
✓*	I	ΣOHPHE	<i>Marczynski et al., 2009</i>		<i>Marczynski et al., 2009</i> <i>Fan et al., 2012</i>	
✓	UC-I	1-OHPYR	<i>Freire et al., 2009</i> <i>Marczynski et al., 2009</i> <i>Nethery et al. 2012</i>	<i>Leroyer et al., 2010</i> <i>Li et al., 2010</i>	<i>Marczynski et al., 2009</i> <i>Liu et al., 2010</i> <i>Marie et al., 2009</i> <i>Martínez-Salinas et al., 2010</i> <i>Polańska et al., 2011</i> <i>Petchpoung et al., 2011</i> <i>Ayi-Fanou et al., 2011</i> <i>Fan et al., 2012</i> <i>Pruneda-Álvarez et al., 2012</i>	<i>Freire et al., 2009</i>
✓*	✓*	1-OHPG	<i>Huang et al., 2012a</i>	<i>Lai et al., 2012</i>		
I	✓*	OH-PAH			<i>Riojas-Rodriguez et al., 2011</i>	
	✓	B-U	<i>Fustinoni et al., 2010</i> <i>Campo et al., 2011</i> <i>Lovreglio et al., 2011</i>		<i>Protano et al., 2010</i> <i>Lovreglio et al., 2010</i>	

	✓	B-B			<i>Arayasiri et al., 2010</i>	
	✓	Ethylbenzene	<i>Fustinoni et al., 2010</i>			
	UC	SBMA	<i>Lovreglio et al., 2010</i>		<i>Lovreglio et al., 2010</i>	
	✓	SPMA	<i>Lovreglio et al., 2010</i>	<i>Lovreglio et al., 2011</i>	<i>Protano et al., 2010</i> <i>Lovreglio et al., 2010</i>	<i>Arayasiri et al., 2010</i>
✓	✓	t,t-MA	<i>Lovreglio et al., 2010</i>	<i>Lovreglio et al., 2011</i>	<i>Protano et al., 2010</i> <i>Lovreglio et al., 2010</i> <i>Pruneda-Álvarez et al., 2012</i>	<i>Arayasiri et al., 2010</i>
	✓*	Phenol			<i>Ayi-Fanou et al., 2011</i>	<i>Lovreglio et al., 2010</i>
	I	Toluene	<i>Fustinoni et al., 2010</i> <i>Lovreglio et al., 2010</i>		<i>Lovreglio et al., 2010</i>	
	UC	HÁ		<i>Jiménez-Garza et al., 2012</i>	<i>Shih et al., 2011</i> <i>Pruneda-Álvarez et al., 2012</i>	<i>Lovreglio et al., 2010</i> <i>Jiménez-Garza et al., 2012</i>
		MHBMA				<i>Arayasiri et al., 2010</i>
	✓	m + p-xylene	<i>Fustinoni et al., 2010</i>			
	✓	o-xylene	<i>Fustinoni et al., 2010</i>			
	I	MTBE	<i>Fustinoni et al., 2010</i> <i>Campo et al., 2011</i>			
	✓*	Carbon load	<i>Jacobs et al., 2010a</i>		<i>Jacobs et al., 2010a</i> <i>Jacobs et al., 2011</i> <i>Kalappanavar et al., 2012</i>	
	UC	Exhaled CO	<i>Thompson et al., 2011</i>			
	✓*	1,3-butadiene			<i>Arayasiri et al., 2010</i>	
	UC	HAD	<i>Gaines et al., 2010</i>			
	✓*	ECOD			<i>Obolenskaya et al., 2010</i>	

D – Diet; S – S moking. ✓ only in smoking; ✓* only in non-smoking; I – Independent; UC – Unclear. Biomarkers that were not included due to levels below the limit of detection: Leroyer et al. (2010) and Fan et al. (2012): 3-OHBAp; Nethery et al. (2012): 1-OHBAa, 3-9-OHBAa, 1-OHBcP, 2-OHBcP, 3-OHBcP, 1-OHCHR, 2-OHCHR, 3-OHCHR, 4-OHCHR, 6-OHCHR; Fustinoni et al. (2010): ETBE; Campo et al. (2011): ETBE, TAME. Studies that used the biomarkers as surrogate for exposure though not validated: Bae et al. (2010): 2-OHNAP, 1-OHP; Hong et al. (2009): 2-OHNAP, 1-OHP, HA, MHA, MBP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MnOP; Hemat et al. (2012): ΣOHPHE, 1, 2, 3, 4, 9-OHPHE, 1-OHP; Suzuki et al. (2012): 1-OHP, MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP, MEHHP, MEOHP, MINP, MnOP; Hoet et al. (2009): SPMA, t,t-MA, phenol and toluene. Abbreviations: Naphthalene (U-NAP); 1-hydroxynaphthalene (1-OHNAP); 2-hydroxynaphthalene (2-OHNAP); 2-hydroxyfluorene (2-OHFLE); 3-hydroxyfluorene (3-OHFLE); 9-hydroxyfluorene (9-OHFLE); phenanthrene (U-PHE); 1-hydroxyphenanthrene (1-OHPHE); 2-hydroxyphenanthrene (2-OHPHE); 3-hydroxyphenanthrene (3-OHPHE); 4-hydroxyphenanthrene (4-OHPHE); 9-hydroxyphenanthrene (9-OHPHE); 1-hidroxybenze[a]anthracene (1-OHBAa); 3-9-hidroxybenze[a]anthracene (3-9-OHBAa); 1-hidroxybenzo[c]phenanthrene (1-OHBcP); 2-hidroxybenzo[c]phenanthrene (2-OHBcP); 3-hidroxybenzo[c]phenanthrene (3-OHBcP); 1-hidroxyppyrene (1-OHPYR); 1-hidroxyppyrene-glucoronide (1-OHPG); 1-hidroxychrysene (1-OHCHR); 2-hidroxychrysene (2-OHCHR); 3-hidroxychrysene (3-OHCHR); 4-hidroxychrysene (4-OHCHR); 6-hidroxychrysene (6-OHCHR); Benzo[a]pyrene (BaP); monohydroxylated PAH metabolites (OHPAH); ΣOHPHE (1-OHP and 1-, 2+9-, 3-, 4-hydroxyphenanthrenes; benzene urinary (B-U); benzene blood (B-B); S-benzylmercapturic acid (SBMA); S-phenylmercapturic acid (SPMA); t,t-muonic acid (t,t-MA); hippuric acid (HA); methyl hippuric acid (MHA); monohydroxy-butenyl mercapturic acid (MHBMA), mono methyl phthalate (MMP), mono ethyl phthalate (MEP), mono-butyl phthalate (MBP), mono benzyl phthalate (MBzP), mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP), mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phalate (MEHHP), mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phalate (MEOHP), mono-iso-nonyl phthalate (MINP), mono-n-octyl phthalate (MnOP), methyl tert-butyl ether (MTBE), ethyl tert-butyl ether (ETBE), tert-amyl methyl ether (TAME), bisphenol (BPA), 1,6-hexamethylene diamine (HDA), 7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD).

Table 2: Long-term exposure: Results of Immune Profile

A= ACUTE (summary); CH= children; HEALTHY= healthy adults; C= cardiovascular; D= diabetics; O= overweight; I= industry; M= mining; P= plastic waste; Y= shipyard; T= traffic

Biomarker	A	Chronic					Occupational					Extreme	
		CH	HEALTHY	C	D	O	I	M	P	Y	T		
<i>Immune profile</i>													
4G8 and B amyloid 1-16			+										
Albumin	∅	∅	∅										
Amyloid A	∅								∅				
Amyloid B 1-24 (6E10)			+										
<i>Anti-CD3-stimulated lymphocytes</i>									-				
BAEP's			+										
Band cells													-
Blood Pressure	ρ				+								
CC16	+		∅										
CD14/CD69		+											
CD163			+										
CD3	∅										∅		
CD3-/CD19+		+									∅		
CD4	∅										∅		
CD4/CD8	∅												
CD4/CD69		+											
CD11b													+
CD16													+
CD18													+
CD35													+
CD56+	∅												
CD56+/CD3-NK		-										+	
CD8		+										∅	
Cholesterol	∅	∅			+							∅	
Corticosterone	∅	∅											
CRP	δ	+			∅	∅	+	+		+	∅		-
EBV-EA						∅							
EBV-VCA						∅							
Eosinophils													+
Fasting glucose	∅				+								
Fe Saturation		∅											
FeNO		+		∅									
Fibrinogen	Δ				∅		+	∅					

STUDY
Calderón-Garcidueñas et al., 2009
Calderón-Garcidueñas et al., 2011
Van Miert et al., 2012
Chuang et al., 2011
Forbes et al., 2009
Hong et al., 2009
Peek et al., 2009
Rava et al., 2012
Mohorovic et al., 2010
Hoffmann et al., 2009
Panasevich et al., 2009
Wilker et al., 2011
Jacobs et al., 2010
Jacobs et al., 2011
Rioux et al., 2011
Williams et al., 2011
Shih et al., 2011
Marie et al., 2009
Wang et al., 2011
Bulog et al., 2011
Bagryantseva et al., 2010
Rossner et al., 2011
Dutta et al., 2011
Banerjee et al., 2011
Allen et al., 2011

ρ = positive in health populations; Δ = inconclusive results; δ = positive in susceptible population; BAEP's: Brainstem auditory evoked potential; CRP = C-reactive protein; EBV-EA: Early antigen; EBV-VCA: Epstein-Barr virus capsid antigen; GFAP: Glial fibrillary acidic protein; HSV-1: Herpes simplex virus-1; Iba-1: Ionized calcium binding adaptor molecule 1; LBP: Lipopolysaccharide-binding protein; MDC= Macrophage-derived chemokine; MMP: matrix metalloproteinase; PAI-1: plasminogen activator inhibitor; PGE2 = Prostaglandin E2; sP-Selectin1: platelet aggregation + platelet count + soluble platelet selectin; vWF = von Willebrand factor; RBC = red blood cells; WBC = white blood cells; PNF = peripheral nerve function; SNF = sympathetic nerve function; RHI = Reactive Hyperemia Index

STUDY	Micronuclei	DNA adducts	% of tail DNA	Aberrations % AB.C	Acentric fragments	Damage Index	DNA repair Capacity	DNA stand breaks	Frequency translocation	Olive Tail Moment	Tail Length	Y-H2AX	NDF
Calderón-Garcidueñas et al., 2011													
Fan et al., 2012													
Hong et al., 2009													
Obolenskaya et al., 2010				+									
Pedersen et al., 2009				+									
Ayi-Fanou et al., 2011				+									
McCracken et al., 2010													
Jacobs et al., 2011													
Liu et al., 2010								+					
Peluso et al., 2010												+	
Marczynski et al., 2009													
Ávila Jr. et al., 2009													
Marie et al., 2009													
Possamai et al., 2009													
Possamai et al., 2010													
Wilhelm Filho et al., 2010													
Léon-Mejía et al., 2011											+		
Wang et al., 2011													+
Al Zabadi et al., 2011												+	Ø
Ruchirawat et al., 2010											+		+
Han et al., 2010													
Bagyantseva et al., 2010													+
Rossner et al., 2011												Ø	+
Huang et al., 2012									+				
Lai et al., 2012													
Arayasiri et al., 2010												+	
Hoxha et al., 2009													
Mondal et al., 2010												+	+
Mondal et al., 2010												+	+
Mondal et al., 2011												+	+
Dutta et al., 2011													
Banerjee et al., 2011													
Allen et al., 2011													

+ positive association with air pollution measurements or exposure scenarios; - negative association with air pollution measurements or exposure scenarios; Ø without relation with air pollution. X: inconclusive results and susceptible population; Gpx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GST: glutathione-S-transferase; GSSG: oxidized glutathione; ACL: Lipid-soluble substances (ACL); MDA / TBARS: Malondialdehyde/Thiobarbituric reactive substances; GSH: reduced glutathione; ROS: Reactive oxidative stress (ROS); SOD: superoxide dismutase; TAS: Total antioxidant capacity; ACW: water-soluble substances (ACW); AT: α -tocopherol; LTL: leukocyte telomere length; NDF = nuclear diffusion factor

SUPPLEMENTAL MATERIAL

A curated review of recent literature of biomarkers used for assessing air pollution exposures and effects in humans

Beatriz Fátima Alves de Oliveira, Ana Paula Marte Chacra, Thiago Silva Frauches, Adriana Vallochi,
Sandra Hacon

List of Supplemental Material

1. Supplemental Material, Table S: Summary of studies.
2. Supplemental Material, Table S2: Representation of 16 articles which utilized Biomarkers of Exposure as Surrogates
3. Supplemental Material, Table S3: Acute Exposure: Results - airways inflammation.
4. Supplemental Material, Table S4: Acute Exposure: Results - endothelial dysfunction, insulin resistance, ocular and neuroinflammation.
5. Supplemental Material, Table S5: Acute Exposure: Results - coagulation.
6. Supplemental Material, Table S6: Acute Exposure: Results - atherosclerosis and cardiovascular risk.
7. Supplemental Material, Table S7: Acute Exposure: Results - autonomic nervous system.
8. Supplemental Material, Table S8: Acute Exposure: Results - inflammation.
9. Supplemental Material, Table S9: Acute Exposure: Results - cells and immunity.
10. Supplemental Material, Table S10: Acute Exposure: Results - oxidative stress.
11. Supplemental Material, List of abbreviations

Table S1. Summary of studies.

Acute Exposure
<p><u>Children</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Repeated measures intervention study during the 2008 Beijing Olympics air pollution control measures of 36 healthy individuals with a total of 1,581 samples (Lin et al., 2011) • Retrospective analysis of the cross-sectional French Six City studies (the French contribution to the ISAAC [International Study of Asthma and Allergic study]) evaluated 149 children from 18 different schools (Flamant-Hulin et al., 2010) • Cross-sectional follow up study of 894 children between the ages of 6-10 in two different districts in Czech Republic from a 1994-1998 cohort measured biomarkers and related air pollution levels (Svecova et al., 2009) • Repeated measures of 120 school children in 2 Korean cities and 2 Chinese cities for 5 consecutive days (Bae et al., 2010) • Repeated measures study of 182 asthmatic children between the ages of 9-14 (between 616-691 samples depending on the biomarker) in Canada (Liu et al., 2009a)
<p><u>Pregnant women</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cross-sectional study of 1,696 women from the "Prenatal Exposures and Preeclampsia Prevention Study" from baseline (pregnant for less than 16 weeks) to postpartum (Lee et al., 2011)
<p><u>Adolescents</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Repeated measures of exhaled breath condensate of 18 asthmatic / 18 non-asthmatic from 2 different school in New York, USA and related ambient air quality for a total of 217 samples (Patel et al., 2012) • Cross-sectional multistage-random cluster sampling: 125 healthy 10-18 year old children between 2008-2009 in Isfahan, Iran (Poursafa et al., 2011) • Cross-sectional population based study of 374 adolescents aged 10-18 evaluated lifestyle (food, exercise) and environmental factors (pollution) with different biomarkers in Iran (Kelishadi et al., 2009)
<p><u>Adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Retrospective analysis of repeated measures data of 45 non-smoking subjects (asthmatics/non-asthmatics) with 160-163 samples in Canada (Thompson et al., 2010) • Retrospective analysis of 3 different cross-sectional studies of "Health Survey for England" on annual blood measurements with postal code modeling of pollution; a total of 20,000 individuals (Forbes et al., 2009) • Repeated measures of 125 healthy adults in 3 different phases (before, during, and after) the Beijing Olympics in 2008 (Rich et al., 2012) • Repeated measures of 16 healthy adults from Utah, USA in 4 periods of high, 1 moderate, and 2 low pollution, the accompanying murine study was not included in our review (O'Toole et al., 2010) • Repeated measures of acute changes in 59 chronically exposed traffic policemen during 2 different seasons - spring and winter, in Prague (Rossner et al., 2011) • Repeated measures study of 38 volunteers (with a total of 2 scenarios) who cycled for 20 minutes near a major bypass road and in a laboratory setting with filtered air in Belgium (Jacobs et al., 2010) • Repeated measures cross-over design that was blinded, 16 healthy volunteers in a chamber study exposed to 4 different scenarios and took non-invasive methods of evaluating exposure in Germany (Raulf-Heimsoth et al., 2010) • Repeated measures of 40 healthy individuals and 13 blood samples each and air pollutant measurements in the Netherlands (Rudez et al., 2009) • Repeated measures of 25 healthy people divided into 2 groups, both randomly exposed to 3 scenarios of pollution (2 outdoor air in industrial setting, 1 indoor air in urban setting) with 4 samples from each exposure in France (Leroyer et al., 2010) • Repeated measures of 919 healthy adults in 3 Detroit city community studies evaluated changes in blood pressure (may/2002 and april/2003) (Dvnoch et al., 2009) • Cross-sectional study of 108 healthy subjects working and living in Milan of general exposure (Fustinoni et al., 2010) • Repeated measures of 125 healthy young adults during the 2008 Beijing Olympics - quasi experimental design (samples = 744) (Huang et al., 2012)

- Retrospective analysis of baseline data from the CoLaus study with **6,183** adults from Switzerland and calculated the pollution on the day of visit (Tsai et al., 2012)
- Repeated measures chamber study evaluating start and end burn phase in **16** healthy adults in **3** different conditions in Sweden (Stockfelt et al., 2012)
- Panel study of **55** volunteers in Brazil on effect of air pollution on the ocular surface (Novaes et al., 2010)
- Double blind, crossover experiment of **10** adults who were subjected for two hours to either filtered air or diesel exhaust in Washington State, USA (Allen et al., 2009)
- Double blind, crossover experiment with **23** healthy adults and **32** individuals with mild or moderate asthma exposed to both air and diesel exhaust for 2 h (Behndig et al., 2011).
- Panel study of **39** patients with a diagnosis of myocardial infarction in Padua, Italy (Folino et al., 2009)
- Prospective cardiovascular cohort study that started in 2000 and includes **4,814** randomly selected participants from three large adjacent German (Hertel et al., 2010)
- Prospective panel study of **38** male patients with chronic pulmonary disease in Erfurt, Germany (Hildebrandt et al., 2009)
- Open-label cross-over randomized controlled trial of **15** healthy volunteers who walked on a city center route in Beijing in the presence and absence of a highly efficient facemask (Langrish et al., 2009)

Occupational

- Cross-sectional study of **34** sewage workers and **30** office workers in Paris (Al Zabadi et al., 2011)
- Repeated measures of **33** spray-painters in automobile repair shops in North Carolina and Washington State, USA during **3** different shifts (Gaines et al., 2010)
- Repeated measures study of **130** urban policemen in Italy for a total of **171** work shifts (Campo et al., 2011)
- Cross-sectional study **110** petro-chemical workers studying biomarkers and genetic polymorphisms effects on their excretion in Europe (Hoet et al., 2009)
- Cross-sectional study of **91** traffic conductors and **53** indoor office workers as a reference group in Taiwan (Huang et al., 2012)
- Repeated measures of **11** vehicle inspection worker and **32** office workers over **5** days in Taiwan (Lee et al., 2010)
- Cross-sectional study of 2 different type of tannery workers (**24**) with a matched control (**24**) in Mexico (Jiménez-Garza et al., 2012)
- Panel study of **44** young, nonsmoking taxi drivers who were recruited from several taxi companies in Beijing (Wu et al., 2010)
- Repeated measures of **2** security guards. Pre- and post-work shift spot urines were collected on each of the 29 days of measurement (Wei et al., 2009)

Children and adults

- Cross-sectional study of the effects of extreme exposure of wood-fired Temazcal (Steam Baths) in **288** Guatemalan rural villagers (Thompson et al., 2011)

Elderly

- Retrospective analysis of a repeated measures of **25** non-smoking senior adults from Ohio, USA who were seen weekly for 2.5 months in summer and autumn in 2000; a total of **1,545** measurements (Luttmann-Gibson et al., 2010)
- 8 retrospective analysis from the longitudinal cohort study of the Normative Aging Study with repeated measures; from 1990-2008 (**N=809** with **1,819 samples**) (Madrigano et al., 2010), (**N=642**; samples not given) (Alexeeff et al., 2011), from 1999-2007 (**N=791** with **1,568** clinical examinations) (Mordukhovich et al., 2009), from 1998-2008 (**N=784** with **1,652 samples**) (Wilker et al., 2011), from 2000-2008 (**N=704**) (Bind et al., 2012), from Jan 1999-Dec 2006 (**N=165** with **274 samples**) (MacCracken et al., 2010), and from Jan 2006-Dec 2008 (**N=320**) (Ren et al., 2011; 2010)
- Repeated measures of **52** elderly individuals with ischemic heart disease were followed for 6 months with biweekly visits in Finland (Huttunen et al., 2012)
- Repeated measures study of **121** elderly subjects with coronary heart disease from the ULTRA study that evaluated source category specific PM_{2.5} in 3 cities Helsinki, Finland, Amsterdam, The Netherlands and Erfurt, Germany; a total of **1251** measurements (Jacquemin et al., 2009)
- Repeated measures for **28** non-smoking Canadian seniors, relating levels of air pollution with cardiovascular effects and related biomarkers as cause or effect, stratified results by medication use; total of **65** samples (Liu

et al., 2009)

- 4 longitudinal repeated measures studies with **60** subjects with history or coronary artery disease in Los Angeles, USA; with **578** samples (Delfino et al., 2010b)(Delfino et al., 2009), **567** EBC and **578** blood samples (Delfino et al., 2010a) and **6,539** measurements of blood pressure (Delfino et al., 2010c)
- Repeated measures of **37** and **47** elderly individuals with coronary heart disease were followed for 8 months in Amsterdam and 6 month in Erfurt and Helsinki (Hartog et al., 2009)

Children and Elderly

- Repeated measures with **51** 6-year old children and **78** elderly in a preschool setting with 3 measures each in Korea (Kim et al., 2009)

Chronic Exposure

Children

- Cross-sectional study with questionnaire about past year renovation done in the home of **250** children from the 6-year old cohort "Lifestyle Immune system allergy study (LISA)" in Germany (Herberth et al., 2009)
- Cross-sectional study of **34** urban Mexico city children and **17** control group; in addition, autopsies of 9 child brainstems from both polluted and non-polluted areas (**N=5/4**) (Calderón-Garcidueñas et al., 2011)
- Cross-sectional study of **39** group of schoolchildren attending a school nearby heavy traffic and **35** control children attending a school on the campus of a university in China (Fan et al., 2012)
- Cross-sectional study of **174** 4-year old children Spanish were tested from a highly populated urban dense trafficked area and a rural low-density traffic area (Freire et al., 2009)
- 76 children from Mexico city and **93** control children (**N=76/93**) (Calderón-Garcidueñas et al., 2009)
- Cross-sectional study of a group of **243** Italian children living in either rural or urban areas (Protano et al., 2010)
- Cross-sectional study with **300** puff-riced industrial pollution exposed children and **300** from a green zone as control group in India (Kalappanavar et al., 2012)
- A cross sectional study of **258** children between the ages of 3-13 in different environments where exposure to PAH's was investigated through 1-OHP in 4 different scenarios: living next to high traffic, near a sanitary landfill, brick kiln communities and areas with high biomass combustion (Martínez-Salinas et al., 2010)

Adolescents

- Cross-sectional study with **744** wood fuel using teens and age-matched control group in Belgium (Van Miert et al., 2012)

Pregnant women

- Cross-sectional study of **143** placentas from mothers living in radioactivity-contaminated and chemically polluted areas of Ukraine and Belarus and in an area of East Poland considered unpolluted (Obolenskaya et al., 2010)
- Cross-sectional analysis of **260** Croatian pregnant women and their placentas, with group exposed to industrial pollution from nearby coal-powered plant and other group when the plant was closed for repairs (Mohorovic et al., 2010)
- Cross-sectional analysis of blood from **75** pregnant women and their newborns umbilical cords (**N=69**) in relation to maternal traffic exposure and DNA damage in both mother and child in Copenhagen, Denmark (Pederson et al., 2009)
- Cross-sectional study of **19** pregnant women investigated as either in low or high pollution exposure in Canada (Nethery et al., 2012)
- A repeated measures cohort study across 8 regions in Poland investigated **449** pregnant women in each of the three trimesters evaluating exposure to PAHs through 1-OHP and found significantly higher exposure in the summer collections, in smokers and those living in large urban cities (Polńska et al., 2011)
- A cross sectional study of **149** pregnant Japanese women were evaluated through a urine analysis between the 9-40th week of gestation for phthalate esters and 1-OHP and correlations with birth outcomes (Suzuki et al., 2010)

Adults

- Cross-sectional study of **2,604** from the Texas City Stress and Health Study into physiological and psychological stressors in USA (Peek et al., 2009)
- Cross-sectional study of **109** outpatient diabetic with traffic calculated exposure levels in Belgium (Jacobs et

al., 2011)

- Cross-sectional analysis of the **379** older Puerto Ricans provisionally diagnosed diabetic of a longitudinal cohort study on stress, nutrition, aging and chronic health conditions and relationship with residential traffic exposure in Boston area, USA (Rioux et al., 2011)
- Cross-sectional study of **137** males from the general population who were not occupationally exposed to benzene used passive samplers to measure environmental exposure to benzene in Italy (Lovreglio et al., 2011)
- Cross-sectional study of **960** urban residents in Korea (Hong et al., 2009)
- A repeated measures study with **8** American individuals monitored continually for 8 days with personal air samplers and daily urine samples, and consideration of diet evaluated 28 PAHs and u-OH-PAHS from 4 parent (Li et al., 2010)
- Case-control study with a family study of asthma cases conducted in five French cities (**N=949**) (Rava et al., 2012).

Occupational

- Cross-sectional study of **100** Thai bus drivers and **100** control group (Petchpoung et al., 2011)
- Cross-sectional study of **100** coal open-cast mining workers and **100** control subjects in Colombia (Léon-Mejía et al., 2011)
- Cross-sectional study of 6 different groups of workers exposed to coal mining extraction and incineration of hospital residues with a control group (20 of each group for a total of **120** participants) in Brazil (Wilhelm Filho et al., 2010)
- Cross-sectional study of **47** female highway toll station workers and **27** female classroom trainers as a reference in Taiwan (Lai et al., 2012)
- Cross-sectional study of **171** male industry workers (refractory, coke-oven, graphite electrode, and converter workers) from Germany, **48** construction workers as a control (Marczynski et al., 2009)
- Cross-sectional study of 2 type of foundry workers (**N=41**), of which plant A used induction furnace for melting metal, plant B used a cupola and **27** workers of town hall in Taiwan (Liu et al., 2010)
- Two cross-sectional study of electric power plant workers (directly and indirectly exposed), residents of nearby region and control group in south Brazil (**N=60**) (Possamai et al., 2009), (**N=80**) (Possamai et al., 2010)
- Cross-sectional study of shipyard workers, urban and rural residents of Croatia (**N=not given**) (Bulog et al., 2011)
- Cross-sectional study of **73** Thai industrial workers, nearby residents and control group (Peluso et al., 2010)
- Cross-sectional study of **94** apparently healthy volunteers living and working in Benin including taxi drivers, roadside residents, street vendors, gasoline attendants and village and sub-urban residents as controls (Ayifanou et al., 2011)
- Cross-sectional study of **120** long-distance bus drivers (men) and **58** office worker in Taiwan (Han et al., 2010)
- Cross-sectional study of **50** bus drivers, **20** garage men and **50** administrative workers as control in Prague (Bagryantseva et al., 2010)
- Cross-sectional study of **81** waste plastic recycling workers and **160** farmers as a control group in China (Wang et al., 2011)
- Cross-sectional study with **77** traffic officers and **57** office workers as a control group in Italy (Hoxha et al., 2009)
- A cross sectional study with **41** workers occupational exposed to benzene and toluene (fuel tanker drivers, fuel station attendants), along with **31** matched control subjects were tested for urinary biomarkers of toluene and benzene (Lovreglio et al., 2010)
- A cross sectional study of **55** male Polish coke oven workers tested urinary levels of 13 urinary PAH's and 12 OHPAH (Rosella et al., 2009)
- A repeated measures study in a factory with toluene exposure with 2 groups - 1 intermittently exposed for 2-3 hours per day and another group continuously exposed during the work week (**N=34**) (Shih et al., 2011)
- Cross-sectional study of **3** different groups of workers exposed to coal mining extraction with a control group (**20** of each group for a total of **80** participants) in Brazil (Ávila et al., 2009)
- Cross-sectional study of **56** city policemen working in the center of the city Prague, the capital of the Czech

<p>Republic (Rossnerova et al., 2009)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cross-sectional study with two scenarios of benzene exposure: (1) work –related exposures primarily to benzene (with subjects of petrochemical laboratory and gasoline attendants; (2) traffic related exposure and incense smoke (Ruchirawat et al., 2010)
<p><u>Elderly and adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Secondary data analysis of 1,023 subjects 54 years or older from the "Social environment and biomarkers of aging study" (SEBAS) in Taiwan from 1989 and 2000 (Chuang et al., 2011)
<p>Acute and Chronic Exposure</p>
<p><u>Adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cross-sectional study where air pollution was measured at the hospital entrance for 137 diabetics who entered the hospital and related to the physical/blood exam given 2 hours later in Belgium (Jacobs et al., 2010a) • Cross-sectional study of 24 traffic police officers and 24 police office workers in Thailand (Arayasiri et al., 2010)
<p><u>Occupational</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • A cross sectional study with 68 male workers in a silicone production plant evaluated a correlation between exposure as measured by 1-OHP and oxidative stress/DNA damage markers (Marie et al., 2009) • A cross sectional study evaluating 39 workers with low exposure, 26 workers with medium exposure and 28 workers with high degrees of exposure in an industrial setting in northern China (Sobus et al., 2009).
<p><u>Elderly and adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Retrospective analysis of the German Heinz Nixdorf Recall Study – a cardiovascular cohort study of 4,814 in 2000 – analyzed baseline concentration of inflammatory markers in relation to distances between residences (Hoffmann et al., 2009) • Retrospective analysis of the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) of 1,536 first time myocardial infarction cases aged 45-70 years old with retrospectively spatial modeling long term exposure at residence 1,5,30 years (Panasevich et al., 2009) • Repeated measures of 115 overweight post-menopausal in greater Seattle area, USA for 3, 30 and 60 day average PM_{2.5} measured 3 times in 1 year (Williams et al., 2011)
<p>Extreme Exposure</p>
<p><u>Children</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cross-sectional study of 14 grade school children in Montana, USA who resided in an area of moderately elevated levels of wood smoke due to wintertime woodstove use, accompanied by a non-evaluated murine model (Migliaccio et al., 2009)
<p><u>Children and adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cross-sectional study of a rural group that had extreme exposure due to biomass use for energy and cooking and urban residents that used gas stoves in Afghanistan; total of 13 children and 42 adults (Hemat et al., 2012)
<p><u>Adult</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Intervention study with air filter in 31 wood smoke burning homes in Canada (Allen et al., 2011) • Cross-sectional study of premenopausal women who cooked exclusively with biomass and age-matched women who cooked with clean gas stoves in India (N=268/128) (Banerjee et al., 2012) • Cross-sectional study of 96 healthy women in Mexico who either used fire wood combustion indoor for cooking and heating, used fire wood combustion outdoor, or who used liquid petroleum gas (Pruneda-Álvarez et al., 2012) • 4 cross-sectional studies of women who cook with biomass burning and age-matched control women in India who use liquid petroleum gas to cook; (N=132/85) (Mondal et al., 2010a), (N=87/85) (Mondal et al., 2010b), (N=244/236) (Dutta et al., 2011) and (N=85/76) (Mondal et al., 2011) • Randomized controlled trial in 63 women using biomass burning for cooking fuel, pre and post intervention with an improved biomass stove in rural Mexico (Riojas-Rodriguez et al., 2011)

Table S2: Representation of 16 articles which utilized biomarkers of exposure as surrogate.

Representation of 16 articles which utilized Biomarkers of Exposure as Surrogates				
P	M			
		Polycyclic Aromatic Hydrocarbons		
		Naphthalene		
	✓	2-hydroxynaphthalene (2-OHNAP) <i>Pos:</i> 8-OHdG, MDA (Hong et al., 2009) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012); MDA (Liu et al., 2009a)		
		Fluorene		
	✓	2-hydroxyfluorene (2-OHFLE) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012)		
		Phenanthrene		
	✓	1,2,3,4,9-hydroxyphenanthrene (1-4,9-OHPHE) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012)		
		Pyrene		
	✓	1-hydroxypyrene (1-OHPYR) <i>Pos:</i> DNA adducts (Ayi-Fanou et al., 2011); 8-OHdG (Hong et al., 2009; Liu et al., 2010), 8-oxodG (Marczynski et al., 2009), DNA strand breaks (Liu et al., 2010); MDA (Hong et al., 2009, Liu et al., 2009a) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012; Marie et al., 2009); 8-OHG (Marie et al., 2009); Birth outcomes (Suzuki et al., 2011)		
	✓	1-hydroxypyrene-glucuronide (1-OHPG) <i>Pos:</i> 8-OHdG (Huang et al., 2012); Isoprostrane (Lai et al., 2012) <i>Neg:</i> DNA strand breaks (Huang et al., 2012)		
		Chrysene		
	✓	6-hydroxychrysene 6-OHCHR <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012)		
		Benzo[a]pyrene		
	✓	3-hydroxybenzo[a]pyrene (3-OHBaP) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Fan et al., 2012)		
		Others		
	✓	Bisphenol (BPA) <i>Neg:</i> MDA, 8-OHdG (Hong et al., 2009)		
	✓	Carbon load <i>Pos:</i> Oxidized LDL (Jacobs et al., 2011); Lymphocytes, WBC, Platelets (Jacobs et al., 2010a); Obstructive airways (Kalappanavar et al., 2012) <i>Neg:</i> PAI-1, vWF (Jacobs et al., 2011)		
			Volatile Organic Compounds	
			Benzene	
	✓		✓	B-B/t,t-MA/SPMA <i>Neg:</i> 8-OHdG, DNA strand breaks (Arayasiri et al., 2010)
			✓	Phenol <i>Pos:</i> DNA adducts (Ayi-Fanou et al., 2011)
			Toluene	
			✓	Hippuric acid <i>Pos:</i> MDA, 8-OHdG (Hong et al., 2009); Platelets (Shih et al., 2011) <i>Neg:</i> WBC, RBC, PNF, SNF (Shih et al., 2011)
			✓	Methyl hippuric acid (MHA) <i>Pos:</i> MDA (Hong et al., 2009) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Hong et al., 2009)
			✓	Monohydroxy-butenyl mercapturic acid <i>Neg:</i> 8-OHdG, DNA strand breaks (Arayasiri et al., 2010)
			Phthalates	
			✓	MMP/MEP/MBzP/MEHP MINP/MnOP* <i>Neg:</i> Birth outcomes (Suzuki et al., 2010)
			✓	MBP/MEHHP/MEOHP* <i>Pos:</i> MDA (Hong et al., 2009) <i>Neg:</i> 8-OHdG (Hong et al., 2009); Birth outcomes (Suzuki et al., 2010)
	✓		✓	1,3-butadiene <i>Pos:</i> 8-OHdG, DNA strand breaks (Arayasiri et al., 2010)
	✓		✓	7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD) <i>Pos:</i> DNA adducts, GST (Obolenskaya et al., 2010)

P-Pollutant; M: Metabolites; Letters before number reference: Pos: positive results; Neg: negative results; 8-OHdG: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; MDA: malondialdehyde; 8-OHG: 8-hydroxyguanosine; PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1; vWF: von willebrand factor WBC: White blood cells; RBC: Red blood cells; PNF: Peripheral nerve function SNF: Sympathetic nerve function; GDT: Glutathione-S-transferase.

Table S3. Acute Exposure: Results - airways inflammation.

Biomarker	PM _{2.5}	BC	S _O ₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²⁻	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study	
CC16	4h-1d											<i>Stockelfelt et al., 2012</i> <i>Jacquemin et al., 2009</i> <i>Jacobs et al., 2010b</i>	
	0-1d									30min			
	0-1d									0-1d	0-1d		<i>Folino et al., 2009*</i>
SPD	4h-1d											<i>Stockelfelt et al., 2012</i>	
SPA	4h-1d											<i>Stockelfelt et al., 2012</i>	
FeNO	0-3d		0-3d		0-3d				0d+/0-2d			<i>Liu et al., 2009a*</i>	
	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009*</i>	
	0-2d	0-2d	0-2d	0-3d	0-2d		5d					<i>Lin et al., 2011*</i>	
	0-5d					0-5d			5d			<i>Flamant-Hulin et al., 2011*</i>	
	0-1d											<i>Stockelfelt et al., 2012</i>	
	0-6d			0-4d	0-2d	0-6d	4d	0-6d	0-2d			<i>Huang et al., 2012b</i>	
										30min			<i>Jacobs et al., 2010b</i>
			5d	0-4h	5d	5d		5d		5d	5d		<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i> <i>Delfino et al., 2010b*</i>
Nitrite	0/3d		0-1/3-6d	0-5d	0-3d	0-6d	0-1d/3d	0-1/5-6d	0-2d+/6d			<i>Huang et al., 2012b</i>	
Nitrate	2+/4-6d		0-1d/3-5d	0+/5d	0d+/2d+	0d+/2d+	2 d+/4-6d	2d+/4-6d	4-6d			<i>Huang et al., 2012b</i>	
EBC pH	0-1d+	0+/2-3d			0-5d				0-5d			<i>Patel et al., 2012</i>	
	0-5d+		0-3d+	0-2+/5d	1-2+/5d+	0-5d+	0-1+/4-5d+	0-1/3-5d+	0-6d			<i>Huang et al., 2012b</i> <i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>	
	0-1d		4h							0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009*</i>	
IL-6	0-3d		0-3d		0-3d				0-3d			<i>Liu et al., 2009a**</i>	
IL-8			0-4h									<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>	
	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009*</i>	
LTB4			0-4h									<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>	
PGE2			0-4h									<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>	

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit

Table S4. Acute Exposure: Results - endothelial dysfunction, insulin resistance, ocular and neuroinflammation.

Endothelial	PM _{2.5}	S _O ₂	CO	NO ₂	O ₃	PM ₁₀	Study
EPC	0-1d						<i>O'Toole et al., 2010</i>
Non-albumin	0-1d						<i>O'Toole et al., 2010</i>
Albumin	0-1d						<i>O'Toole et al., 2010</i>
Total protein	0-1d						<i>O'Toole et al., 2010</i>
Insulin resistance							
HOMA-IR		7d	7d	7d	7d	7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
Insulin		7d	7d	7d	7d	7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
Fasting glucose		7d	7d	7d	7d	7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
Neuroinflammation							
Substance P		0-4h					<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>
BDNF		0-4h					<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>
Ocular							
OSDI				7d			<i>Novaes et al., 2010</i>
TBT				7d			<i>Novaes et al., 2010</i>

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution

Table S5. Acute Exposure: Results - coagulation.

Biomarker	PM _{2.5}	S ₀₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study
Platelet¹	0-1d 0-2h	0-1d			0-1d		0-1d	0-1d			<i>Luttmann-Gibson et al., 2010^{*b}</i> <i>Jacobs et al., 2010a[*]</i>
TF		7d	7d					7d		7d	<i>Poursafa et al., 2011</i>
Platelet²	0-2h								30min		<i>Jacobs et al., 2010b</i> <i>Jacobs et al., 2010a[*]</i>
vWF	0-6d	1-5d+ 5-6d+	1-5d+ 5-6d+	1-5d+ 5d+	0-6d	1-5d+ 5d+	1-5d+ 0-6d	0-6d	1-5d+	1-5d+	<i>Hildebrandt et al., 2009[*]</i> <i>Rich et al., 2012</i>
Platelet³	0-1d		2-3d	2-3d				0-4d		3-4d	<i>O`Toole et al., 2010</i> <i>Rudez et al., 2009</i>
sP-selectin	0-4d 1/3d	0-6d	0-6d	0-4d	0-4d	1-4d 1/3/5d	0-4d	0- 1/5d+	5d	1/3/5d	<i>Rich et al., 2012</i> <i>Delfino et al., 2009[*]</i>
sCD40L	3-4d	4-5d	0-6d	0-6d	3-5d	0-6d	5d	0-6d			<i>Rich et al., 2012</i>
Thrombin⁴			3-4 d	1-2d				0-4d		0-4d	<i>Rudez et al., 2009</i>
PT fragment		0-5d	0-5d	0-5d		4d+	4d+		0-5d	4d+	<i>Hildebrandt et al., 2009[*]</i>
TM		7d	7d	7d				7 d+		7d	<i>Poursafa et al., 2011</i>
Fibrinogen	0-28d 1d		3-14d	3-28d	0-28d		3-7d	0-28d		0-3d 0-3d	<i>Bind et al., 2012[*]</i> <i>Huttunen et al., 2012[*]</i> <i>Rudez et al., 2009</i>
	0-7d	0-7d	1-4d	1-4 d				1-4d		1-4d	<i>Thompson et al., 2010</i>
		2/5d+		0-7d				0-7d			<i>Panasevich et al., 2009[▲]</i>
	2-3d	6d	0-6d	2/5d	0-7d	2-3d	2-3d	2/5d		2/5d	<i>Panasevich et al., 2009[▲]</i>
				0d	0-7d			1-6d			<i>Rich et al., 2012</i>
								2d		5d	<i>Hoffman et al., 2009[*]</i> <i>O`Toole et al., 2010</i>
	0-1d 0-1d	0-1d			0-1d		0-1d	0-1d			<i>Luttmann-Gibson et al., 2010^{*b}</i> <i>Hildebrandt et al., 2009[*]</i>
PAI-1		0-5d	0-5d	0-5d		0-5d	0-5d		0-5d	0-5d	<i>Hildebrandt et al., 2009[*]</i>
D-Dimer		2/5d	2/5d	2/5d				2/5d		2/5d	<i>Panasevich et al., 2009[▲]</i>
Factor VII		0-5d	0-5d	0-5d		0-5d	0-5d		0-5d	0-5d	<i>Hildebrandt et al., 2009[*]</i>

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit. ^b Studied as effect modification. ¹ Platelet Count. ² Platelet Function. ³ Platelet Aggregation. ⁴ Thrombin Generation. [▲] In Panasevich et al. 2009 (50% of population had hypertension).

Table S6. Acute Exposure: Results - atherosclerosis and cardiovascular risk.

Biomarker	PM _{2.5}	BC	SO ₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²⁻	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study
Cholesterol			7d		7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
HDL	0-1d		7d		7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i> <i>O'Toole et al., 2010</i>
LDL			7d		7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
Triglycerides			7d		7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
sICAM	3-28d 5-9d	7-28d 28/56/84d 5-9d		7-28d	3-28d	7d			0-28d			<i>Bind et al., 2012*</i> <i>Alexeeff et al., 2012*</i> <i>Wilker et al., 2012*</i>
	1-3d 0-1d	1-3d										<i>Madrigano et al., 2010*</i>
			0-1d 0-5d		0-1d 0-5d	0-1d		0-1d 0-5d	0-1d			<i>Luttmann-Gibson et al., 2010^b*</i> <i>Hildebrandt et al., 2009*</i>
vICAM	1d 7-9d 2d	1d 28/56/84d 7-9d		0-28d	3-28d	0-28d			14-28d+			<i>Bind et al., 2012*</i> <i>Alexeeff et al., 2012*</i> <i>Wilker et al., 2012*</i> <i>Madrigano et al., 2010</i>
E-Selectin			0-5d	0-5d	0-5d		1d	1d		0-5d	1d	<i>Hildebrandt et al., 2009*</i>

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit. ^b Studied as effect modification. [▲] In Panasevich et al. 2009 (50% of population had hypertension).

Table S7 Acute Exposure: Results - autonomic nervous system..

Biomarker	PM _{2.5}	BC	SO ₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²⁻	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study
HR	1d 0-1d		1d	0-6d		1d	0-6d	3d		0-6d		<i>Rich et al., 2012</i> <i>Liu et al., 2009b</i>
HRV	3-3d 0-1d 5min- 2h	0-1d								0-1d	0-1d	<i>Hartog et al., 2009*</i> <i>Folino et al., 2009*</i> <i>Wu et al., 2011</i>
BP	0-1d 3d 1-8h/5d 2d 7d	0-1d	3d	3d	3d	2d	0-1d	3d	0-6d	3d		<i>Liu et al., 2009b</i> <i>Rich et al., 2012</i> <i>Delfino et al., 2010c*</i> <i>Dvonch et al., 2009</i> <i>Mordukhovich et al., 2009*</i>
BDA	0-1d+	0-1d+										<i>Liu et al., 2009b</i>
ET-1	0-1d+	0-1d+										<i>Liu et al., 2009b</i>
VEGF	0-1d+	0-1d+										<i>Liu et al., 2009b</i>

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit

Table S8. Acute Exposure: Results - inflammation.

Biomarker	PM _{2.5}	BC	SO ₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²⁻	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study
CRP			7d	7d	7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
			2/5d		2/5d				2/5d		2/5d	<i>Panasevich et al., 2009</i> [▲]
				1-4d	1-4d				1-4d		1-4d	<i>Rudez et al., 2009</i>
		0-28 d	0-28d	0-28d	0-28d				4h-1d			<i>Bind et al., 2012</i> *
									2d		5d	<i>Hoffmann et al., 2009</i> *
		0-21d							0-28d		0-28d	<i>Lee et al., 2011</i> *
		0-1d										<i>O'Toole et al., 2010</i>
		3/30/60d										<i>Williams et al., 2011</i> *
		0-1d	0-1d									<i>Liu et al., 2009b</i>
		5d+								1/3d	1/3/5d	<i>Delfino et al., 2009</i> *
											0-1d	<i>Tsai et al., 2012</i> [▲]
		1-2d/5d									0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> *
		0-1d		0-1d		0-1d	0-1d		0-1d	0-1d		<i>Luttmann-Gibson et al., 2010</i> ^{b*}
		0-1d								0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> *
	0-6d		0-6d	0-6d	0-6d	0-6d	0-6d	0-6d	0-6d		<i>Rich et al., 2012</i> ^a	
	2-28d										0-3d/2-28d	<i>Hertel et al., 2010</i> *
			0-5d	0-5d	0-5d		1d	1d		0-5d	1d	<i>Hildebrandt et al. 2009</i> *
Amyloid A	0-1d											<i>O'Toole et al., 2010</i>
	3/30/60d											<i>Williams et al., 2011</i> *
			0-5d	0-5d	0-5d		1d	1d		0-5d	1d	<i>Hildebrandt et al., 2009</i> *
MPO	0-3d										0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> *
PTX3	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> *

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit. ^b Studied as effect modification.

[▲] In Panasevich et al. 2009 (50% of population had hypertension) and in Tsai et al. 2012 (83% of population were non-healthy).

Table 9. Acute Exposure: Results - cells and immunity.

Biomarkers	PM _{2.5}	BC	SO ₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²⁻	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study	
Neutrophils	2h										2h	<i>Jacobs et al., 2010a</i> ^{*1}	
	30min									30min	30min	<i>Jacobs et al., 2010b</i>	
WBC	30min									30min	30min	<i>Jacobs et al., 2010b</i>	
	2h										2h	<i>Jacobs et al., 2010a</i> ^{*1}	
	0-3d										0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> [*]	
	0-6d			4-6d+	5-6d+	5d+	0-6d	5d+	0-6d	0-6d			<i>Rich et al., 2012</i>
	0-1d			0-1d		0-1d	0-1d		0-1d	0-1d			<i>Luttmann-Gibson et al., 2010</i> ^{*b}
Lymphocytes T²	3d											<i>Williams et al., 2011</i> ^{*1}	
Lymphocytes (T & B)	2h											<i>Jacobs et al., 2010a</i> ^{*1}	
NK cells³	3/30/60d											<i>Williams et al., 2011</i> ^{*1}	
GM-CSF	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
IL-1β	0-3d										0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> ^{*a}	
	0-1d											<i>OToole et al., 2010</i>	
											0-1/0-6d	<i>Tsai et al., 2012</i> [▲]	
IL-6	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
											0-1/0-6d	<i>Tsai et al., 2012</i> [▲]	
	0-7d			4-5d		0-7d			1-6d			<i>Thompson et al., 2010</i>	
	0-1d			0-1d		0-1d			0-1d		0-1d	<i>Panasevich et al., 2009</i> [▲]	
	0-1d	0-1d										<i>Liu et al., 2009b</i>	
	0-1d											<i>O'Toole et al., 2010</i>	
											30min	<i>Jacobs et al., 2010b</i>	
	1/3/5d						1/3/5d			1/3d	1/3/5d	<i>Delfino et al., 2009</i> [*]	
	5d+	5d		5d	5d			5d	5d	5d	5d	<i>Delfino et al., 2010</i> [*]	
										5d		<i>Delfino et al., 2010b</i> [*]	
0-3d										0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> ^{*a}		
3/30/60d											<i>Williams et al., 2011</i> ¹		
0-1d			0-1d		0-1d	0-1d		0-1d	0-1d			<i>Luttmann-Gibson et al., 2010</i> ^{*b}	
IL-8	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
IL-10	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
IL-12	0-3d										0-3d	<i>Huttunen et al., 2012</i> [*]	
TNF-α	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
	0-1d	0-1d										<i>Liu et al., 2009b</i>	
				0-1d		12h-1d			0-1d			<i>Panasevich et al., 2009</i> [▲]	
											0-1/0-6d	<i>Tsai et al., 2012</i> [▲]	
TNF-RII	1/3/5d						1/3/5d			1/3d	1/3/5d	<i>Delfino et al., 2009</i> [*]	
										5d		<i>Delfino et al., 2010a</i> [*]	
IL2	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
IL4	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	
INF-γ	0-1d									0-1d	0-1d	<i>Folino et al., 2009</i> ^{*a}	

Table 10. Acute Exposure: Results - oxidative stress.

Biomarker	PM _{2.5}	BC	S ₀₂	CO	NO ₂	SO ₄ ²	OC	EC	O ₃	UFP	PM ₁₀	Study
Isoprostanes	0-3d		0d						0-3d			<i>Liu et al., 2009a*</i>
	0-1d	0-1d										<i>Liu et al., 2009b</i>
	3h-22h											<i>Allen et al., 2009</i>
			4h									<i>Raulf-Heimsoth et al., 2010</i>
	3d/5d+	0-4d							0-5d+			<i>Patel et al., 2013</i>
	3d		0/3-5d	4d		0/3-4d	0-6d	0-6d	0-6d			<i>Huang et al., 2012b</i>
8-OHdG	3-22h											<i>Allen et al., 2009</i>
						18-24d	18-24d		18-24d			<i>Ren et al., 2010*</i>
	1-7d	0-21d		0-21d	14d/21d	7/14/21d	21d	0-21d	21d		1-7d	<i>Ren et al., 2011*</i>
	2d		1-4d	1-3/5-6d	1-3d	0-3d	1-3d	1-3d	5d+			<i>Huang et al., 2012b*</i>
8-oxodG	1-7d										1-7d	<i>Svecova et al., 2009</i>
	2d											<i>Rosnner et al., 2011*</i>
GPx	1/3/5d						1/3/5d			1/3d	1/3d	<i>Delfino et al., 2009*</i>
SOD	1d						1/3/5d			1/3d	1/3/5d	<i>Delfino et al., 2009*</i>
TBARS	0-3d		0-1/2-3d		0-1/3d				0-3d			<i>Liu et al., 2009a*</i>
	0-1d	0-1d										<i>Liu et al., 2009b</i>
			7d	7d	7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>
	6h											<i>Kim et al., 2009</i>
	0-2d										0-2d	<i>Bae et al., 2010</i>
	4h											<i>Stockfelt et al., 2012</i>
Ox-LDL			7d	7d	7d				7d		7d	<i>Kelishadi et al., 2009</i>

Grey highlight: no find relation between biomarker and air pollution; * Susceptible population; + Inverse relation. ^a below detection limit. • occupational group.

List of abbreviations

1-OHN – 1-hydroxynaphthalene	LBP – Lipopolysaccharide-binding protein
1-OHP – 1-hydroxypyrene	LTL – Leukocytes telemeter length
1-OHPG – 1-hydroxypyrene-glucuronide	MBP – Mono-butyl phthalate
1-PHEN – 1-hydroxyphenanthrene	MCP-1 – Monocyte chemoattractant protein-1
2-FLUO – 2-hydroxyfluorene	MCP-1 – Monocyte chemotactic protein 1
2-OHN – 2-hydroxynaphthalene	MDA/TBARS – Malondialdehyde/Thiobarbituric reactive substances
2-PHEN – 2-hydroxyphenanthrene	MDC – Macrophage-derived chemokine
3-FLUO – 3-hydroxyfluorene	MEHHP – Mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate
3-PHEN – 3-hydroxyphenanthrene	MEOHP – Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate
4-PHEN – 4-hydroxyphenanthrene	MHA – Methyl Hippuric
8-OHdG – 8-hydroxydeoxyguanosine	MHBMA – Monohydroxy Mercapturic Acid
8-oxodG – 8-oxo-2'-deoxyguanosine	MTBE – Methyl ter-butyl ether
9-FLUO – 9-hydroxyfluorene	NO ₂ – Dioxide of Nitrogen
9-PHEN – 9-hydroxyphenanthrene	O ₃ – Ozone
BAD – Brachial artery diameter	OC – Organic carbon
BAEPs – Brainstem auditory evoked potential	OH-PAHs – Monohydroxylated PAHs (1-OHP, 1-OHN, 2-OHN, 2-FLUO, 3-FLUO, 9-FLUO, 1-PHEN, 2-PHEN, 3-PHEN, 4-PHEN)
B-B – Blood benzene	OSDI – Ocular symptom disease index
BC – Black carbon	Ox-LDL – Low density lipoprotein oxidation
BMI – Body mass index	PAHs – Polycyclic aromatic hydrocarbon
BP – Blood pressure	PAI – Plasminogen activator inhibitor 1
BTEX – m+p-xylene and o-xylene	PGE2 – Prostaglandin E2
B-U – Urinary benzene	PM – Particulate Matter
CC16 – Clara cell protein	PM0.25 – Particulate matter (diameter equal to 0.25 micrometer)
CO – Monoxide of Carbon	PM10 – Particulate Matter (diameter less than 10 micrometer)
CRP – C-reactive protein	PM2.5 – Particulate Matter (diameter less than 2.5 micrometer)
EBC – Exhaled breath condensate	PN – particle number
EBV-EA – Epstein-barr virus early antigen	POA – Primary organic aerosol
EBV-VCA – Epstein-barr virus capsid antigen	RHI – Reactive hyperemia index
EC – Elemental carbon	SA – Sorbic acid
EPC – Endothelial progenitor cells	SO ₂ – Dioxide of Sulfur
ET-1 – Endothelin-1	SO ₂ ⁻⁴ – Sulphate
ETBE – Ethyl tert-butyl ether	SOA – Secondary organic aerosol
ETP – Endogenous thrombin generation	SOD – Superoxide dismutase
FeNO – Fraction of exhaled nitric oxide	SPA - Surfactant-associated Protein A
GFAP – Glial fibrillary acidic protein	SPD - Surfactant-associated Protein D
GM-CSF – Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	SPMA – S-phenylmercapturic acid
GPx – Glutathione peroxidase	t,t-MA – T,t-muconic acid
H ₂ SO ₄ – Sulfuric Acid	TAME – Tert-amyl methyl ether
HA – Hippuric Acid	TBUT – Tear breakup time
HDA – Urinary 1,6-hexamethylene diamine	TF – Platelet tissue factor
HDI – 1,6-hexamethylene diisocyanate	TGF-β – Transforming growth factor beta
HDL – High-density lipoprotein	TIBIC – Total iron-binding capacity
HLA-DR – Human leukocytes antigen-DR	TM – Thrombomodulin
HR – Heart rate	TNF-RII – Tumor necrosis alpha receptor II
HSP60 – Heat shock protein 60	TNF-α – Tumor necrosis factor
HVS-1 – Herpes simplex virus-1	TOL-U – Urinary toluene
IbA1 – Ionized calcium binding adaptor molecule 1	VEGF – Vascular endothelial growth factor
ICAM-1 – Intercellular adhesion molecule 1	VOCs – Volatile organic compounds
IFN-γ - Interferon gamma	vWF – von Willebrand factor
IgG – Immunoglobulin G	WBC – White blood cells
IgM – Immunoglobulin M	ΣOHPHE – Hydroxylated Phenanthrenes Sum of 1-, 2-, 9-, 3-, 4- and 9 Hydroxyphenanthrenes
IL-12 – Interleukin 12	
IL-1β – Interleukin 1 beta	
IL-6 – Interleukin-6	
IL-8 – Interleukin 8	
iNOS – Inducible nitric synthase	
IVCAM-1 – Vascular cell adhesion molecule 1	

5.2. ARTIGO II – FATORES ASSOCIADOS A BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM UMA POPULAÇÃO INFANTO-JUVENIL DA AMAZÔNIA OCIDENTAL BRASILEIRA.

*Beatriz Fátima Alves de Oliveira¹, Leandro Vargas Barreto de Carvalho¹, Dennys de Souza Mourão¹,
Simone Mitri², Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos², Hermano Albuquerque de Castro², Paulo
Artaxo³, Washington Leite Junger⁴, Sandra Hacon¹*

*¹Pós-graduação de Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) / Fundação
Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; ²Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia
Humana (CESTEH), Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) / Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de
Janeiro, Brasil; ³Instituto de Física, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil; ⁴Departamento de
Epidemiologia, Instituto de Medicina Social (IMS) / Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de
Janeiro, Brasil*

Resumo: O estresse oxidativo é um processo biológico que ocorre em detrimento do desequilíbrio entre substâncias pró e antioxidante e já foi descrito na fisiopatologia de mais de 200 desordens clínicas. **Objetivo:** avaliar a relação entre fatores genéticos, demográficos, sociais, ambientais e de saúde e os biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes expostas a poluentes atmosféricos na Amazônia Ocidental Brasileira. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo transversal, observacional e de caráter descritivo sobre a relação entre os fatores demográficos, genéticos e socioambientais e as concentrações séricas de biomarcadores de desbalanço redox (grupamento tiol, malondialdeído e atividade enzimática da GST) em crianças e adolescentes residentes no município de Porto Velho (RO). Os fatores investigados foram organizados hierarquicamente em blocos de variáveis e sua relação com os biomarcadores de desbalanço redox estimada pelo modelo de regressão linear múltipla. **Resultados:** Crianças e adolescentes com asma, valores de proteína C reativa acima de 6 mg/L, portadores da variante polimórfica GSTP1 e expostas a poluição *indoor* apresentaram menores concentrações séricas de tiol quando comparadas àquelas categorizadas em seus respectivos grupos de referência. A atividade da GST e as concentrações séricas de malondialdeído foram relacionadas positivamente com o consumo semanal de peixe e com a exposição ao PM_{2,5}. **Conclusão:** Este estudo mostrou que a atividade enzimática da GST e as concentrações séricas de malondialdeído estão positivamente relacionadas a variáveis ambientais enquanto as concentrações séricas de tiol apresentaram um relação inversamente proporcional com marcadores do estado geral de saúde como asma e inflamação aguda e com fatores genéticos.

Palavras-chave: Desbalanço redox, glutatona S-transferase, grupamento tiol, malondialdeído, Amazônia Brasileira

Introdução

O estresse oxidativo, também denominado desbalanço redox, tem se tornado parte integrante de diversas discussões acadêmicas, principalmente para o entendimento de diversos mecanismos fisiopatológicos. Esse processo biológico foi descrito nos estágios iniciais ou no curso de mais de 200 desordens clínicas (Kohen, Nyska, 2002) que incluem doenças cardiovasculares (Fearon, Faux, 2009; Lee et al., 2012), pulmonares (Kirkham, Barnes, 2013), neoplasias (Reuter et al., 2010; Sosa et al., 2013) e neurodegenerativas (Chen et al., 2012).

O desbalanço redox é definido como o desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes. Esse desequilíbrio é estabelecido pela produção excessiva de espécies reativas – moléculas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados no seu orbital e apresentam altíssima avidéz para reagir com átomos de outras moléculas – e/ou por falhas ou atuação ineficiente do sistema antioxidante (Finkel, Holdbrook, 2000; Schafer, Buettner, 2001; Grow, Ischiropoulos, 2001).

As espécies reativas são produzidas naturalmente ou por alguma disfunção biológica. As principais espécies reativas correspondem àquelas cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) (Visioli et al., 2000; Finkel, Holdbrook, 2000; Halliwell, 2000; Pietta, 2000). O papel das ERO como indutor ou mediador foi relatado no desenvolvimento de inúmeros cânceres (Brown, Bicknell, 2001; Droge, 2002; Reuter et al., 2010; Sosa et al., 2013), disfunção endotelial, aterosclerose e outras doenças cardiovasculares (Aikawa et al., 2001; Channon, Guzik, 2002; Fearon et al., 2009; Lee et al., 2012), inflamação aguda e crônica (Hald, Lotharius, 2005; Reuter et al., 2010; Salzano et al., 2014), doenças do trato intestinal (Blau et al., 1999, 2000a, 2000b), diabetes (Baynes, 1991; Droge, 2002; Elangovan et al., 2000; Mercuri et al., 2000) e doenças neurodegenerativas (Floyd et al., 1999; Barnham et al., 2004; Hald, Lotharius, 2005, Chen et al., 2012).

Em condições fisiológicas normais, as espécies reativas são mantidas em equilíbrio devido, em grande parte, à capacidade de neutralização do sistema de defesa antioxidante enzimático que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase e catalase (CAT), e não-enzimáticos com atuação da glutathiona (GSH), vitamina C e D (Sies, 1991). Quando, em determinadas condições, a capacidade antioxidante é ineficiente, a produção de espécies reativas, especialmente as ERO's, provocam danos oxidativos com conseqüente adaptação (se os danos não forem muito severos), lesão celular (danos a biomoléculas do organismo como as proteínas, lipídios e ao DNA) e/ou morte celular por necrose ou apoptose, sobretudo em condições grave de desbalanço redox (Halliwell, 1990, 1995; Kohen et al., 1999; Kohen, Gati, 2000).

As substâncias envolvidas no binômio antioxidante-pró-oxidante caracterizam o ambiente redox biológico e o equilíbrio deste pode ser influenciado por uma gama de fatores modificáveis e não-modificáveis, tais como fatores ambientais, demográficos, étnicos, culturais, clínicos e nutricionais (Vasconcelos et al., 2007). Assim, a condição de desbalanço redox foi relatada como resultado de inúmeras exposições ambientais como poluição do ar (Kelly, 2003; Li et al., 2003), tabagismo (Varela-Carver et al., 2010) e raios ultravioletas (Birch-Machin et al., 2013), prática intensa de exercícios físicos (Souza Jr et al., 2005; Cruzat et al., 2007), estresse (Patki et al., 2013) e dieta deficiente (Halliwell, 1996; Evans, Halliwell, 2001).

O desbalanço redox está intimamente associado com o processo de envelhecimento (Harman, 1998) e as crianças são mais vulneráveis que os adultos a essa condição, pois apresentam concentrações naturalmente baixas de antioxidante, desde a concepção até a infância (Erden-Inal et al., 2002; Ono et al., 2001). Esse déficit natural tende a aumentar o risco de danos permanentes e irreversíveis associadas a exposição ambiental precoce, pois alguns desses antioxidantes como a glutathiona participam do processo de detoxificação de

poluentes. Assim, o estudo de biomarcadores de desbalanço redox nesse grupo etário pode ajudar na compreensão do surgimento de doenças crônicas desencadeadas por determinadas exposições ambientais ou mesmo fornecer elementos referentes ao processo de adaptação do organismo a essas mesmas exposições (Oliveira et al., 2014).

Os efeitos de exposições ambientais em crianças e adolescentes residentes na região da Amazônia Brasileira são, particularmente desafiadores para a comunidade científica. Isso porque essa região apresenta um cenário complexo de interação entre fatores ambientais, sociais, espaciais, temporais e econômicos. Essa região possui péssimos indicadores socioeconômicos e um histórico de exposição à poluentes atmosféricos e ao metilmercúrio provenientes, respectivamente da queima de biomassa e do passivo ambiental deixado pelas atividades garimpeiras na região. Dentro desse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre fatores genéticos, demográficos, sociais, ambientais e de saúde e os biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes expostas a poluentes atmosféricos na Amazônia Ocidental Brasileira.

Materiais e métodos

Local de estudo

O município de Porto Velho situa-se na região Ocidental da Amazônia brasileira, com latitude 8°45'00" ao Sul e longitude 63°58'00" ao Oeste. Cerca de 90% da população reside na área urbana e dos 428527 habitantes, 23% correspondem a crianças e adolescentes com idade entre 5 a 17 anos (IBGE, 2010). O município é formado ainda por uma população rural/ribeirinha que vive em núcleos comunitários constituídos, em média, de vinte e trinta domicílios dispersos às margens do rio Madeira – um dos mais importantes afluentes do rio Amazonas.

O clima deste município é típico da região Amazônica brasileira, quente, úmido e tropical, com temperatura média de 26°C e umidade relativa do ar média de 80% (INPE, 2013). Possui ciclos bem definidos de chuva e seca compreendidos, respectivamente, entre novembro a abril e julho a outubro. Durante a seca, a temperatura máxima atinge, em média, valores de 39°C e a umidade relativa do ar varia entre 52% a 75%. Além de temperaturas elevadas, nesse período, o município sofre ainda com as intensas queimadas e com a dispersão da pluma de poluentes gerada pela fumaça de países vizinhos, como a Bolívia.

Desenho de estudo e população do estudo

Realizou-se um estudo transversal, observacional e de caráter descritivo sobre a relação entre os fatores demográficos, genéticos, socioambientais e de saúde e as concentrações séricas de biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes residentes no município de Porto Velho, Rondônia, no período de estiagem (julho e agosto de 2012). A amostra desse estudo foi constituída de 200 crianças e adolescentes com idade entre 5 a 17 anos e que residiam a pelo menos 1 ano na reserva extrativista de Cuniã (uma área rural/isolada), ou na comunidade Belmont (situada na área periurbana da cidade), ou no bairro Nacional (localizado na área urbana).

Todos os responsáveis das crianças e adolescentes assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCE), consentindo a participação destas no estudo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública com parecer favorável nº 936.350/CEP/ENSP/2014.

Modelo teórico-explicativo

As concentrações séricas de biomarcadores de desbalanço redox foram usadas como variável dependente e os fatores demográficos, genéticos, socioambientais e de saúde como

variáveis explicativas. As variáveis explicativas foram organizadas hierarquicamente em três blocos de variáveis classificados em : a) Proximal - variáveis biológicas não modificáveis como idade, sexo e variantes polimórficas nas enzimas GST's; b) Intermediário - variáveis relacionadas à história e ao estado geral de saúde das crianças, tais como asma, obstrução pulmonar, sinais e sintomas respiratórios, glicemia sérica, anemia ferropriva, ferro sérica, imunoglobulina E específica para inalantes, inflamação aguda (proteína C reativa), contagem de eosinófilos, avaliação antropométrica, obesidade e consumo semanal de peixe; c) Distal bloco de variáveis que representam as características socioeconômicas (renda [valor do salário mínimo de 2012 de R\$ 622], escolaridade e local de residência) e exposições ambientais (poluição *outdoor* e *indoor* [definida por uso de fogão a lenha ou casa para produção de farinha] , fumo, temperatura, umidade e mercúrio no sangue).

Abordagens experimentais

Para realização do estudo, foram realizadas coleta de sangue, dosagem de biomarcadores de desbalanço redox, mensuração das concentrações de mercúrio no sangue (Hg-S), análise de variantes polimórficas das enzimas GST's, monitoramento de poluentes atmosféricos, espirometria, inquérito epidemiológico e avaliação antropométrica.

Coleta sangue: todas as amostras de sangue foram coletadas em jejum de no mínimo 8 horas, com seringa de 10 ml com agulha 25x7 BD® descartáveis, e transferidas para os respectivos tubos de coleta (*vacutainer*) com EDTA para coleta de sangue total e sem anticoagulante com gel separador para demais ensaios imunológicos. A coleta foi realizada sob responsabilidade do laboratório do Hospital 9 de Julho – CEACLIN (Porto Velho, Rondônia). As amostras para mensuração dos biomarcadores desbalanço redox foram distribuídas em microtubos do tipo *ependorf* e transportadas em isopores com gelo seco para o Laboratório de Toxicologia do CESTEJ (ENSP/FIOCRUZ) no Rio de Janeiro, onde foram realizadas as análises. Todas

amostras foram mantidas em ultrafreezer a -80° tanto no laboratório da CEACLIN quanto do CESTEJ e foram descongeladas somente no momento da análise.

Exames de sangue: os exames de hemograma completo, ferritina, glicose, proteína C reativa e IgE múltiplo para inalantes foram realizados também pelo laboratório do Hospital 9 de Julho – CEACLIN (Porto Velho, Rondônia).

Biomarcadores de desbalanço redox: foram mensurados três biomarcadores de desbalanço redox: grupamento tiol (componente do sistema antioxidante), atividade da glutathione S-transferase (GST – atividade enzimática de detoxificação dos poluentes) e malondialdeído (MDA – produto da peroxidação de lipídios). O grupamento tiol foi medido pelos métodos descritos originalmente por Ellman (1959) e modificados por Hu (1994), a atividade enzimática da GST pelo método de Habig et al. (1974), adaptado por Habdous et al. (2002) e o MDA usando o TBARS ASSY KIT da marca Cayman Chemical. Todas as análises foram realizadas usando a espectrofotometria no UV-Vis como técnica instrumental (os equipamentos Jasco V-530 [Kyoto, Japão] e Shimadzu UV-1601 [Kyoto, Japão]).

Mercúrio no sangue: devido ao potencial de contaminação por metilmercúrio (MeHg) nessa região via consumo de peixe e também por ser uma exposição ambiental associada ao desbalanço redox, o mercúrio (Hg-S) foi analisado no sangue das crianças e adolescentes pelo Laboratório de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) por meio do método ICP-MS (Palmer et al., 2006). A exposição ao MeHg também foi avaliada pelo consumo de peixe (consumo menor ou maior que 3 vezes na semana).

Variante polimórfica nas enzimas da Glutathione S-transferase: as variantes polimórficas GSTM1 e GSTT1 foram identificadas por amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) multiplex usando amplificação simultânea da beta-globina como controle positivo onde os resultados foram visualizados em gel de agarose (HATAGIMA et al., 2000; BURIM et al., 2004; GATTAS et al., 2004). A genotipagem da variante polimórfica GSTP1 foi

realizada por PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) e os resultados revelados por meio de eletroforese gel de agarose e, posteriormente, o fragmento amplificado (176 pb) foi submetido à digestão com a enzima de restrição ALW261 (BURIM et al., 2004; LIU et al., 2006).

Monitoramento da qualidade do ar: as variáveis ambientais de poluição do ar foram medidas na estação de monitoramento do ar do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (USP) implantada no parque natural de Porto Velho para o desenvolvimento deste estudo. Os dados de PM_{2,5} foram coletados por meio do amostrador de partículas finas e grossas (AFG) usando filtros de policarbonato com 47 mm de diâmetro e poros de 8 µm e 4 µm. As concentrações médias de PM_{2,5} (média móvel de 5 dias anteriores a coleta de dados) foram categorizadas em 4 distintos grupos segundo os seguintes intervalos: a) Grupo 1 [grupo de referência] – concentrações abaixo do percentil 25; b) Grupo 2 [baixa exposição] – concentrações entre percentil 25 e 50; c) Grupo 3 [moderada exposição] – concentrações entre percentil 50 e 75; e d) Grupo 4 [alta exposição] – concentrações acima do percentil 75. As variáveis climáticas que incluem temperatura e umidade relativa do ar foram obtidas pelo Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC).

Espirometria: O exame da espirometria foi realizado por meio do pneumotacógrafo de Fleish da marca KOKO. Desse exame, o parâmetro volume expiratório forçado no primeiro foi usado para definição de crianças com obstrução pulmonar.

Inquérito epidemiológico: um questionário semi-estruturado baseado em questionários validados pelo Ministério da Saúde foi aplicado aos pais ou responsáveis pelas crianças e adolescentes. Esse questionário é constituído por módulos específicos para investigação das condições de saúde da criança, hábitos alimentares, exposições ambientais (poluição *indoor* e *outdoor* e fumo), condições do domicílio e dados socioeconômicos dos pais ou responsáveis. A metodologia do *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (Steering

Committee – ISAAC, 1998) foi usada para definição de crianças asmáticas. Os estratos de renda foram definidos usando o valor do salário mínimo de 2012 de R\$ 622.

Avaliação antropométrica: o peso foi medido por meio de uma balança digital devidamente testada e calibrada da marca G-TECH Glass PRO (Glicomed, Rio de Janeiro, Brasil) e a altura por meio de um estadiômetro portátil de coluna de madeira e alumínio anodizado. A obesidade foi definida como índices superiores a 2,0 escores Z acima da mediana da população de referência, considerando as curvas de crescimento IMC/Idade da Organização Mundial de Saúde (OMS). Os dados das crianças foram compilados e analisados pelo programa WHO Anthro 2005.

Análise estatística

Na análise exploratória, a média, mediana, desvio padrão e intervalo interquartil dos biomarcadores de desbalanço redox foram calculados segundo os estratos das variáveis categóricas. Os testes não-paramétricos de *Mann-Whitney* e *Kruskal Wallis* foram usados para comparar as concentrações do grupamento tiol e o teste t e anova para comparar as médias da atividade da GST e MDA entre os estratos estudados. Os coeficientes de correlação de Pearson foram calculados para as variáveis numéricas sendo estas ln-transformadas (normalizadas) quando a variável não apresentava distribuição normal.

Vários modelos de regressão linear múltipla foram estimados para avaliar a relação entre os biomarcadores de desbalanço redox (grupamento tiol, GST e MDA) e das variáveis demográficas, genéticas, sociais, ambientais e de saúde. Foram testadas no modelo multivariado todas as variáveis que na análise bivariada apresentou p-valor < 0,10. A inclusão das variáveis no modelo multivariado foi feita de acordo com os blocos de variáveis organizados hierarquicamente. Primeiro foram testadas as variáveis do bloco proximal, depois do bloco intermediário e, por último, aquelas variáveis inseridas no bloco distal. No modelo

final, permaneceram aquelas variáveis que apresentaram p -valor $<0,05$ ou plausibilidade biológica. Os modelos foram ajustados através da ANOVA ou Critério de Informação de Akaike (AIC), R^2 ajustado e análise de resíduos. Ainda foram verificadas as influências de valores extremos nos modelos finais. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o apoio do programa R, versão 3.1.3.

Resultados

Do total de 200 crianças e adolescentes, 53% tinham idade entre 5 a 11 anos e 59% eram do sexo feminino. Em relação aos biomarcadores de desbalanço redox, em 197 crianças e adolescentes foi possível a mensuração do grupamento tiol e MDA e em 194 a atividade da GST. As concentrações séricas médias de grupamento tiol, da atividade enzimática da GST e do MDA foram 0,48 mmol/L (SD \pm 0,09), 19,8 U/L (SD \pm 7,5) e 1,50 μ mol/L (SD \pm 0,328), respectivamente (Tabela 1, 2 e 3).

A média, desvio padrão, mediana e intervalo interquartil do grupamento tiol segundo os blocos de variáveis (proximal, intermediário e distal) foram apresentados na Tabela 1. Em relação ao bloco proximal, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes das concentrações séricas de tiol para idade, sexo e polimorfismo na GST. Para variáveis do bloco intermediário, crianças e adolescentes com asma apresentaram menores concentrações séricas de tiol quando comparadas as crianças não asmáticas (0,45 mmol/L \pm 0,042 vs. 0,48 mmol/L \pm 0,114; p -valor $<0,05$). Entre as variáveis distais, as concentrações de tiol foram diferentes entre os estratos de renda média familiar (p -valor $<0,05$).

A Tabela 2 resume os valores da atividade da GST, conforme os blocos de variáveis estudadas. No bloco proximal, diferente do que se esperava, a atividade da GST, em média, foi maior entre os portadores da variante polimórfica GSTM1 (22,8 U/L \pm 7,64 vs. 20,0 U/L \pm 7,65; p -valor $<0,05$). Nas variáveis intermediárias, as médias da atividade da GST foram

maiores entre crianças e adolescentes com anemia ferropriva (22,0 U/L \pm 8,22 vs. 19,3 U/L \pm 7,20; p-valor=0,053) e que consomem peixe mais de 3 vezes na semana (25,4 U/L \pm 6,31 vs. 17,8 U/L \pm 6,78; p-valor<0,001). Nas variáveis distais, verificou-se, em média, maior atividade de GST entre aqueles em que a renda familiar é menor que 1 salário mínimo, os pais ou responsáveis não sabem ler ou completaram até 5º ano, residem na região rural/ribeirinha, relataram queimar lixo, estão expostos a alguma fonte de poluição do ar *indoor* (casa de farinha ou fogão a lenha) e foram expostos aos grupos de moderada e alta exposição ao PM_{2,5}.

Em relação ao produto de peroxidação lipídica, a descrição das medidas de tendência central e dispersão segundo as variáveis analisadas foram apresentadas na Tabela 3. No bloco proximal, as médias de MDA foram maiores em crianças do que em adolescentes (1,50 μ mol/L \pm 0,350 vs. 1,39 μ mol/L \pm 0,300; p-valor<0,05). Nas variáveis classificadas como intermediárias, os estratos “reagente” da variável IgE hx2 e consumo de peixe maior que 3 vezes na semana apresentaram, em média, maiores concentrações séricas de MDA quando comparados aos seus grupos de referência. Quando analisadas as variáveis distais, observaram-se maiores médias entre crianças e adolescentes residentes da área ribeirinha e de pais com ensino do 6º ao 9º ano. Ainda, as médias de MDA foram maiores entre crianças e adolescentes que relataram possuir em seu domicílio alguma fonte de poluição *indoor* e naqueles grupos expostos a maiores concentrações de PM_{2,5}.

A correlação de *Pearson* entre os biomarcadores desbalanço redox foi calculada para variáveis contínuas e discretas e apresentada na Tabela 4. As concentrações séricas de tiol foram correlacionadas positivamente com hemoglobina (r=0,172; p-valor<0,05) e com ferro sérico (r=0,206; p-valor<0,05). A atividade de GST esteve positivamente correlacionada com as concentrações séricas de MDA (r=0,312; p-valor<0,05), ferro (r=0,300; p-valor<0,05) e Hg-sangue (r=0,398; p-valor<0,05). Por outro lado, a atividade da GST foi negativamente correlacionada com IMC (r=-0,162; p-valor,0,05) e glicose sérica (r=-0,266; p-valor<0,050).

Em se tratando das concentrações de MDA, observou-se uma correlação positiva com a contagem de eosinófilos ($r=0,178$; $p\text{-valor}<0,05$) e Hg-sangue ($r=0,228$; $p\text{-valor}<0,05$) e uma relação negativa com a idade ($r=-0,143$; $p\text{-valor}<0,05$).

O modelo de regressão linear múltiplo construído para avaliar as concentrações de tiol (ln-transformado) que apresentou o melhor ajuste e R^2 ajustado foi composto pelas seguintes variáveis: preteína-C-reativa, variante polimórfica GSTP1, hemoglobina, ferro sérico, renda familiar, poluição *indoor* e grupos de exposição ao $PM_{2,5}$. Para o modelo tendo a atividade da GST como variável resposta, além das concentrações de tiol, as variáveis consumo de peixe e grupos de exposição ao $PM_{2,5}$ foram associadas a esse biomarcador (R^2 ajustado=55%). Quanto ao MDA, notou-se uma relação negativa com idade e positiva com IgE, obstrução pulmonar, maior consumo de peixe e grupos de exposição ao $PM_{2,5}$ (R^2 ajustado=27%) (Tabela 5).

A relação entre os biomarcadores de desbalanço redox e os quartis de $PM_{2,5}$ foram demonstrados na Figura 2. Sem ajuste, os grupos de exposição ao $PM_{2,5}$ contribuíram, 49% e 14% da variância dos biomarcadores a atividade da GST e MDA, respectivamente. Como observado, o coeficiente de regressão linear múltipla aumenta, especialmente nos modelos da atividade da GST e MDA, conforme os grupos de exposição ao $PM_{2,5}$, mesmo depois de ajustado por variáveis demográficas, genéticas, sociais e de saúde.

Discussão

O desbalanço redox resultante do desequilíbrio entre espécies pró e antioxidante pode ser influenciado por uma gama de fatores intrínsecos e extrínsecos (Cadenas, Davies, 2000; Vasconcelos et al., 2007) e os resultados desse estudo mostraram uma significativa relação de fatores ambientais, como a exposição ao $PM_{2,5}$ e Hg, com as concentrações séricas de MDA e

com o aumento da atividade enzimática GST em crianças e adolescentes da Amazônia brasileira.

Nos últimos 20 anos, a Amazônia Brasileira tem passado por mudanças drásticas no padrão de uso solo, com a conversão de florestas em áreas de pastagem que representam uma fonte a longo prazo da emissão de poluentes por meio da queima de biomassa (Guild et al. 2004). Cardozo et al. (2014) demonstraram que mesmo com a redução do desmatamento, em determinadas áreas como Rondônia, o fogo ainda é utilizado na manutenção e/ou abertura de novas áreas para a agropecuária em áreas já desmatadas.

Além dos impactos ambientais, os potenciais efeitos na saúde humana, principalmente de grupos vulneráveis como as crianças, foram sugeridos ou reportados em diversas regiões da Amazônia Brasileira (Ignotti et al., 2010a; 2010b; Oliveira et al., 2012; Jacobson et al., 2012, 2014). Em um estudo de série temporal conduzido na região subequatorial dessa região, verificou-se um incremento percentual de 6% (CI 95%: 1,4-10,8) no lag 3 e 5,1% (IC95: 0,6-9,8) no lag 4 nas internações por doenças respiratórias em crianças menores de 5 anos a cada aumento de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ na seca de 2005 (Ignotti et al., 2010a).

Os efeitos da poluição do ar na saúde humana já foram amplamente relatados em estudos epidemiológicos (Pope, Dockery, 2006; Gouveia et al., 2006; Chen et al., 2008) e o desbalanço redox foi incluído como um dos principais mecanismos de atuação desses poluentes no organismo humano (Li et al., 2003; Kelly, 2003; Valavanidis et al., 2008; Ayres et al., 2008). Os poluentes atmosféricos podem induzir diretamente a formação de espécies reativas devido à sua composição química (Li et al., 2003; Valavanidis et al., 2008) ou indiretamente por meio de seus efeitos proinflamatórios (Kumagai et al., 1997; Nel et al., 1998, 2001).

Diversos biomarcadores de desbalanço redox foram estudados e associados com poluição do ar, entre os quais destacam-se aqueles associados ao sistema antioxidante

enzimático, como a atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GST-Px), e não enzimático como α -tocoferol e glutathione reduzida (Delfino et al., 2009, 2010; Possamai et al., 2010; Wilhelm Filho et al., 2010). Entre os biomarcadores que refletem danos oxidativo em lipídios, proteínas e DNA, os mais estudados foram os isoprostanos, LDL oxidado, malondialdeído (MDA), proteína carbonilada, 8-hidroxideoxiguanosina (8-OHdG) e 8-oxo-2'-desoxiguanosina (8-oxodG) (Svecova et al., 2009; Allen et al., 2009; Kelishadi et al., 2009; Kim et al., 2009; Liu et al. 2009a; 2009b; Lee et al., 2010; Ren et al., 2010, 2011; Bae et al., 2010; Wilhelm Filho et al., 2010; Possamai et al., 2010; Bagryantseva et al., 2010; Raulf- Heimsoth et al., 2010; Al Zabadi et al., 2011; Rossner et al., 2011; Stockfelt et al., 2012; Huang et al., 2012a, 2012b; Patel et al., 2013)

Em crianças, a relação entre poluição atmosférica e biomarcadores de desbalanço redx foi demonstrada em diversos estudos (Liu et al., 2009a; Bae et al., 2010; Oluwole et al., 2013; Lin et al., 2015), corroborando nossos resultados que mostraram um aumento das concentrações séricas de MDA e da atividade enzimática da GST em crianças e adolescentes expostas aos grupos de maiores exposições ao PM_{2,5}.

Em um estudo de intervenção quase-experimental conduzido antes, durante e depois dos Jogos Olímpicos de Pequim (2008) com 36 escolares, as concentrações de MDA na urina foram associadas ao aumento de PM_{2,5} e *Black carbon* (Lin et al., 2015). Além disso, esse biomarcador foi identificado em amostras do ar exalado condensado e, posteriormente, sua relação com o PM foi evidenciada em crianças asmáticas (Romieu et al., 2008; Liu et al., 2009a). No entanto, o uso desse biomarcador para avaliar os efeitos da poluição atmosférica deve ser feito com cautela ajustando potenciais fatores confundidores, como a dieta e uso de medicação (Oliveira et al., 2014).

A associação entre poluição do ar e atividade das enzimas GST's em crianças foi, particularmente explorada na interação gene-ambiente por meio da presença de variantes

polimórficas nessas enzimas. A presença desses polimorfismos pode resultar em um estado deficiente de detoxificação e, conseqüentemente, aumentar o risco de efeitos adversos da poluição atmosférica (Piacentini et al., 2010; Sacks et al., 2011, Minelli et al., 2011). Os polimorfismos nos genes da classe Mu (glutathione S-transferase M1/GSTM1), theta (glutathione S-transferase T1/GSTT1) e pi (glutathione S-transferase P1/GSTP1) foram os mais estudados (Piacentini et al., 2010; Sacks et al., 2011, Minelli et al., 2011) e sua ocorrência foi relatada como fator de modificação para os efeitos da poluição em crianças asmáticas e com processos alérgicos (Gilliland et al., 2004).

As crianças e adolescentes portadoras da variante polimórfica GSTP1, genótipo Val/Val, apresentaram também maiores concentrações de tiol quando comparadas àquelas com genótipo Ile/Ile. Esses resultados são esperados, pois crianças com o genótipo Val/Val podem apresentar menor atividade da enzima GST e, conseqüentemente, uma redução no processo de detoxificação de xenobióticos e da conjugação da GSH – o tiol mais abundante no meio intracelular (Gilliland et al., 2004). Aliás, a atividade da GST mostrou-se dependente das concentrações de tiol, apoiando ainda mais os resultados encontrados.

Ainda sobre a poluição do ar, a poluição *indoor* – caracterizada nesse estudo como a presença de casas de farinha na residência e/ou uso de fogão a lenha – foi um fator importante para a redução das concentrações de tiol. A exposição à poluição *indoor* foi caracterizada, recentemente, como uma exposição crônica e contínua a elevadas concentrações de poluentes contribuindo para um estado recorrente de desbalanço redox e de inflamação aguda (Oliveira et al., 2014). Em um estudo realizado em crianças com idade média de 13 anos (SD \pm 3,2), residentes em comunidades rurais tradicionais da Nigéria, a concentração *indoor* de PM_{2,5} atingiu valores medianos de 1575 μm^3 com conseqüente redução das defesas antioxidantes e inflamatórias das vias aéreas e aumento das concentrações de MDA que alcançaram valores médios de 5,44 $\mu\text{mol/L}$ (SD \pm 1,88) no sangue (Oluwole et al., 2013).

O consumo de peixe foi outro fator relacionado aos biomarcadores de desbalanço redox, especificamente no aumento da atividade da GST e das concentrações de MDA. Apesar de se esperar uma relação negativa devido as propriedades antioxidantes do pescado, o consumo de peixe pode indicar uma exposição ambiental ao metilmercúrio (MeHg). O MeHg é a forma mais tóxica de Hg e, devido suas propriedades físicas e químicas, pode ser incorporado aos organismos aquáticos e, acumular-se naqueles situados no topo da cadeia trófica (Santos et al., 2003, Hintelmann, 2010). Assim, os efeitos do MeHg são motivo de preocupação em áreas onde a principal fonte de alimento é o peixe, como nas regiões ribeirinhas residentes ao longo do rio Madeira.

A neurotoxicidade atribuída à exposição por MeHg foi associada à alteração no estado redox de grupamento como tióis e selenóis promovendo uma depleção da GSH e de enzimas atuantes no sistema antioxidante, possibilitando, desse modo, a ação das ERO's (Farina et al., 2013). Na Amazônia Brasileira, em um estudo realizado em comunidades tradicionais, Grotto et al. (2010) encontraram uma relação inversamente proporcional entre a exposição ao Hg (dosado no cabelo e no sangue) e biomarcadores atuantes no sistema antioxidante, incluindo a GSH. No presente estudo, as concentrações de Hg no sangue foram testadas, mas os resultados mostraram colinearidade dessa variável com o consumo de peixe que apresentou melhor ajuste e contribuição para os modelos.

Em relação ao sistema de defesa antioxidante, a análise do grupamento tiol forneceu uma *proxy* das concentrações de GSH, considerada um biomarcador tradicional de atuação do sistema antioxidante e do desbalanço redox (Meister, Anderson, 1983; Ferreira, Matsubara, 1997; Ercal et al., 2001). Em média, a concentração sérica de tiol em crianças e adolescentes foi de 0,48 mmol/L (\pm 0,09) e esses resultados foram semelhantes àqueles encontrados em crianças e adolescentes saudáveis dos estudos desenvolvidos por Carratelli et al. (2001) e

Aycicek et al. (2006) que apresentaram, respectivamente, concentrações de tiol de 0,46 mmol/L ($\pm 0,054$) e 0,42 mmol/L ($\pm 0,03$).

Variáveis associadas à saúde das crianças e adolescentes apresentaram relação com as concentrações séricas de tiol que foram, em média, menores entre aquelas asmáticas e com proteína C reativa ≥ 6 mg/L. Normalmente, altos níveis de antioxidantes são encontrados no trato respiratório, mas em asmáticos essa condição pode apresentar-se alterada com depleção de fatores antioxidantes como a GSH (Andreadis et al., 2003, Fitzpatrick et al., 2009). Ademais, valores reduzidos de GSH podem aumentar a resposta inflamatória e, por conseguinte, elevar as concentrações de biomarcadores de inflamação como a proteína C reativa, conforme apresentado por Sauerwein et al., (1997) ao estudar crianças com desnutrição protéico-calórica *Kwashiokor*. Entre as variáveis socioambientais, além da exposição a poluição indoor, a renda familiar esteve relacionada negativamente com as concentrações de tiol. Isso se deve, possivelmente, pelo fato de 75% das crianças com proteína C reativa maior que 6 mg/L reportaram renda familiar maior que 1 salário mínimo.

Além do papel exercido no mecanismo fisiopatológico de diversas doenças, o desbalanço redox também foi relacionado com alterações metabólicas decorrentes de inúmeras exposições ambientais e ocupacionais. Por isso, os seus biomarcadores são considerados inespecíficos, dado que não indicam um efeito biológico resultante de uma particular exposição, mas refletem o efeito total e integrado de um conjunto delas (Stellman, 1998). Embora a exposição à poluição atmosférica e ao mercúrio tenham sido relacionadas com a atividade enzimática da GST e com as concentrações de MDA, o efeito sinérgico entre ambas exposições não foi explorado. De todo modo, o potencial uso de biomarcadores de desbalanço redox vem sendo explorado como biomarcadores de exposição. Obolenskaya et al. (2010) sugeriram que a determinação da atividade enzimática do 7-etoxicumarina O-desetilase (ECOD) na placenta de 143 gestantes poderia servir como um marcador biológico

de desbalanço redox em áreas com alta exposição radioativa e química – o que implica a função de um biomarcador de exposição. A relação linear sugerida nesse estudo entre os grupos de exposição ao $PM_{2,5}$ e a atividade enzimática da GST e as concentrações de MDA, apesar de indicar essa possibilidade, precisar ser necessariamente mais investigada em outros estudos.

Ainda sobre a exposição ao $PM_{2,5}$, a distância entre a estação de monitoramento e a área rural/ribeirinha e a imputação de 20% das medidas corresponde a uma limitação e fragilidade desse estudo. Contudo, outras variáveis como a queima de lixo e a poluição *indoor* contribuíram para caracterizar a exposição à poluição do ar nessa região. Além disso, as características meteorológicas como os sistemas convectivos rasos e não precipitantes, tipicamente encontrados sobre a bacia Amazônica, favorecem o transporte de gases e partículas em larga escala e para longas distâncias (Freitas et al., 2000, 2005; Andreae et al., 2001). Ao comparar a profundidade óptica dos aerossóis (AOD), uma variável *proxy* de exposição ao $PM_{2,5}$, no raio de 20 km da comunidade rural/ribeirinha e do local onde está implantada a estação de monitoramento, não foram observadas diferenças entre as localidades, o que minimiza as fragilidades e incertezas dessas medidas.

No geral, este estudo mostrou que o aumento da atividade da GST e das concentrações de MDA foram relacionadas, especialmente, com a exposição ao $PM_{2,5}$ e ao mercúrio, enquanto o grupamento tiol foi menor em crianças que apresentaram inflamação aguda e polimorfismo na GSTP1. Por fim, à medida que o papel do desbalanço redox e os potenciais fatores envolvidos em sua ocorrência tornarem-se mais claramente definidos, haverá também maior segurança na utilização de seus biomarcadores para prever efeitos ao organismo ou para indicar uma determinada exposição ambiental.

Referências bibliográficas

- Aikawa, E. et al. 2001. Reactive oxygen species in mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun.* 289: 901 – 907.
- Al Zabadi, H. et al. 2011. Integrated exposure assessment of sewage workers to genotoxicants: an urinary biomarker approach and oxidative stress evaluation. *Environ. Heal. a Glob. access Sci. source* 10: 23.
- Allen, J., Trenga, C. A., Peretz, A., Sullivan, J. H., Carlsten, C. C., Kaufman, J. D. 2009. Effect of diesel exhaust inhalation on antioxidant and oxidative stress responses in adults with metabolic syndrome. *Inhal Toxicol.* 21: 1061–7.
- Andreadis, A. A, Hazen, S. L., Comhair, S. A. A, Erzurum, S. C. 2003. Oxidative and nitrosative events in asthma. *Free Radic Biol Med* 35(3):213–225.
- Andreae, M. O.; Artaxo, P.; Fischer, H.; Freitas, S. R. 2001. Transport of biomass burning smoke to the upper troposphere by deep convection in the equatorial region. *Geophysical Research Letters.* 28(6):951-954.
- Aycicek, A., Iscan, A., Erel, O., Akcali, M., Selek, S. 2006. Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. *Pediatr Neurol.* 35(6):382-6.
- Ayres, J. G. et al. 2008. Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential--a workshop report and consensus statement. *Inhal Toxicol.* 20(1):75-99.
- Bae, S. et al. 2010. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. *Environ. Health Perspect.* 118: 579–83.
- Bagryantseva, Y. et al. 2010. Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms. *Toxicol Lett.* 199: 60–8.

- Barnham, K. J., Masters, C. L., Bush, A. I. 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov.* 3(3):205-14.
- Baynes, J. W. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 40(4):405-12.
- Birch-Machin, M. A., Russell, E. V., Latimer, J. A. 2013. Mitochondrial DNA damage as a biomarker for ultraviolet radiation exposure and oxidative stress. *Br J Dermatol.* 169 Suppl 2:9-14.
- Blau, S., Kohen, R., Bass, P., Rubinstein, A. 2000a. Relation between colonic inflammation severity and total low-molecular-weight antioxidant profile in experimental colitis. *Dig Dis Sci* 45: 1180 – 1187.
- Blau, S., Kohen, R., Bass, P., Rubinstein, A. 2000b. The effect of local attachment of cationized enzymes on experimental colitis in the rat. *Pharm Res.* 17: 1077 – 1084.
- Blau, S., Rubinstein, A., Bass, P., Singaram, C., Kohen, R. 1999. Differences in the reducing power along the rat GI tract: Lower antioxidant capacity of the colon. *Mol Cell Biochem.* 194: 185 – 191.
- Brown, N. S., Bicknell, R. 2001. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress: Its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 3: 323 – 327.
- Burim, R. V., Canalle, R., Martinelli, A. L., Takahashi, C. S. 2004. Polymorphisms in glutathione S-transferases GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and cytochromes P450 CYP2E1 and CYP1A1 and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics. *Mutagenesis.* 19(4):291-8.
- Cadenas, E., Davies, K. J. A. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 29(3-4):222-230.

- Cardozo, F. S., Pereira, G., Shimabukuro, Y. E., Moraes, E. C. 2014. Avaliação das áreas queimadas no Estado de Rondônia – Amazônia Brasileira. *Rev Bras Cart.* 66(3):705-716.
- Carratelli, M., Porcaro, L., Ruscica, M., Simone, E., Bertelli, A. A., Corsi, M. M. 2001. Reactive oxygen metabolites and prooxidant status in children with Down's syndrome. *Int J Clin Pharmacol Res.*
- Channon, K. M., Guzik, T. J. 2002. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol.* 53(4 Pt 1):515-24.
- Chen, H., Goldberg, M. S., Villeneuve, P. J. 2008. A systematic review of the relation between long-term exposure to ambient air pollution and chronic diseases. *Rev Environ Health.* 23(4):243-97.
- Chen, X., Guo, C., Kong, J. 2012. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res.* 15; 7(5): 376–385.
- Cruzat, V. F. et al. 2007. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte.* 13(5):336-342.
- Delfino, R. J. et al. 2009. Air pollution exposures and circulating biomarkers of effect in a susceptible population: clues to potential causal component mixtures and mechanisms. *Environ. Health Perspect.* 117: 1232–8.
- Delfino, R. J. et al. 2010. Association of biomarkers of systemic inflammation with organic components and source tracers in quasi-ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* 118: 756–62.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82: 47 – 95.

- Elangovan, V., Shohami, E., Gati, I., Kohen, R. 2000. Increased hepatic lipid soluble antioxidant capacity as compared to other organs of streptozotocin-induced diabetic rat: A cyclic voltammetry study. *Free Radic Res.* 32: 125 – 134.
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 82: 70-77.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N. 2001. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem.* 1(6):529-39.
- Erden-Inal, M., Sunal, E., Kanbak, G. 2002. Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem Funct.* 20(1):61-6.
- Evans, P., Halliwell, B. 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.* 85 (Suppl 2):S67-74.
- Farina, M., Avila, D. S., Rocha, J. B. T, Aschner, M. 2013. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. *Neurochem Int.* 62: 575-594.
- Fearon, I. M., Faux, S. P. 2009. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cadiol.* 47(3):372-81.
- Ferreira, A. L. A., Matsubara, L. S. 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Méd Bras.* 43 (1): 61-68.
- Finkel, T., Holbrook, N. J. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239 – 247.
- Fitzpatrick, A. M. et al. 2009. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *J Allergy Clin Immunol.* 123(1):146-152.
- Floyd, R. A. 1999. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc Soc Exp Biol Med.* 222: 236 – 245.

- Freitas, S. R. et al. 2005. Monitoring the transport of biomass burning emissions in South America. *Environmental Fluid Mechanics*. 5(1):135-167.
- Freitas, S. R., Silva Dias, M. A. F., Silva Dias, P. L. 2000. Modeling the convective transport of trace gases by deep and moist convection. *Hybrid Methods in Engineering*, 2 (3): 317-330.
- Gattas, G. J. et al. 2004. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res*. 37(4):451-8
- Gilliland, F. D., Gauderman, J., Vora, H., Rappaport, E., Dubeau, L. 2004. Effect of glutathione S-transferase M1 and P1 genotypes on xenobiotic enhancement of allergic responses: randomized, placebo-controlled crossover study. *Lancet*. 363:119-125.
- Gouveia, N. et al. 2006. Respiratory and cardiovascular hospitalizations associated with air pollution in the city of São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 22:2669-77.
- Grotto, D. et al. 2010. Mercury exposure and oxidative stress in communities of Brazilian Amazon. *Sci Total Environ*. 408: 806-811.
- Grow, A. J., Ischiropoulos, H. 2001. Nitric oxide chemistry and cellular signaling. *Journal Cell. Physiol*. 187: 277-282.
- Guild, L. S., Kauffman, J. B., Cohen, W. B., Hlavka, C. A., Ward, D. 2004. Modeling biomass burning emissions for Amazon forest and pastures in Rondônia, Brazil. *Ecol Appl*. 14:S232-S246.
- Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S., Siest, G. 2002. Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. *Clin Chim Acta*. 326: 131-142.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jacoby, W. B. 1974. Glutathione S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 249(22): 7130-7139.
- Hald, A., Lotharius J. 2005. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Exp Neurol*. 193(2):279-90.

- Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun.* 9: 1– 32.
- Halliwell, B. 1995. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol.* 49: 1341 – 1348.
- Halliwell, B. 1996. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.* 25(1):57-74.
- Halliwell, B. 2000. The antioxidant paradox. *Lancet* 355: 1179 – 1180.
- Harman, D. 1998. Free radical theory of ageing: applications. *Asia Pacific Heart Journal.* 7(3): 169-177.
- Hatagima, A., Klautau-Guimarães, M. N., Silva, F. P., Cabello, P. H. 2000. Glutathione S-transferase M1(GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genet Mol Biol.* 23:709-713.
- Hintelmann, H. 2010. Organomercurials: Their formation and pathways in the environment. *Met. Ions Life Sci.* 7: 365–401.
- Hu, M. L. 1994. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods in Enzymol.* 233: 380-385.
- Huang, H-B. et al. 2012a. Traffic-related air pollution and DNA damage: a longitudinal study in Taiwanese traffic conductors. *PLoS One* 7: e37412.
- Huang, W. et al. 2012b. Inflammatory and oxidative stress responses of healthy young adults to changes in air quality during the Beijing Olympics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186: 1150–9.
- Ignotti, E. et al. 2010a. Air pollution and hospital admissions for respiratory diseases in the subequatorial Amazon: a time series approach. *Cad. Saúde Pública.* 26(4):747-761.

- Ignotti, E., Valente, J. G., Longo, K. M., Freitas, S. R., Hacon, S., Artaxo, P. 2010b. Impact on human health of particulate matter emitted from burnings in the Brazilian Amazon region. *Rev Saúde Pública*. 44(1):121-30.
- Instituto Brasileiro Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Dados demográficos das cidades brasileiras. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/towindow.htm?1>
- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Centro de Previsão e Tempo e Estudos Climáticos[Acessado no dia 20 de maio de 2013]. Disponível em: <http://tempo.cptec.inpe.br/>
- Jacobson, L. S. et al. 2014. Acute effects of particulate matter and black carbon from seasonal fires on peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian Amazon. *Plos One* 14(8):e104177.
- Jacobson, L. S., Hacon, S., Castro, H. A., Ignotti, E., Artaxo, P., Ponce de Leon, A. C. 2012. Association between fine particulate matter and the peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian subequatorial Amazon: a panel study. *Environ Res*. 117:27-35.
- Kelishadi, R., Mirghaffari, N., Poursafa, P., Gidding, S. S. 2009. Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children. *Atherosclerosis* 203: 311–9.
- Kelly, F. 2003. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occup Environ Med*. 60(8): 612–616.
- Kim, K., Park, E-Y., Lee, K-H., Park, J-D., Kim, Y-D., Hong, Y-C. 2009. Differential oxidative stress response in young children and the elderly following exposure to PM(2.5). *Environ. Health Prev. Med*. 14: 60–6.
- Kirkham, P. A., Barnes, P. J. 2013. Oxidative stress in COPD. *Chest*. 144(1):266-73.

- Kohen, R., Fanberstein, D., Zelkowitz, A., Tirosh, O., Farfour, S. 1999. Noninvasive in vivo evaluation of skin antioxidant activity and oxidation status. *Methods Enzymol* 300: 428 – 437.
- Kohen, R., Gati, I. 2000. Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. *Toxicology* 148: 149 – 157
- Kohen, R., Nyska, A. 2002. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol Pathol.* 30 (6): 620-650.
- Kumagai, Y. et al. 1997. Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH-cytochrome P450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage. *Free Radical Biology and Medicine.* 22:479–487.
- Lee, M-W., Chen, M-L., Lung, S-C. C., Tsai, C-J., Yin, X-J., Mao, I-F. 2010. Exposure assessment of PM2.5 and urinary 8-OHdG for diesel exhaust emission inspector. *Sci. Total Environ.* 408: 505–10.
- Lee, R., Margaritis, M., Channon K. M., Antoniadis, C. 2012. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. *Curr Med Chem.* 19(16):2504-20.
- Li, N. et al. 2003. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect.* 111(4): 455–460.
- Lin, W. et al. 2015. Association between changes in exposure to air pollution and biomarkers of oxidative stress in children before and during the Beijing Olympics. *Am J Epidemiol.* 181(8):575-83.

- Liu, Y. J. et al. 2006. GSTP1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 15(4):659-66.
- Liu, L. et al. 2009a. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environ. Health Perspect.* 117: 668–74.
- Liu, L. et al. 2009b. Effects of indoor, outdoor, and personal exposure to particulate air pollution on cardiovascular physiology and systemic mediators in seniors. *J. Occup. Environ. Med.* 51: 1088–98.
- Meister, A., Anderson, M. E. 1983. Glutathione. *Annu Rev Biochem.* 52: 711-60.
- Mercuri F, Quagliario L, Ceriello A. 2000. Oxidative stress evaluation in diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2: 589 – 600.
- Minelli, C., Wei, I., Sagoo, G., Jarvis, D., Shaheen, S. Burney, P. 2011. Interactive effects of antioxidant genes and air pollution on respiratory function and airway disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 173(6):603-20.
- Nel, A. E., Diaz-Sanchez, D., Li, N. 2001. The role of particulate pollutants in pulmonary inflammation and asthma: evidence for the involvement of organic chemicals and oxidative stress. *Curr Opin Pulm Med.* 7(1):20–26.
- Nel, A. E., Diaz-Sanchez, D., Ng, D., Hiura, T., Saxon, A. 1998. Enhancement of allergic inflammation by the interaction between diesel exhaust particles and the immune system. *J Allergy Clin Immunol.* 102(4 Pt 1):539–554.
- Obolenskaya, M. Y. et al. 2010. Human placental glutathione S-transferase activity and polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts as biomarkers for environmental oxidative stress in placentas from pregnant women living in radioactivity- and chemically-polluted regions. *Toxicol. Lett.* 196: 80–6.

- Oliveira B. F., Ignotti, E., Artaxo, P., Saldiva, P. H., Junger, W. L., Hacon, S. 2012. Risk assessment of PM(2.5) to child residents in Brazilian Amazon region with biofuel production. *Environ Health*. 11:64.
- Oliveira, B. F. A., Chacra, A. P., Frauches, T. S., Valloci, A., Hacon. S. 2014. A curated review of recent literature of biomarkers used for assessing air pollution exposures and effects in humans. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 17(7-8):369-410.
- Oluwole, O. et al. 2013. Relationship between Household Air Pollution from Biomass Smoke Exposure, and Pulmonary Dysfunction, Oxidant-Antioxidant Imbalance and Systemic Inflammation in Rural Women and Children in Nigeria. *Glob J Health Sci*. 5(4):
- Ono, H., Sakamoto, A., Sakura, N. 2001. Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects. *Clin Chim Acta*. 312(1-2):227-9.
- Palmer, C. D., Lewis Jr., M. E.; Geraghty, C. M., Barbosa Jr, F., Parsons, P. J. 2006. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 61(8):980-990.
- Patel, M. M., Chillrud, S. N., Deepti, K. C., Ross, J. M., Kinney, P. L. 2013. Traffic-related air pollutants and exhaled markers of airway inflammation and oxidative stress in New York City adolescents. *Environ. Res*. 121: 71-8.
- Patki, G., Solanki, N., Atrooz, F., Allam, F., Salim, S. 2013. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. *Brain Res*. 1539: 73-86.
- Piacentini, S. et al. 2010. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and air pollution as interactive risk factors for asthma in a multicentre Italian field study: A preliminary study. *Ann Hum Biol*. 37(3):427-439.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 63(7):1035-42.

- Pope, C. A., Dockery, D.W. 2006. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J Air Waste Manag Assoc.* 56(6):709-42.
- Possamai, F. P. et al. 2010. Antioxidant intervention compensates oxidative stress in blood of subjects exposed to emissions from a coal electric-power plant in South Brazil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 30: 175–80.
- Raulf-Heimsoth, M., Hoffmeyer, F., van Thriel, C., Blaszkewicz, M., Bünger, J., Brüning, T. 2010. Assessment of low dose effects of acute sulphur dioxide exposure on the airways using non-invasive methods. *Arch. Toxicol.* 84: 121–7.
- Ren , C., Fang, S., Wright, R. O., Suh, H., Schwartz, J. 2011. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage induced by ambient pollution in the Normative Aging Study. *Occup. Environ. Med.* 68: 562–9.
- Ren, C., Vokonas, P. S., Suh, H., Fang, S., Christiani, D. C., Schwartzm J. 2010. Effect modification of air pollution on Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by genotypes: an application of the multiple testing procedure to identify significant SNP interactions. *Environ. Health* 9: 78.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., Aggarwal, B. B. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med.* 49(11):1603-16.
- Romieu, I., Castro-Giner, F., Kunzli, N., Sunyer, J. 2008. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *Eur Respir J.* 31(1):179-97.
- Rossner, P., Rossnerova, A., Sram, R. J. 2011. Oxidative stress and chromosomal aberrations in an environmentally exposed population. *Mutat. Res.* 707: 34–41.
- Sacks, J. D. et al. 2011. Particulate matter-induced health effects: Who is susceptible?. *Environ Health Perspec.* 119:446-454.

- Salzano, S. et al. 2014. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111(33):12157-62.
- Santos, E. C. O. et al. 2003. Avaliação dos níveis de exposição ao mercúrio entre índios Pakaanóva, Amazônia, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 19 (1):199-206.
- Sauerwein, R. W. et al. 1997. Inflammatory mediators in children with protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 65(5):1534-9.
- Schafer, F. Q., Buettner, G. R. 2001. Redox environments of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Rad Biol*. 30: 1191 – 1212.
- Sies, H. 1991. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med*. 91(3C):31S-38S.
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., LLeonart, M. E. 2013. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res Rev*. 12(1):376-90.
- Souza Jr., T. P, Oliveira, P. R., Pereira, B. 2005. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. *Rev Bras Med Esporte*. 11(1):91-96.
- Steering Committee (ISAAC). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet*. 351, 1225-32, 1998.
- Stellman, J. M. 1998. Encyclopaedia of Occupational Health and Safety, Fourth Edition (4 Volumes) Hardcover – November 1, 1998.
- Stockfelt, L. et al. 2012. Effects on airways of short-term exposure to two kinds of wood smoke in a chamber study of healthy humans. *Inhal. Toxicol*. 24: 47–59.

- Svecova, V., Rossner, P., Dostal, M., Topinka, J., Solansky, I., Sram, R. J. 2009. Urinary 8-oxodeoxyguanosine levels in children exposed to air pollutants. *Mutat. Res.* 662: 37–43.
- Valavanidis, A., Fiotakis, K., Vlachogianni, T. 2008. Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 26(4):339-62.
- Varela-Carver, A., Parker, H., Kleinert, C., Rimoldi, O. 2010. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des.* 16(23):2551-8.
- Vasconcelos, S. M. L., Goulart, M. O. F., Moura, J. B. F., Manfredini, V., Benfato, M. S., Kubota, L. T. 2007. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quím Nova.* 30(5):1323-1338.
- Visioli, F., Keaney, J. F., Halliwell, B. 2000. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? *Cardiovasc Res.* 18;47(3):409.
- Wilhelm, Filho D. et al. 2010. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in the blood of subjects exposed to occupational airborne contamination from coal mining extraction and incineration of hospital residues. *Ecotoxicology* 19: 1193–200.

Tabelas

Tabela 1. Descrição das concentrações séricas do grupamento tiol.

Variáveis		N	Mediana (Intervalo interquartil)	Média (Desvio padrão)	p-valor*
Tiol (mmol/L)		197	0,47 (0,43 – 0,51)	0,484 (± 0,109)	
Proximal					
Idade	5 – 11	104	0,46 (0,44 – 0,51)	0,47 (± 0,110)	0,089
	12 – 17	93	0,49 (0,44 – 0,50)	0,49 (± 0,109)	
Sexo	Masculino	80	0,46 (0,44 – 0,50)	0,48 (± 0,122)	0,302
	Feminino	117	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,100)	
GSTM1	Nulo	52	0,47 (0,42 – 0,50)	0,47 (± 0,129)	0,184
	Positivo	97	0,49 (0,44 – 0,52)	0,50 (± 0,118)	
GSTT1	Nulo	9	0,44 (0,44 – 0,51)	0,47 (± 0,072)	0,636
	Positivo	139	0,48 (0,44 – 0,51)	0,49 (± 0,125)	
GSTP1	AA	45	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,061)	0,073
	AG	92	0,48 (0,44 – 0,50)	0,49 (± 0,145)	
	GG	14	0,52 (0,48 – 0,54)	0,53 (± 0,122)	
Intermediário					
Anemia ferropriva	Sim	37	0,47 (0,44 – 0,50)	0,47 (± 0,059)	0,642
	Não	160	0,48 (0,44 – 0,51)	0,49 (± 0,118)	
IgE hx2	Reagente	119	0,47 (0,43 – 0,50)	0,48 (± 0,122)	0,263
	Não reagente	78	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,087)	
PCR	< 6 mg/L	188	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,095)	0,357
	≥ 6 mg/L	09	0,43 (0,35 – 0,49)	0,50 (± 0,289)	
Asma	Sim	36	0,45 (0,43 – 0,49)	0,45 (± 0,042)	0,029
	Não	152	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,114)	
Obst. Pulmonar	Sim	29	0,49 (0,44 – 0,53)	0,51 (± 0,148)	0,140
	Não	163	0,47 (0,44 – 0,51)	0,47 (± 0,095)	
Sint. Respiratórios	Sim	101	0,47 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,075)	0,688
	Não	93	0,48 (0,44 – 0,51)	0,49 (± 0,126)	
Consumo peixe	< 3x na semana	143	0,48 (0,44 – 0,51)	0,49 (± 0,122)	0,514
	≥ 3x na semana	51	0,46 (0,44 – 0,51)	0,47 (± 0,058)	
IMC	Eutrófico	161	0,47 (0,43 – 0,51)	0,48 (± 0,116)	0,595
	Sobrepeso	26	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,045)	
	Obesidade	08	0,48 (0,32 – 0,51)	0,42 (± 0,115)	
Distal					
Renda familiar	< 1 salário	43	0,49 (0,44 – 0,51)	0,54 (± 0,189)	0,047
	1 – 2 salários	68	0,46 (0,44 – 0,50)	0,46 (± 0,058)	
	≥ 2 salários	76	0,47 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,064)	
Escol. Pais	Até o primário	79	0,48 (0,44 – 0,51)	0,51 (± 0,153)	0,520
	Fundamental	64	0,47 (0,45 – 0,50)	0,47 (± 0,057)	
	Ensino médio	50	0,49 (0,46 – 0,53)	0,48 (± 0,059)	
Pessoas/cômodo	< 2 pessoas	157	0,47 (0,43 – 0,52)	0,49 (± 0,121)	0,795
	≥ 2 pessoas	39	0,48 (0,44 – 0,50)	0,48 (± 0,045)	
Local residência	Ribeirinha	52	0,46 (0,43 – 0,50)	0,46 (± 0,046)	0,073
	Periurbana/Urbana	145	0,48 (0,44 – 0,51)	0,49 (± 0,124)	
Fumante em casa	Sim	55	0,49 (0,44 – 0,52)	0,48 (± 0,094)	0,315
	Não	137	0,47 (0,44 – 0,50)	0,48 (± 0,117)	
Queima de lixo	Sim	124	0,47 (0,43 – 0,51)	0,48 (± 0,123)	0,167
	Não	70	0,49 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,082)	
Poluição indoor ^a	Sim	51	0,46 (0,43 – 0,50)	0,48 (± 0,128)	0,252
	Não	143	0,48 (0,44 – 0,51)	0,48 (± 0,104)	
	Grupo de referência	56	0,50 (0,49 – 0,52)	0,49 (± 0,047)	
PM _{2,5} ^b	Baixa exposição	60	0,49 (0,39 – 0,57)	0,50 (± 0,183)	0,053
	Moderada exposição	29	0,48 (0,42 – 0,51)	0,46 (± 0,053)	
	Alta exposição	52	0,46 (0,43 – 0,50)	0,48 (± 0,043)	

* Testes não paramétricos Mann-Whitney e Kruskal Wallis; a: sintomas respiratórios (sinais ou sintomas de inflamação das vias aéreas superiores e inferiores); b: poluição indoor definida como residências que possuem casa de farinha ou que usam fogão a lenha; c: Considerado a média móvel de 4 dias anterior a coleta de sangue. IgE hx2: imunoglobulina E (específica para poeira, fungos e ácaros); PCR: proteína C reativa; Obst. Pulmonar: Obstrução pulmonar; Sint. respiratórios: sintomas respiratórios; Escol. pais: escolaridade dos pais.

Tabela 2. Descrição da atividade enzimática da glutatona S-transferase.

Variáveis		N	Mediana (Intervalo interquartil)	Média (Desvio padrão)	p-valor*
GST (U/L)		194	19,3 (13,9 – 25,2)	19,8 (± 7,46)	
Proximal					
Idade	5 – 11	102	20,2 (14,6 – 26,0)	20,7 (± 7,75)	0,075
	12 – 17	92	17,2 (13,2 – 23,7)	18,8 (± 7,02)	
Sexo	Masculino	77	20,4 (14,6 – 26,5)	20,9 (± 7,94)	0,085
	Feminino	117	18,2 (12,9 – 24,1)	19,0 (± 7,16)	
GSTM1	Nulo	51	15,3 (15,3 – 28,0)	22,8 (± 7,64)	0,032
	Positivo	95	19,3 (13,1 – 26,0)	20,0 (± 7,65)	
GSTT1	Nulo	10	21,1 (11,5 – 23,8)	19,5 (± 8,29)	0,528
	Positivo	136	20,6 (14,2 – 27,3)	21,1 (± 7,72)	
GSTP1	Ile/Ile	45	19,8 (13,8 – 24,3)	19,8 (± 6,92)	0,300
	Ile/Val	91	20,5 (14,1 – 28,0)	21,4 (± 7,77)	
	Val/Val	13	22,9 (15,7 – 33,9)	23,6 (± 9,95)	
Intermediário					
Anemia ferropriva	Sim	36	21,3 (13,4 – 28,9)	22,0 (± 8,22)	0,053
	Não	158	18,6 (13,8 – 24,3)	19,3 (± 7,20)	
IgE hx2	Reagente	78	20,6 (14,2 – 25,8)	20,5 (± 7,96)	0,123
	Não reagente	116	18,1 (11,8 – 22,3)	18,8 (± 6,5)	
PCR	< 6 mg/L	185	18,8 (13,9 – 25,4)	19,8 (± 7,55)	0,905
	≥ 6 mg/L	9	21,3 (16,3 – 23,3)	19,5 (± 5,42)	
Asma	Sim	36	19,4 (13,9 – 25,5)	20,1 (± 7,10)	0,791
	Não	149	18,8 (13,9 – 25,0)	19,7 (± 7,59)	
Obst. pulmonar	Sim	30	20,3 (13,7 – 25,0)	19,7 (± 6,75)	0,904
	Não	160	19,2 (13,8 – 25,3)	19,9 (± 7,62)	
Sint. respiratórios	Sim	99	18,1 (13,0 – 24,3)	18,9 (± 7,27)	0,084
	Não	92	19,9 (14,6 – 25,5)	20,7 (± 7,60)	
Consumo peixe	< 3x na semana	142	16,7 (12,9 – 21,5)	17,8 (± 6,78)	<0,001
	≥ 3x na semana	52	25,5 (21,5 – 29,7)	25,4 (± 6,31)	
IMC	Eutrófico	156	20,0 (14,1 – 25,5)	20,3 (± 7,34)	0,111
	Sobrepeso	27	16,2 (13,0 – 25,5)	18,6 (± 8,15)	
	Obesidade	09	16,9 (9,34 – 21,1)	15,6 (± 5,72)	
Distal					
Renda familiar	< 1 salário	43	26,5 (22,4 – 30,0)	26,1 (± 6,10)	<0,001
	1 – 2 salários	66	18,1 (14,2 – 21,9)	18,6 (± 6,61)	
	≥ 2 salários	75	14,5 (12,1 – 21,3)	16,5 (± 6,50)	
Escol. pais	Até o primário	79	22,3 (16,7 – 26,7)	22,2 (± 7,47)	<0,001
	Fundamental	61	17,8 (13,6 – 23,5)	18,9 (± 7,38)	
	Ensino médio	50	16,0 (12,4 – 20,5)	17,2 (± 6,64)	
Pessoas/cômodo	< 2 pessoas	154	19,0 (13,9 – 25,0)	19,6 (± 7,42)	0,434
	≥ 2 pessoas	39	20,4 (14,2 – 26,5)	20,7 (± 7,64)	
Local residência	Ribeirinha	52	26,8 (24,1 – 30,0)	27,3 (± 4,90)	<0,001
	Periurbana/Urbana	142	16,3 (12,8 – 25,2)	17,1 (± 6,30)	
Fumante em casa	Sim	52	18,2 (13,7 – 22,7)	19,2 (± 7,07)	0,432
	Não	137	19,3 (13,9 – 25,5)	20,1 (± 7,68)	
Queima de lixo	Sim	123	21,3 (15,0 – 27,5)	21,5 (± 7,84)	<0,001
	Não	68	15,7 (12,9 – 21,0)	16,9 (± 5,71)	
Poluição indoor ^a	Sim	51	25,5 (20,4 – 30,0)	25,1 (± 6,99)	<0,001
	Não	140	17,2 (12,9 – 22,3)	18,0 (± 6,72)	
PM _{2,5} ^b	Grupo de referência	72	14,5 (12,1 – 18,0)	14,8 (± 4,52)	<0,001
	Baixa exposição	31	16,3 (12,4 – 20,2)	15,9 (± 4,03)	
	Moderada exposição	57	24,4 (19,9 – 29,9)	24,3 (± 7,23)	
	Alta exposição	32	26,0 (24,1 – 30,0)	27,0 (± 5,39)	

* Testes T e anova (paramétricos); a: sintomas respiratórios (sinais ou sintomas de inflamação das vias aéreas superiores e inferiores); b: poluição indoor definida como residências que possuem casa de farinha ou que usam fogão a lenha; c: Considerado a média móvel de 5 dias anterior a coleta de sangue. IgE hx2: imunoglobulina E (específica para poeira, fungos e ácaros; PCR: proteína C reativa; Obst. Pulmonar: Obstrução pulmonar; Sint. respiratórios: sintomas respiratórios; Escol. pais: escolaridade dos pais.

Tabela 3. Descrição das concentrações séricas de malondialdeído.

Variáveis		N	Mediana (Intervalo interquartil)	Média (Desvio padrão)	p-valor*
MDA (µmol/L)		197	1,39 (1,19 – 1,68)	1,45 (± 0,329)	
Proximal					
Idade	5 – 11	104	1,49 (1,20 – 1,75)	1,50 (± 0,350)	0,019
	12 – 17	93	1,35 (1,17 – 1,59)	1,39 (± 0,300)	
Sexo	Masculino	79	1,43 (1,19 – 1,69)	1,45 (± 0,340)	0,908
	Feminino	119	1,39 (1,20 – 1,69)	1,44 (± 0,320)	
GSTM1	Nulo	51	1,40 (1,57 – 1,72)	1,45 (± 0,320)	0,773
	Positivo	97	1,39 (1,19 – 1,65)	1,43 (± 0,327)	
GSTT1	Nulo	10	1,45 (1,12 – 1,80)	1,45 (± 0,395)	0,930
	Positivo	138	1,39 (1,19 – 1,66)	1,44 (± 0,320)	
GSTP1	Ile/Ile	45	1,59 (1,21 – 1,60)	1,41 (± 0,264)	0,495
	Ile/Val	93	1,39 (1,16 – 1,72)	1,44 (± 0,339)	
	Val/Val	13	1,37 (1,29 – 1,77)	1,53 (± 0,373)	
Intermediário					
Anemia ferropriva	Sim	36	1,48 (1,25 – 1,75)	1,49 (± 0,344)	0,401
	Não	161	1,39 (1,19 – 1,66)	1,44 (± 0,336)	
IgE hx2	Reagente	117	1,49 (1,24 – 1,71)	1,49 (± 0,315)	0,017
	Não reagente	80	1,31 (1,13 – 1,64)	1,38 (± 0,338)	
PCR	< 6 mg/L	188	1,40 (1,20 – 1,69)	1,45 (± 0,331)	0,270
	≥ 6 mg/L	09	1,21 (1,40 – 1,51)	1,33 (± 0,256)	
Asma	Sim	37	1,39 (1,06 – 1,70)	1,40 (± 0,344)	0,370
	Não	151	1,40 (1,20 – 1,69)	1,46 (± 0,327)	
Obst. pulmonar	Sim	29	1,40 (1,31 – 1,83)	1,53 (± 0,336)	0,136
	Não	163	1,39 (1,18 – 1,69)	1,43 (± 0,330)	
Sint. respiratórios	Sim	102	1,42 (1,20 – 1,66)	1,44 (± 0,296)	0,666
	Não	92	1,39 (1,17 – 1,71)	1,46 (± 0,360)	
Consumo peixe	< 3x na semana	146	1,34 (1,16 – 1,60)	1,38 (± 0,313)	<0,001
	≥ 3x na semana	51	1,67 (1,40 – 1,82)	1,63 (± 0,309)	
IMC	Eutrófico	159	1,40 (1,19 – 1,69)	1,45 (± 0,334)	0,844
	Sobrepeso	27	1,35 (1,19 – 1,77)	1,42 (± 0,338)	
	Obesidade	09	1,44 (1,17 – 1,65)	1,43 (± 0,239)	
Distal					
Renda familiar	< 1 salário	43	1,50 (1,32 – 1,71)	1,53 (± 0,325)	0,071
	1 – 2 salários	68	1,37 (1,24 – 1,74)	1,46 (± 0,327)	
	≥ 2 salários	76	1,38 (1,11 – 1,62)	1,40 (± 0,323)	
Escol. pais	Até o primário	78	1,45 (1,25 – 1,69)	1,46 (± 0,288)	0,040
	Fundamental	64	1,47 (1,21 – 1,74)	1,51 (± 0,375)	
	Ensino médio	76	1,34 (1,13 – 1,58)	1,35 (± 0,314)	
Pessoas/cômodo	< 2 pessoas	156	1,39 (1,18 – 1,67)	1,44 (± 0,323)	0,382
	≥ 2 pessoas	40	1,39 (1,27 – 1,74)	1,49 (± 0,343)	
Local residência	Ribeirinha	52	1,68 (1,53 – 1,84)	1,69 (± 0,271)	<0,001
	Periurbana/Urbana	145	1,31 (1,13 – 1,54)	1,36 (± 0,304)	
Fumante em casa	Sim	53	1,35 (1,09 – 1,63)	1,41 (± 0,359)	0,299
	Não	139	1,44 (1,21 – 1,70)	1,46 (± 0,314)	
Queima de lixo	Sim	125	1,40 (1,19 – 1,67)	1,45 (± 0,327)	0,826
	Não	69	1,39 (1,21 – 1,70)	1,46 (± 0,331)	
Poluição indoor ^a	Sim	51	1,56 (1,34 – 1,77)	1,57 (± 0,304)	0,003
	Não	143	1,35 (1,14 – 1,66)	1,41 (± 0,328)	
PM _{2,5} ^b	Grupo de referência	73	1,34 (1,12 – 1,53)	1,36 (± 0,308)	<0,001
	Baixa exposição	33	1,23 (1,11 – 1,63)	1,36 (± 0,337)	
	Moderada exposição	59	1,47 (1,20 – 1,75)	1,48 (± 0,329)	
	Alta exposição	32	1,66 (1,51 – 1,80)	1,66 (± 0,266)	

* Teste T e anova (paramétrico). a: sintomas respiratórios (sinais ou sintomas de inflamação das vias aéreas superiores e inferiores); b: poluição indoor definida como residências que possuem casa de farinha ou que usam fogão a lenha; c: Considerado a média móvel de 5 dias anterior a coleta de sangue. IgE hx2: imunoglobulina E (específica para poeira, fungos e ácaros; PCR: proteína C reativa; Obst. Pulmonar: Obstrução pulmonar; Sint. respiratórios: sintomas respiratórios; Escol. pais: escolaridade dos pais.

Tabela 4. Correlação de Pearson das concentrações séricas de tiol, atividade da GST e malondialdeído com as variáveis contínuas.

	Tiol*	GST	MDA	Idade*	IMC*	Eosinófilos*	IgE – hx2	Hemoglobina	Ferro	Ferritina*	Glicose	Hg – sangue*
Tiol*	1,000	0,124	-0,040	0,080	-0,057	-0,028	-0,069	0,172	0,206	-0,025	0,076	0,108
GST		1,000	0,312	-0,108	-0,162	0,131	0,103	-0,047	0,300	0,004	-0,277	0,398
MDA			1,000	-0,143	-0,056	0,178	0,104	0,072	0,116	0,047	-0,022	0,228
Idade*				1,000	0,504	-0,188	0,010	0,384	0,078	0,017	0,164	-0,069
IMC*					1,000	-0,155	0,035	0,232	-0,003	0,063	0,123	-0,032
Eosinófilos*						1,000	0,205	-0,016	0,041	0,145	-0,043	0,205
IgE – hx2*							1,000	0,205	0,082	0,143	-0,050	0,110
Hemoglobina								1,000	0,162	0,187	0,226	0,031
Ferro									1,000	0,197	-0,070	0,137
Ferritina*										1,000	0,069	-0,131
Glicose											1,000	-0,147
Hg-sangue*												1,000

*Ln-transformado; valores destacados em negrito: p-valor < 0,05; MDA: malondialdeído; IMC: índice de massa corporal; IgE – hx2: imunoglobulina E (específica para poeira, fungos e ácaros); Hg: níveis de mercúrio no sangue.

Tabela 5. Modelo de regressão linear múltipla. Porto Velho, Rondônia (2012).

Modelos	Coefficiente	Intervalo de confiança (95%)	p-valor	
Tiol*	Intercepto	-1,233	-1,659 a -0,907	<0,001
	PCR (> 6 mg/L)	-0,252	-0,440 a -0,064	0,009
	GSTP1(Ile/Val)	-0,037	-0,088 a 0,013	0,156
	GSTP1(Val/Val)	0,112	0,022 a 0,202	0,015
	Hemoglobina	0,046	0,016 a 0,076	0,003
	Ferro sérico	0,002	0,0001 a 0,004	0,058
	Renda (1 – 2 salários)	-0,114	-0,178 a -0,049	<0,001
	Renda (≥ 2 salários)	-0,114	-0,179 a -0,044	<0,001
	PM _{2,5} (2º quartil)	-0,127	-0,206 a -0,048	0,002
	PM _{2,5} (3º quartil)	-0,064	-0,137 a -0,007	0,083
	PM _{2,5} (4º quartil)	-0,080	-0,169 a -0,008	0,080
	Poluição indoor	-0,086	-0,148 a -0,025	0,006
	R² ajustado			24%
	Estatística F			<0,001
GST **	Intercepto	19,25	9,31 a 29,2	<0,001
	Idade (adolescente)	-1,637	-3,29 a 0,016	0,054
	Sexo (feminino)	-1,241	-2,83 a 0,35	0,129
	Tiol	10,76	3,88 a 17,6	0,002
	Glicose sérica	-0,109	-0,22 a -0,001	0,050
	Cons. peixe (> 3x semana)	2,549	0,42 a 4,67	0,020
	PM _{2,5} (2º quartil)	3,127	0,78 a 5,47	0,009
	PM _{2,5} (3º quartil)	8,637	6,49 a 10,8	<0,001
	PM _{2,5} (4º quartil)	11,0	8,31 a 13,7	<0,001
	R² ajustado			55%
	Estatística F			<0,001
MDA**	Intercepto	1,211	1,104 a 1,317	<0,000
	Idade (adolescente)	-0,084	-0,177 a 0,008	0,075
	IgE (atópico - reagente)	0,149	0,059 a 0,240	0,001
	Obstrução pulmonar (sim)	0,134	0,014 a 0,254	0,030
	Cons. peixe (> 3x semana)	0,172	0,056 a 0,287	0,004
	PM _{2,5} (2º quartil)	0,100	-0,028 a 0,229	0,128
	PM _{2,5} (3º quartil)	0,126	0,013 a 0,242	0,034
	PM _{2,5} (4º quartil)	0,244	0,093 a 0,997	0,002
	R² ajustado			27%
Estatística F			<0,001	

* Resultados sem os outliers (tiol > 1,0 mmol/L). ** Resultados semelhante ao excluir os outliers.

Figuras

Figura 1. Representação gráfica do modelo teórico-explicativo.

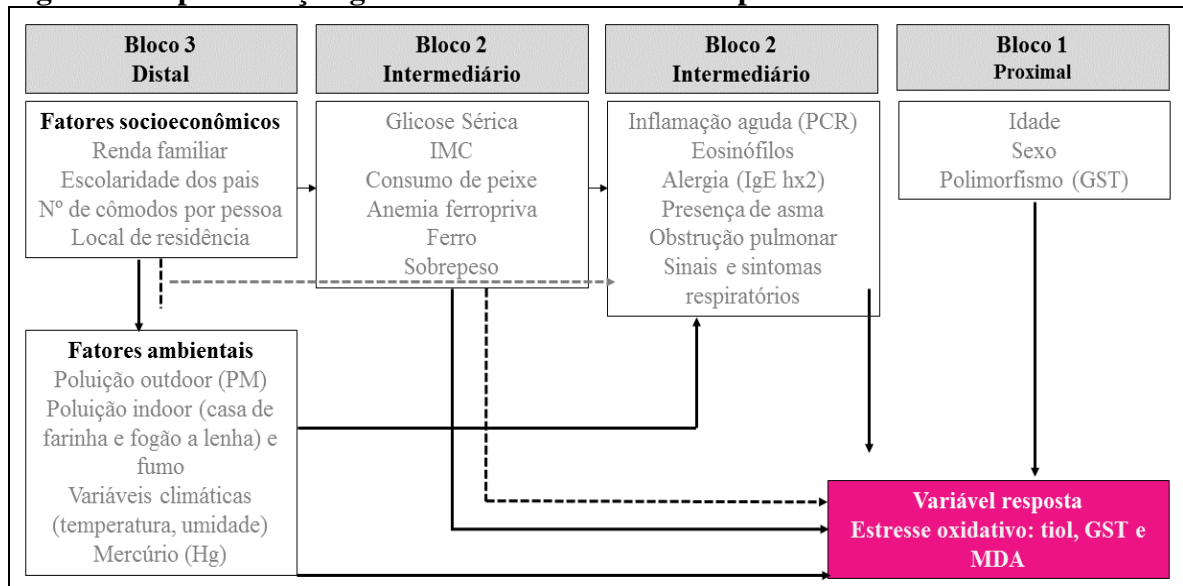
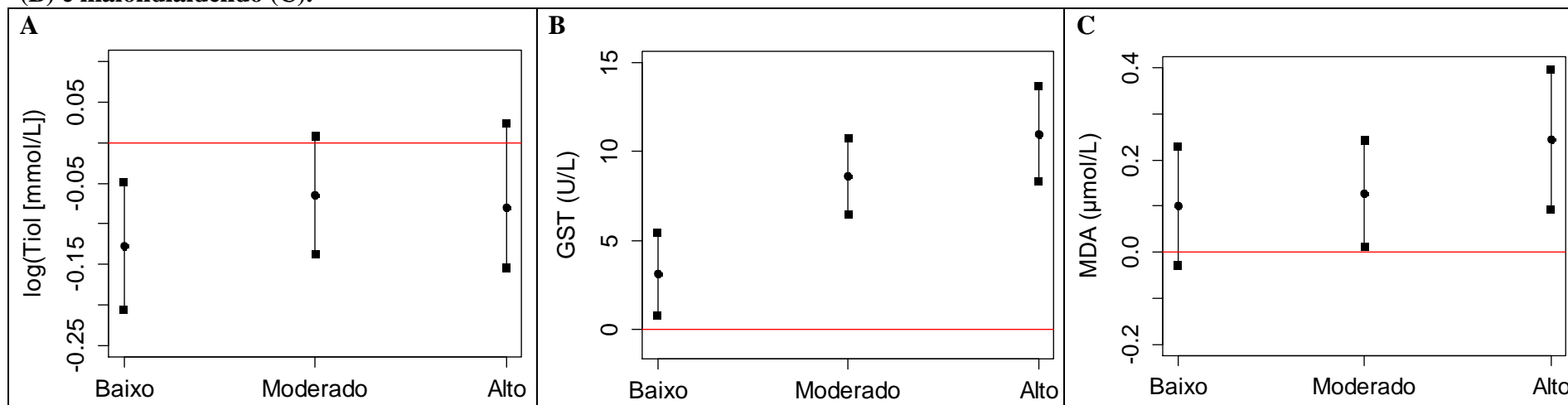


Figura 2. Coeficiente de regressão linear múltipla dos grupos de exposição ao PM_{2,5}, segundo o grupamento tiol (A), atividade da GST (B) e malondialdeído (C).



**5.3. ARTIGO III – ASSOCIAÇÃO DO MATERIAL PARTICULADO FINO (PM_{2,5})
E SEUS ELEMENTOS QUÍMICOS SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM UMA POPULAÇÃO INFANTO-JUVENIL DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL BRASILEIRA.**

Beatriz Fátima Alves de Oliveira¹, Leandro Vargas Barreto de Carvalho¹, Dennys de Souza Mourão¹, Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos², Hermano Albuquerque de Castro², Paulo Artaxo³, Washington Leite Junger⁴, Sandra Hacon¹

¹Pós-graduação de Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) / Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; ²Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) / Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; ³Instituto de Física, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil; ⁴Departamento de Epidemiologia, Instituto de Medicina Social (IMS) / Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil

Resumo: A exposição ao PM_{2,5} pode induzir a produção de espécies reativas no ambiente celular, sobretudo pela presença de compostos orgânicos e metais em sua composição química. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da exposição ao PM_{2,5} e de seus constituintes químicos nos biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo transversal, observacional e de caráter descritivo sobre a relação entre a exposição ao PM_{2,5} e seus componentes químicos e biomarcadores de desbalanço redox (grupamento tiol, malondialdeído, atividade enzimática da GST). Os Modelos Lineares Generalizados foram usados e a relação entre a poluição e os biomarcadores foi estimada pelos métodos *Single Lag* e Modelo Polinomial de Defasagem Distribuída (PDLM). **Resultados:** O aumento de 10 µg/m³ nas concentrações de PM_{2,5} foi associado com redução do grupamento tiol (2%; IC95%: 0,2% – 4,4%) depois de 5 dias de exposição (lag 5). O aumento da atividade da GST e MDA foram 19,1 U/L (IC95%: 17,2 – 21,07) e 0,307 µmol/L (IC95%: 0,02 – 0,416) a cada incremento de 10 µg/m³ nas concentrações de PM_{2,5}, considerando o efeito acumulado de 5 dias de exposição anteriores à coleta de sangue. Entre os componentes químicos do PM_{2,5}, os metais foram aqueles que apresentaram maiores associações com os biomarcadores de desbalanço redox. **Conclusão:** Os efeitos da exposição ao PM_{2,5} foram observados a partir do 4º dia após a coleta de sangue (lag 4). Entre os componentes químicos do PM_{2,5}, os metais apresentaram as maiores associações com os biomarcadores de desbalanço redox.

Palavras-chave: Desbalanço redox, glutatona S-transferase, grupamento tiol, malondialdeído, Amazônia Brasileira, PM_{2,5}, componentes químicos.

Introdução

A poluição do ar é a emissão de partículas, gases, moléculas biológicas ou outros materiais nocivos na atmosfera e constitui-se em um dos fatores ambientais com maior impacto sobre a saúde e a qualidade de vida humana (WHO, 2014). Ao longo dos últimos 20 anos, os estudos epidemiológicos descritivos e analíticos mostraram a relação entre a exposição a poluição do ar e diversos desfechos na saúde humana (Pope et al., 2006; Brook et al., 2010). Diversos artigos foram publicados mostrando os efeitos da exposição a poluição atmosférica durante a gestação (Gouveia et al., 2004; Pedersen et al., 2013; Fleischer et al., 2014), na saúde infantil e dos idosos (Gouveia et al., 2006; Ignotti et al., 2010a; Jacobson et al., 2012, 2014), em asmáticos (Liu et al., 2009), doenças cardiovasculares (Brook et al., 2010) e como fator contribuinte para mortes prematuras (Héroux et al., 2015; Burnett et al., 2014).

Os avanços na biologia celular e molecular proporcionaram uma melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos do organismo humano e do sistema imunológico e na área de poluição atmosférica, os biomarcadores emergiram como um instrumento biológico de medição para decifrar as complexidades e os mecanismos de atuação dos poluentes. Oliveira et al., (2014) mostraram recentemente, em uma revisão, que a poluição do ar está associada com diversos biomarcadores de efeito envolvidos em no processo de inflamação (vias aéreas, sistêmica e neurológica), disfunção endotelial, pró-coagulantes, aterosclerose, alterações do sistema nervoso autônomo, danos de DNA e desbalanço redox. Evidências sugerem que os poluentes atmosféricos podem estar envolvidos em mecanismos fisiopatológicos de diferentes doenças como diabetes (Hong et al., 2009), Alzheimer e Parkinson's (Calderón-Guarcideñas et al., 2004; 2013), doenças respiratórias (Sava, Carltén, 2012) e cardiovasculares, aterosclerose e trombose (Brook et al., 2010).

Em um consenso geral, os mecanismos pelos quais os poluentes induzem efeitos na saúde envolvem o desencadeamento de uma cascata de eventos inflamatórios e de desbalanço redox nos pulmões, no sistema vascular e cardíaco (Miller et al., 2012; Saravia et al., 2013). Entre esses mecanismos, o desbalanço redox – uma condição biológica definida como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e o sistema de defesa antioxidante – tem sido amplamente estudado para explicar a os efeitos da poluição do ar no organismo humano (Valavanidis et al., 2008). Esse processo biológico foi descrito em mecanismos fisiopatológicos (Kohen, Nyska, 2002), inclusive naquelas relacionadas a exposição a poluição do ar como as doenças cardiovasculares (Brook et al., 2010; Miller et al., 2012); pulmonares (Liu et al. 2009), neoplasias (Valavanidis et al., 2013) e doenças neurodegenerativas (Moulton, Yang, 2012).

Os resultados de diversos estudos mostraram que o material particulado (PM) – uma complexa mistura de partículas sólidas e líquidas suspensas no ar – pode induzir a produção de espécies reativas no ambiente celular devido à sua composição química. Em sua composição, a presença de componentes como quinonas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e os metais de transição podem promover a formação de espécies reativas, especialmente as espécies reativas a oxigênio (ERO's) (Ghio et al., 2012).

Os íons de metais de transição (adsorvidos em altas concentrações nas partículas de MP) possuem potencial redox, contribuindo para a produção excessiva de ERO's e, posteriormente, desempenhando um importante papel nos danos oxidativos a macromoléculas biológicas. Os estudos apontam a associação dos íons de metais com o aumento da produção ERO, com consequente dano oxidativo às células epiteliais das vias respiratórias (Ghio et al., 1999; Knaapen et al., 2002; Schaumann et al., 2004) e outros desfechos clínicos em grupos como crianças e adolescentes (Liu et al., 2009; Bae et al., 2010).

As crianças e adolescentes são mais vulneráveis que os adultos ao desbalanço redox (Erden-Inal et al., 2002; Ono et al., 2001) e também aos efeitos deletérios da exposição à poluição atmosférica (Oliveira et al., 2011). Crianças apresentam naturalmente baixas concentrações de glutathiona – um potente antioxidante não-enzimático – o que aumenta ainda mais o risco de danos permanentes e irreversíveis associado as exposições ambientais como a poluição do ar. Em razão disso, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao PM_{2,5} e de alguns de seus constituintes químicos (enxofre [S], alumínio [Al], ferro [Fe], zinco [Zn], titânio [Ti] e chumbo [Pb]) nos biomarcadores de desbalanço redox em um grupo de crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira.

Materiais e métodos

Local de estudo

O estudo foi realizado no município de Porto Velho (lat: 8°45'00" S; long: 63°58'00" O), capital do Estado de Rondônia. Este município está localizado na parte Ocidental da Amazônia Brasileira, na região denominada “Arco do desmatamento”. Região marcada por elevados índices de desmatamento devido ao avanço da fronteira agrícola em direção à floresta amazônica (INPE, 2014). Além da agricultura, nos últimos anos, essa região destacou-se no cenário nacional devido aos investimentos do governo federal em infraestrutura e geração de energia com a construção das Hidrelétricas Santo Antônio de Energia e Jirau.

Porto Velho concentra aproximadamente 30% da população do Estado, com 428.527 habitantes (23% na faixa etária de 5 a 17 anos) residentes em sua maioria na área urbana (90%) (IBGE, 2010). Além da população urbana, o município é formado por uma população rural/ribeirinha que vive às margens do rio Madeira – um dos mais importantes afluentes do rio Amazonas. Essa população reside em núcleos comunitários constituídos, em média, de

vinte a trinta domicílios dispersos às margens dos rios e igarapés da região, sem endereço e sua fonte de renda provem prioritariamente da pesca.

O clima da região é tropical, com temperatura média de 26 °C e umidade relativa do ar média de 80% (INPE, 2013). Durante o período de seca e do estudo, as temperaturas máximas chegaram a atingir valores próximos a 40°C e umidade relativa do ar média variando entre 52% a 75% (INPE, 2013). Essa relação entre temperatura e umidade do ar elevadas condicionam um desconforto térmico para a população e, conseqüentemente, piora do bem-estar. Ainda, essa região situa-se no trajeto de dispersão da pluma de poluentes gerada pela fumaça de países vizinhos como Bolívia. A área de estudo pode ser observada na Figura 1.

Desenho e população de estudo

Trata-se de um estudo transversal, observacional e de caráter descritivo da associação entre poluição atmosférica e biomarcadores de desbalanço redox em 200 crianças e adolescentes residentes em áreas ribeirinhas, periurbana e urbana do município de Porto Velho. O estudo foi realizado durante o período de estiagem, entre os meses de julho e agosto de 2012, estação do ano com maior ocorrência de queima de biomassa. Foram incluídas todas as crianças e adolescentes residentes de três áreas distintas de Porto Velho (Resex Lago do Cuniã [rural/ribeirinha], Belmont [periurbana] e, Nacional [urbana]), idade entre 5 a 17 anos; adolescentes não fumantes e; tempo de moradia no endereço atual de pelo menos 1 ano.

Todos os responsáveis das crianças e adolescentes assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCE), consentindo a participação destas no estudo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública com parecer favorável nº 936.350/CEP/ENSP/2014

Coleta de sangue

As coletas de sangue foram realizadas pelo laboratório do Hospital 9 de Julho – CEACLIN, localizado no município de Porto Velho em Rondônia. Todas as amostras foram coletadas em jejum de, no mínimo 8 horas, com seringa de 10 ml com agulha 25x7 BD® descartáveis, e transferidas para os respectivos tubos de coleta (vacutainer) com EDTA para coleta de sangue total e sem anticoagulante com gel separador para demais ensaios imunológicos. Todas as amostras foram distribuídas em microtubos do tipo *ependorf* e armazenada a -80°C. Em seguida, essas amostras foram transportadas em isopores com gelo seco para o Laboratório de Toxicologia do CESTEJ (ENSP/FIOCRUZ) no Rio de Janeiro, onde foram mantidas em ultrafreezer a -80° até o momento da análise dos biomarcadores de desbalanço redox.

Biomarcadores de desbalanço redox

O desbalanço redox foi analisado em alíquotas de soro por meio dos seguintes biomarcadores: atividade enzimática da glutathione S transferase (GST – atividade enzimática de detoxicação dos poluentes), grupamento tiol (componente não enzimático do sistema antioxidante) e malondialdeído (MDA – produto da peroxidação de lipídios).

A atividade enzimática GST foi medida pelo método de Habig et al. (1974), adaptado por Habdous et al. (2002). Para sua mensuração foi usado um meio reacional de 2700 µL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol/L e pH= 6,5 + 100 µL de CDNB 30 mM e 100 µL de GSH 30 mM. A reação é disparada com a adição de 100 µL da amostra de soro e a formação do produto é monitorada por 5 minutos, sendo o resultado expresso em U/L.

O grupamento tiol foi medido pelos métodos descritos originalmente por Ellman (1959) e modificados por Hu (1994). Uma alíquota de soro (25 µl) foi misturada com 1 mL de tampão de Tris-EDTA (0,25 mmol/L de base Tris, 20 mmol/L de EDTA, pH 8,2) e lido em

absorvância de 412nm. Em seguida, uma alíquota de 25L de solução de estoque de DTNB (10 mmol/L em metanol absoluto) foi adicionado à solução e lida novamente após 15 minutos à temperatura ambiente. Os valores foram dados em mmol/L.

O MDA foi medido usando o TBARS ASSY KIT da marca Cayman Chemical e lido a uma absorvância de 512 nm, sendo os valores dados em $\mu\text{mol/L}$.

Todas as análises foram realizadas usando a espectrofotometria no UV-Vis como técnica instrumental (equipamentos Jasco V-530 [Kyoto, Japão] e Shimadzu UV-1601 [Kyoto, Japão]).

Exposição ambiental a poluição do ar

As concentrações de $\text{PM}_{2,5}$ foram medidas em uma estação de monitoramento da qualidade do ar implantada pelo Instituto de Física da Universidade de São Paulo (USP) no parque natural de Porto Velho, situado a 15 km do centro da cidade. Neste estudo, foram usados os dados coletados por filtros de fibra de quartzo usando o amostrador de grande volume Hivol HVS 3000 e por filtros de teflon utilizando o amostrador fino e grosso (AFG) que separa as partículas de fração grossa (entre 10 e 2,5 μm de diâmetro) e fina (menor que 2,5 μm de diâmetro). As frações finas foram obtidas por meio de filtros de policarbonato com 47 mm de diâmetro e poros de 8 μm e 4 μm . As concentrações de *Black Carbon* foram obtidas pela análise de refletância por meio do refletômetro *Smoke Stain Refletometer Diffusion System, modelo M43D*, do Laboratório de Física Atmosférica da USP. A caracterização elementar do $\text{PM}_{2,5}$ foi analisada pela técnica PIXE que detectou presença de diversos elementos químicos de fontes naturais e antropogênicas. Além do *Black Carbon*, os seguintes elementos foram estudados: enxofre (S), alumínio (Al), ferro (Fe), zinco (Zn), titânio (Ti) e chumbo (Pb). Para os dias que não tiveram medidas, as concentrações de $\text{PM}_{2,5}$ e seus respectivos elementos químicos foram estimados por método de imputação simples

considerando o número de focos de calor, profundidade óptica dos aerossóis (Aerosol Optical Depth – AOD) e temperatura máxima. O número de focos de calor e as variáveis climáticas foram obtidos pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e pelo Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC), respectivamente. Os dados de AOD foram extraídos *online* através dos satélites Terra e Aqua a bordo do MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*) da NASA.

Exposição ambiental ao mercúrio

Considerando a importância da exposição ambiental nessa região e também por estar associado ao desbalanço redox em sistemas biológicos que levam a processos patológicos, o mercúrio (Hg-S) foi mensurado no sangue de crianças e adolescentes pelo Laboratório de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) por meio do método ICP-MS (PALMER et al., 2006). Além da dose interna de Hg-S, avaliou-se ainda o consumo de peixe (consumo menor ou maior que 3 vezes na semana) como variável *proxy* da exposição ao mercúrio.

Outras variáveis

A associação entre as concentrações de PM_{2,5}, sua composição elementar e os de biomarcadores de desbalanço redox foram ajustadas considerando fatores biológicos não modificáveis (idade, sexo e polimorfismo para GST), variáveis de saúde (glicose sérica, inflamação aguda, asma, sinais e sintomas respiratórios, contagem de eosinófilos e Imunoglobulina E específica para inalantes [IgE hx2]), nutricionais (ferro sérico, anemia, índice de massa corporal [IMC] e consumo de peixe), socioeconômicas (renda, escolaridade e local de residência) e ambientais (poluição *indoor*, fumo, temperatura, umidade e mercúrio no sangue).

Os fatores socioeconômicos, demográficos, hábitos alimentares e ambientais foram obtidos por meio de questionário semiestruturado aplicado aos pais ou responsáveis pela criança ou adolescente. O método colorimétrico enzimático foi usado para determinação das concentrações plasmáticas de glicose (equipamento Roche Hitachi 911, Chemistry Analyzer Spectrophotometer, Nova York, Estados Unidos; kits Labtest, Health Testing Centers, Saint Louis, Estados Unidos). A dosagem de PCR foi determinada pelo método de aglutinação em látex. A asma foi definida com base na metodologia do *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC, 1998). O parâmetro volume expiratório forçado no primeiro segundo da espirometria foi usado para definição das crianças com obstrução pulmonar. A espirometria foi realizada usando um aparelho tipo pneumotacógrafo de Fleish da marca KOKO (Ferraris CardioRespiratory; Pulmonary Data Services, Inc. Louisville, CO, USA). A contagem de eosinófilos e IgE-hx2 foram mensuradas por método automatizado e ensaio imunoenzimático, respectivamente. Para os dados antropométricos, as crianças foram medidas e pesadas usando balança digital (G-TECH Glass PRO devidamente testada e calibrada; Glicomed, Rio de Janeiro, Brasil) e um estadiômetro portátil de coluna de madeira e alumínio anodizado. O IMC foi categorizado em eutrófico, sobrepeso e obesidade, tomando-se por base os valores de referência as curvas de crescimento da Organização Mundial de Saúde (OMS), em que os *z-scores* entre -2 a +1 da curva IMC/idade foram classificados como eutróficos.

As análises das variantes polimórficas foram realizadas com a preparação de uma única solução de DNA genômico a partir de sangue total. O DNA foi extraído a partir de 500 µL de sangue, usando o método de Salting-Out. As variantes polimórficas GSTM1 e GSTT1 foram identificadas usando uma adaptação dos métodos descritos por Hatagima et al., 2000, Burim et al., 2004 e Gattas et al., 2004. A genotipagem da variante polimórfica GSTP1 foi realizada com adaptação dos métodos descritos em Burim et al., 2004 e Liu et al., 2006.

Análise estatística

Uma análise descritiva da população foi realizada por da distribuição percentual e medida de tendência central (média) e dispersão (desvio padrão e valores mínimo e máximo) para variáveis categóricas e contínuas, respectivamente. A correlação de *Spearman* foi usada para verificar a relação entre as variáveis ambientais e os biomarcadores desbalanço redox. Para análise da relação entre as concentrações do PM_{2,5} e sua composição elementar, optou-se pela aplicação dos Modelos Lineares Generalizados. Primeiramente, foi construído um modelo de trabalho para cada biomarcador contendo todas as variáveis de ajuste, considerando sua plausibilidade biológica, modelo-teórico explicativo e adequação no modelo e, em seguida, foram introduzidos os poluentes individualmente em defasagem de até cinco dias. A associação foi estimada pelos métodos *Single Lag* e pelo Modelo Polinomial de Defasagem Distribuída (PDLM). O primeiro consiste em incluir no modelo apenas uma variável de exposição (dia corrente, acumulado/média móvel ou defasado), enquanto, o segundo considera o efeito dos poluentes distribuído ao longo de vários dias subsequentes. Na apresentação dos resultados, os coeficientes dos modelos representam a variação absoluta na média de cada biomarcador para a variação de 10 µg/m³ para PM_{2,5} e 10 ng/m³ para seus respectivos componentes químicos. O ajuste dos modelos foi avaliado pelo critério de Akaike (*AIC - Akaike Information Criteria*) e análise de resíduos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com suporte do programa Excel e a programa R.

Resultados

As características da população e as variáveis de estudo estão apresentadas na Tabela 1. Do total de 200 crianças e adolescentes, predominaram aquelas com idade entre 5 a 11 anos (53%) e do sexo feminino (59,5%). Em relação aos biomarcadores de desbalanço redox, a média dos níveis de grupamento tiol da atividade enzimática da GST e do MDA foi de 0,48

mmol/L (SD \pm 0,09), 19,8 U/L (SD \pm 7,5) e 1,50 μ mol/L (SD \pm 0,328), respectivamente. A média de PM_{2,5} (1 dia anterior à coleta de exames) foi de aproximadamente 16 μ g/m³ (SD \pm 2,04, min-máx: 12 – 19 μ g/m³) e de 1812 ng/m³ (SD \pm 624, min-máx: 1240 – 2878 ng/m³) para *Black Carbon*, um dos principais elementos traços da fração fina de PM_{2,5}. Durante o período de estudo as concentrações chegaram a registrar 50 μ g/m³ para PM_{2,5} e 3801 ng/m³ de *Black Carbon*.

A associação entre as concentrações de PM_{2,5} e os biomarcadores de desbalanço redox foram apresentadas na Figura 2. Em relação ao grupamento tiol, observa-se uma redução gradual desse biomarcador ao longo dos 5 dias de exposição anteriores à coleta de sangue com redução percentual de 2,2% (IC95%: 0,2% – 4,4%) para cada aumento de 10 μ g/m³ nas concentrações de PM_{2,5} no lag 5.

A atividade enzimática da GST apresentou uma relação positiva com as concentrações de PM_{2,5} nas duas estratégias de análise adotadas. Na defasagem simples, notou-se um aumento de 1,39 U/L (IC95%: 0,55 – 2,23) para cada incremento de 10 μ g/m³ nas concentrações de PM_{2,5} no lag 3. Para a defasagem distribuída, a atividade enzimática da GST apresentou uma associação positiva com as concentrações de PM_{2,5} para todos os dias de defasagem, mas uma redução gradativa ao longo dos dias estudados. Considerando o efeito acumulado do PM_{2,5} nos 5 dias de exposição anteriores a coleta de sangue, para cada aumento de 10 μ g/m³ nas concentrações de PM_{2,5} houve um incremento de 19,1 U/L (IC95%: 17,2 – 21,07) na atividade da GST (Figura 2).

Para os níveis de MDA, os efeitos do PM_{2,5} estimados por defasagem simples foram observados no lag 3 (0,08 μ mol/L [IC95%: 0,04 – 0,13]) e no lag 4 (0,04 μ mol/L [IC95%: 0,030 – 0,09]). Na defasagem distribuída, observou-se que o aumento de 10 μ g/m³ nas concentrações de PM_{2,5} resultou no incremento de 0,067 μ mol/L (IC95%: 0,008 – 0,12) no

lag 4, 0,075 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 0,032 – 0,090) no lag 5 e 0,307 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 0,02 – 0,416) para o efeito acumulado de 5 dias de exposição anteriores a coleta de sangue (Figura 2).

Os componentes químicos BC, S e K e seus respectivos efeitos nos níveis de biomarcadores de desbalanço redox foram apresentados na Figura 3 e 4. Considerando o efeito acumulado da exposição de 5 dias, um aumento das concentrações séricas de tiol e uma redução da atividade da GST e MDA foram observados para cada elevação de 10 ng/m^3 de BC e K (Figura 3 e 4). Embora os efeitos do S não tenham sido significantes para atividade da GST, observou-se um incremento gradual deste biomarcador ao longo dos dias de defasagem. Em relação a produção de peroxidação lipídica, esse aumento gradual também foi observado e os resultados foram significantes para o lag 4 (0,0059 [IC95%:0,0013 – 0,0105]) (Figura 3). Quanto as concentrações de tiol, notou-se uma redução percentual de 0,5% (0,09 – 0,092) a cada aumento de 10 ng/m^3 de enxofre.

Entre os componentes químicos do $\text{PM}_{2,5}$ estudados, os metais foram aqueles que apresentaram associações mais expressivas com os biomarcadores de desbalanço redox, especialmente Zn e Pb (Figura 4, 5 e 6). Para o Zn considerando o efeito acumulado de 5 dias, o aumento de 10 ng/m^3 em sua concentração foi associado a uma redução percentual de 70% (IC95%: 60,3 – 77) do grupamento tiol, uma elevação de 68,6 U/L (IC95%: 63 – 74) na atividade da GST e um aumento de 2,61 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 2,37 – 2,85) nas concentrações de MDA (Figura 5). Em se tratando do Pb, o efeito acumulado das concentrações desse poluente para cada aumento de 10 ng/m^3 foi de redução percentual de 12,3% (IC95% 4,3 – 20) para tiol e elevação de 32 U/L (IC95%: 29 – 35) e 2,15 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 1,96 – 2,34) para atividade da GST e concentrações de MDA, respectivamente (Figura 5).

Os elementos Al, Fe e Ti apresentaram uma associação positiva com a atividade da GST e concentrações de MDA. Considerando o efeito acumulado de 5 dias, a cada aumento de 10 ng/m^3 de Al, Fe e Ti foram observados, respectivamente, a elevação de 0,91 U/L

(IC95%: 0,75 – 1,08), 1,30 U/L (IC95%: 1,18 – 1,43) e 12,7 U/L (IC95%: 11,4 – 14,1) para a atividade GST e de 0,011 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 0,007 – 0,0143), 0,021 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 0,016 – 0,025) e 0,230 $\mu\text{mol/L}$ (IC95%: 0,185 – 0,275) para as concentrações de MDA (Figura 4 e 6). Nenhuma associação foi encontrada entre esses elementos e o grupamento tiol.

Discussão

Ao avaliar os efeitos do $\text{PM}_{2,5}$ sobre os biomarcadores de desbalanço redox em crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira, observou-se uma redução das concentrações de tiol (variável *proxy* da glutatona [GSH]) e um aumento da atividade da GST e das concentrações de MDA que representam, respectivamente, a capacidade antioxidante, a função de detoxificação e os danos oxidativos aos lipídios. Além disso, os efeitos estimados nesses biomarcadores foram associados à composição química do $\text{PM}_{2,5}$, sobretudo com os metais de transição.

Na Amazônia Brasileira, durante o período de estiagem, áreas com intensa queima de biomassa chegam a atingir picos de 350 a 450 μm^3 de $\text{PM}_{2,5}$ (Artaxo, 2010). Em Porto Velho, durante o período do estudo, as concentrações médias diárias atingiram valores máximos de 50 μm^3 que são 2 vezes maiores quando comparados ao valores recomendados para saúde humana (WHO, 2005). Diversos estudos epidemiológicos realizados na Amazônia Brasileira mostraram os impactos da poluição atmosférica sobre o número de internação por doenças respiratórias (Ignotti et al., 2010a, 2010b) e a redução da função pulmonar em crianças e adolescentes durante o período de maior ocorrência de queimadas (Jacobson et al., 2012, 2014). Oliveira et al. (2012) alertaram sobre potenciais efeitos adversos à saúde infantil proveniente das queimadas ao mostrarem que crianças e adolescentes residentes na região da Amazônia Brasileira estão expostas a maiores doses de $\text{PM}_{2,5}$ durante a seca e, conseqüentemente, em risco toxicológico para este poluente, fortalecendo os achados deste

estudo. Ainda assim, poucos foram os estudos que exploraram os mecanismos de atuação dos poluentes (Oliveira Alves et al., 2011, 2014).

Apesar do desconhecimento dos mecanismos fisiopatológicos pelos quais o PM causa efeitos adversos à saúde humana, os estudos apontam a inflamação e o desbalanço redox e suas respectivas implicações como mecanismos predominantes (Ghio et al., 2012). Os resultados desse estudo sugerem que a exposição ao PM_{2,5} reduz gradualmente as concentrações de tiol se considerarmos o efeito acumulado dos 5 dias anteriores à coleta dos dados e que o movimento inverso é observado para as concentrações de MDA. Para GST, os resultados foram positivamente associados com PM_{2,5}, mas com uma discreta redução da atividade dessa enzima ao decorrer dos dias de defasagem. Para isso, especula-se que tal comportamento possa estar associado com a diminuição da disponibilidade de tiol (GSH), uma vez que a GST é caracterizada por sua elevada especificidade pela glutatona reduzida (GSH) – o tiol sérico mais abundante (Sheehan et al., 2001).

O tamanho, a forma e a composição química do PM são importantes fatores para determinação de sua toxicidade e a produção direta de substâncias pró-oxidantes deve-se aos componentes orgânicos e metais de transição contidos na massa do PM. Em geral, os metais de transição, tais como o Fe, são conhecidos por participar de reações que possibilitam a formação de ERO's e, conseqüentemente, o estabelecimento da condição de desbalanço redox (Li et al., 2003; Ayres et al., 2008; Ghio et al., 2012).

Os metais são muito ativos em reações de óxido-redução, o que os capacitam como potentes catalisadores das reações de geração de radicais livres. A participação desses metais ocorre por meio das reações de *Fenton* e *Haber-Weiss*. Em ambas as reações, esses metais reagem com H₂O₂, formando complexos intermediários, que, em seguida, se decompõem formando o radical OH (Donaldson et al., 1997; Valavanidis et al., 2012). Esse radical vem sendo indicado como o de maior potencial reativo, o que o capacita como o radical livre mais

propício na produção de danos oxidativos e desempenha um importante papel na lipoperoxidação, sendo o principal agente iniciador de tal processo (Welch et al., 2002). Além disso, esse radical não possui um sistema de defesa antioxidante especializado. Essas propriedades químicas poderiam explicar a relação encontrada neste estudo entre os metais Fe, Al e Ti e o aumento de MDA e a não significância estatística dos mesmos com a redução do grupamento tiol.

Em geral, a capacidade dos componentes químicos do PM em promover desbalanço redox e/ou dano tecidual foi estudada em modelo animal, usando exposição controlada por meio de partículas ambientais concentradas (PAC). Os resultados mostraram que os componentes Fe, manganês, cobre e Zn produziram aumento de pró-oxidantes nos pulmões enquanto Fe, Al, Si e Ti o fizeram no coração (Gurgueira et al., 2002). Nesse estudo, entre os metais que compõe a massa fina do PM, o Zn e Pb foram aqueles que apresentaram associações mais expressivas com os biomarcadores de desbalanço redox.

Em relação ao Zn, uma relação inversa às condições de desbalanço redox poderia ser esperada, pois esse metal possui propriedades antioxidantes e atua como cofator de enzimas que participam do metabolismo energético e do sistema de defesa antioxidante (superóxido dismutase). No entanto, estudos mostram dualidade das ações do Zn no organismo e, dependendo da concentração, este metal poderia provocar tanto respostas antioxidantes com pró-oxidantes (Chen, Liao, 2003; Ha et al., 2006). Na área de poluição do ar, estudos experimentais sugeriram que a inalação do Zn pode provocar lesão pulmonar e inflamação (Adamson et al, 2000; Prieditis, Adamson, 2002). Um estudo sobre a relação entre a média anual dos elementos constituintes do PM e o desenvolvimento de pneumonia durante a infância mostrou que o Zn foi o único elemento associado ao desfecho avaliado (Fuertes et al., 2014). Além disso, uma revisão conduzida por Wu et al. (2013) sugeriu que os efeitos

negativos da exposição ao Zn, especialmente no pulmão, são mediados por múltiplos efeitos oxidativos.

No que se refere à presença de Pb na composição do PM, mesmo em baixas concentrações, esse metal tem sido associado a efeitos prejudiciais à saúde, sobretudo os efeitos neurotóxicos com comprometimento do desenvolvimento do sistema nervoso central de fetos e crianças (Prikle et al., 1994; Watanabe et al., 1996; Torra et al., 1997). Assim, como chumbo, a exposição ao Manganês (Mn), que também faz parte da composição química do PM (Artaxo et al., 2002; 2006), possui efeitos deletérios para o desenvolvimento fetal, mas não foi incluído nas análises porque durante o período do estudo não foram identificadas concentrações desse metal na composição química do PM.

Assim como os metais, os compostos orgânicos como quinonas e os HPAs também contribuem para desencadear desbalanço redox. Em geral, os compostos orgânicos geram desequilíbrio substâncias oxidantes e antioxidantes por meio do ciclo redox de radicais à base de quinona, pela complexação de metais que resultam no transporte de elétrons, e pela depleção de antioxidantes com reações entre quinonas e compostos contendo tiol (Ghio et al., 2012). Nesse estudo, o BC foi o elemento orgânico avaliado, mas os resultados foram inconclusivos. Apesar de observada uma tendência positiva entre as concentrações de BC e os valores de MDA ao longo de 5 dias de defasagem, o efeito acumulado destes dias de exposição foi negativo. De qualquer forma, uma relação inversa foi verificada com as concentrações de tiol e a atividade de GST, indicando uma possível capacidade do organismo em conseguir reverter os efeitos oxidativos deste elemento. Brown et al. (2000) mostraram que os efeitos oxidativos do BC são independentes das concentrações de metais ou de outros componentes solúveis presentes em sua superfície. De qualquer forma, diversos estudos mostraram que a exposição ao BC está associada a desfechos de morbimortalidade por doenças respiratórias e cardiovasculares (Brook et al., 2010).

Os elementos inorgânicos constituem outro componente importante, do ponto de vista toxicológico, na composição deste poluente (Lippmann, Schlesinger, 2000; Schlesinger, 2007). Entre as espécies inorgânicas, aquelas solúveis em água, como o enxofre, são particularmente interessantes, pois pode formar sulfato (SO_4^{2-}). Saldiva et al. (2002), ao avaliarem os efeitos adversos da exposição ao PM em ratos expostos a 5 horas diárias, durante 3 dias, sugeriram que o SO_4^{2-} poderia ser o componente associado com a resposta inflamatória pulmonar nestes animais. Assim, uma das hipóteses de atuação desse elemento seria a produção indireta de ERO's via processos inflamatórios. Como observado neste estudo, os efeitos do enxofre não foram significantes para atividade da GST, mas um incremento deste biomarcador foi observado ao longo dos dias de defasagem, concomitante ao aumento do MDA que apresentou significância no lag 4.

Na Amazônia Brasileira, a composição química do $\text{PM}_{2.5}$ é marcada por suas diferenças sazonais e, normalmente, durante a seca observam-se maiores concentrações de elementos traços da queima de biomassa como BC, S e K (Artaxo et al., 2002; Pauliquevis et al, 2007). Estudos sobre composição elementar do $\text{PM}_{2.5}$ na Amazônia Brasileira mostraram que a massa deste poluente é constituída, majoritariamente por BC e em menor proporção por metais e elementos inorgânicos como o enxofre e potássio (Yamasoe et al., 2001; Artaxo et al., 2002; Pauliquevis et al. 2007). Assim, os metais, embora tenham apresentado efeitos expressivos sobre os biomarcadores desbalanço redox, são componentes que contribuem em menor percentual para a massa do $\text{PM}_{2.5}$ quando comparados a outros elementos como BC cujas concentrações representaram 12% do total da massa desse poluente (esse percentual variará dependendo da composição química do PM e da sazonalidade). De qualquer maneira, mesmo em baixas concentrações, uma condição de desbalanço redox foi observada para uma exposição cumulativa de 5 dias. É importante destacar também que as concentrações de Al e Fe (elementos associados à ressuspensão de partículas do solo) aumentam do período de seca

para estação chuvosa, e as concentrações de Pb estariam associadas a emissões industriais e de combustíveis fósseis (Artaxo et al., 2006).

Entre as limitações desse estudo, ressalta-se a distância entre a estação de monitoramento e a área rural/ribeirinha, e a imputação de 20% das medidas. No entanto, a exposição nessas localidades foi bem pautada na medida que foram consideradas outras fontes de emissões como queima de lixo doméstico e poluição *indoor* (uso e fogão a lenha e casa e farinha). Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre a profundidade óptica dos aerossóis (AOD), uma variável *proxy* de exposição ao PM_{2,5}, no raio de 20 km² da comunidade rural/ribeirinha e do local onde está implantada a estação de monitoramento. Mesmo assim, sabe-se que as características meteorológicas da Amazônia Brasileira favorecem o transporte de gases e partículas e sua dispersão em larga escala e para longas distâncias (Freitas et al., 2000, 2005; Andreae et al., 2001). Outro obstáculo encontrado foi a dificuldade de acesso a determinadas localidades e, obviamente, a infraestrutura precária para realização das análises e ampliação da amostra.

Apesar das limitações desse estudo, os resultados foram coerentes com a literatura e sugerem que a exposição ao PM_{2,5} e sua composição elementar estão associados a redução das concentrações de tiol e aumento da atividade da GST e das concentrações de MDA. Contudo, os componentes e os mecanismos responsáveis pelo desbalanço redox e sua contribuição como mediador de efeitos decorrentes da exposição aos poluentes atmosféricos ainda precisam ser melhor esclarecidos, sobretudo em crianças que possuem o sistema imunológico em desenvolvimento e expostos a outras formas de contaminação química como mercúrio (Grotto et al., 2010).

Em conclusão, os resultados desse estudo corroboram a hipótese de que a geração de substâncias pró-oxidantes geradas pela exposição ao PM_{2,5} depende do transporte de elétrons por componentes específicos, como os metais de transição. Ainda assim, independentemente

da origem, a geração de oxidantes e o estabelecimento do desbalanço redox por meio da exposição ao PM_{2,5} podem resultar em uma série de reações celulares, incluindo a ativação de cascatas de quinase e fatores de transcrição, liberação e mediadores inflamatórios, inflamação e apoptose. Para avaliar se esses efeitos podem ser minimizados ou até reversíveis em crianças e adolescentes, mais estudos precisam ser conduzidos.

Referências bibliográficas

- Adamson, I.Y., Prieditis, H., Hedgecock, C., Vincent, R. 2000. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 166(2):111–119.
- Andreae, M. O., Artaxo, P., Fischer, H., Freitas, S. R. 2001. Transport of biomass burning smoke to the upper troposphere by deep convection in the equatorial region. *Geophys Res Lett.* 28(6):951-954.
- Artaxo, P. et al. 2002. Physical and chemical properties of aerosols in the wet and dry season in Rondônia, Amazonia. *J Geophys Res.* 107(D20):49.1-49.14.
- Artaxo, P. et al. 2006. Efeitos climáticos de partículas de aerossóis biogênicos e emitidos em queimadas na Amazônia. *Rev Bras Meteorologia.* 21(3a):168-22.
- Artaxo, P., Bastos, W., Hacon, S. Contribuição ao Relatório de Qualidade Ambiental na cidade de Porto Velho, 2010. [in press]
- Ayres, J. G. et al. 2008. Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential--a workshop report and consensus statement. *Inhal Toxicol.* 20(1):75-99.
- Brook, R. D. et al. 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 121: 2331–78.

- Brown, D. M., Stone, V., Findlay, P., MacNee, W., Donaldson, K. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. *Occup Environ Med.* 57:685-691.
- Burim, R. V., Canalle, R., Martinelli, A. L., Takahashi, C. S. 2004. Polymorphisms in glutathione S-transferases GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and cytochromes P450 CYP2E1 and CYP1A1 and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics. *Mutagenesis.* 19(4):291-8.
- Burnett, R. et al. 2014. An Integrated Risk Function for Estimating the Global Burden of Disease Attributable to Ambient Fine Particulate Matter Exposure *Environ Health Perspect.* 122(4): 397–403.
- Calderón-Garcidueñas, L., Franco-Lira, M., Mora-Tiscareño, A., Medina-Cortina, H., Torres-Jardón, R., Kavanaugh, M. 2013. Early Alzheimer's and Parkinson's disease pathology in urban children: Friend versus Foe responses--it is time to face the evidence. *Biomed Res. Int.* 2013: 161687.
- Calderón-Guarcidueñas, L. et al. 2004. Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution. *Toxicol Pathol.* 32:650-658.
- Chen, C. J., Liao, S. L. 2003. Zinc toxicity on neonatal cortical neurons: involvement of glutathione chelation. *Journal of Neurochemistry.* 85, 443–53.
- Donaldson, K. et al. 1997. Free radical activity of PM10: iron-mediate generation of hydroxyl radicals. *Environ Health Perspect.* 105(suppl 5):1285-1289.
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 82: 70-77.
- Erden-Inal, M., Sunal, E., Kanbak, G. 2002. Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem Funct.* 20(1):61-6.

- Fleischer, N. L. et al. 2014. Outdoor air pollution, preterm birth, and low birth weight: analysis of the world health organization global survey on maternal and perinatal health. *Environ Health Perspect.* 122: 425 – 30.
- Freitas, S. R. et al. 2000. A convective kinematic trajectory technique for low resolution atmospheric models. *J Geophys. Res.* 105(D19):24.375-24.386.
- Freitas, S. R. et al. 2005. Monitoring the transport of biomass burning emissions in South America. *Environ. Fluid Mech.* 5(1):135-167.
- Fuertes, E. et al. 2014. Associations between particulate matter elements and early-life pneumonia in seven birth cohorts: results from the ESCAPE and TRANSPHORM projects. *Int J Hyg Environ Health.* 217(8):819-29.
- Gattas, G. J. et al. 2004. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res.* 37(4):451-8
- Ghio, A. J., Carraway, M. S., Madden, M. C. 2012. Composition of air pollution particles and oxidative stress in cells, tissues and living systems. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 15:1-21.
- Ghio, A. J., Carraway, M. S., Madden, M. C. 2012. Composition of air pollution particles and oxidative stress in cells, tissues and living systems. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 15: 1-21.
- Ghio, A. J.; Stonehuerner, J.; Dailey, L. A.; Carter, J. D. 1999. Metals associated with both the water-soluble and insoluble fractions of ambient air pollution particles catalyze an oxidative stress. *Inhal Toxicol*, 11:37–49.
- Gouveia, N. et al. 2006. Respiratory and cardiovascular hospitalizations associated with air pollution in the city of São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública.* 22:2669-77.

- Gouveia, N., Bremmer, S. A., Novaes, H. M. D. 2004. Association between ambient air pollution and birth weight in São Paulo, Brazil. *J Epidemiol Community Health*. 58:11-17.
- Grotto, D. et al. 2010. Mercury exposure and oxidative stress in communities of Brazilian Amazon. *Sci Total Environ*. 408: 806-811.
- Gurgueira, S. A., Lawrence, J., Coull, B., Murthy, G. G., González-Flecha, B. 2002. Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. *Environ Health Perspect*. 110(8):749-55.
- Ha, K. N., Chen, Y., Cai, J., Sternberg, P. J. 2006. Increased glutathione synthesis through an ARE-Nrf2-dependent pathway by zinc in the RPE: implication for protection against oxidative stress. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 47(6), 2709-15.
- Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S., Siest, G. 2002. Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. *Clin Chim Acta*. 326: 131–142.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jacoby, W. B. 1974. Glutathione S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 249(22): 7130-7139.
- Hatagima, A., Klautau-Guimarães, M. N., Silva, F. P., Cabello, P. H. 2000. Glutathione S-transferase M1(GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genet Mol Biol*. 23:709-713.
- Héroux, M. et al. 2015. Quantifying the health impacts of ambient air pollutants: recommendations of a WHO/Europe project. *Int J Public Health*. 60(5): 619–627.
- Hong, Y-C., Park, E-Y., Park, M-S., Ko, J. A., Oh, S-Y., Kim, H., Lee, K. H., Leem, J. H., Ha, E. H. 2009. Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicol. Lett*. 184: 139–44.
- Hu, M. L. 1994. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods in Enzymol*. 233: 380-385.

- Ignotti, E. et al. 2010a. Air pollution and hospital admissions for respiratory diseases in the subequatorial Amazon: a time series approach. *Cad. Saúde Pública*. 26(4):747-761.
- Ignotti, E., Valente, J. G., Longo, K. M., Freitas, S. R., Hacon, S., Artaxo, P. 2010b. Impact on human health of particulate matter emitted from burnings in the Brazilian Amazon region. *Rev Saúde Pública*. 44(1):121-30.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Dados demográficos das cidades brasileiras. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2010 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>
- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Centro de Previsão e Tempo e Estudos Climáticos[Acessado no dia 20 de maio de 2013]. Disponível em: <http://tempo.cptec.inpe.br/>
- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Monitoramento de queimadas e incêndios por satélite em tempo quase-real. 2014 [Acessado no dia 18 de junho de 2014]. Disponível em: <http://www.inpe.br/queimadas/sitAtual.php>
- Jacobson, L. S. et al. 2014. Acute effects of particulate matter and black carbon from seasonal fires on peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian Amazon. *Plos One*. 14(8):e104177.
- Jacobson, L. S., Hacon, S., Castro, H. A., Ignotti, E., Artaxo, P., Ponce de Leon, A. C. 2012. Association between fine particulate matter and the peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian subequatorial Amazon: a panel study. *Environ Res*. 117:27-35.
- Liu, Y. J. et al. 2006. GSTP1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 15(4):659-66.

- Knaapen, A. M., Shi, T., Borm, P. J. A., Schins, R. P. F. 2002. Soluble metals as well as insoluble particle fraction are involved in cellular DNA damage induced by particulate matter. *Molecular and Cell Biochemistry*. 234/235:317–326.
- Kohen, R., Nyska, A. 2002. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol Pathol*. 30 (6): 620-650.
- Li, N. et al. 2003. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect*. 111(4): 455–460.
- Lippmann, M., Schlesinger, R. B. 2000. Toxicological bases for the setting of health-related air pollution standards. *Annual Review of Public Health*. 21:309-33.
- Liu, L. et al. 2009. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environ. Health Perspect*. 117: 668–74.
- Liu, Y. J. et al. 2006. GSTP1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 15(4):659-66.
- Miller, M. R., Shaw, C. A., Langrish, J. P. 2012. From particles to patients: oxidative stress and the cardiovascular effects of air pollution. *Future Cardiol*. 8(4):577-602.
- Moulton, P. V., Yang. 2012. Air pollution, Oxidative Stress, and Alzheimer’s Disease. *J Environ Public Health*., 2012: 9.
- Oliveira Alves, N. et al. 2011. Genotoxicity and composition of particulate matter from biomass burning in the eastern Brazilian Amazon region. *Ecotoxicol Environ Saf*. 74(5):1427-33.
- Oliveira Alves, N. et al. 2014. Genetic damage of organic matter in the Brazilian Amazon: a comparative study between intense and moderate biomass burning. *Environ Res*., 130:51-58.

- Oliveira B. F., Ignotti, E., Artaxo, P., Saldiva, P. H., Junger, W. L., Hacon, S. 2012. Risk assessment of PM(2.5) to child residents in Brazilian Amazon region with biofuel production. *Environ Health*. 11:64.
- Oliveira, B. F. A, Ignotti, E., Hacon, S. 2011. A systematic review of the physical and chemical characteristics of pollutants from biomass burning and combustion of fossil fuels and health effects in Brazil. *Cad Saúde Pública*. 27:1678–1698.
- Oliveira, B. F. A., Chacra, A. P., Frauches, T. S., Valloci, A., Hacon. S. 2014. A curated review of recent literature of biomarkers used for assessing air pollution exposures and effects in humans. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 17(7-8):369-410.
- Ono, H., Sakamoto, A., Sakura, N. 2001. Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects. *Clin Chim Acta*. 312(1-2):227-9.
- Palmer, C. D., Lewis Jr., M. E.; Geraghty, C. M., Barbosa Jr, F., Parsons, P. J. 2006. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma–mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 61(8):980–990.
- Pauliquevis, T., Lara, L. L., Antunes, M. L., Artaxo, P. 2007. Aerosol and precipitation chemistry in a remote site in Central Amazonia: the role of biogenic contribution. *Atmos Chem Phys Discuss*. 7:11465-11509.
- Pedersen, M. et al. 2013. Ambient air pollution and low birthweight: a European cohort study (ESCAPE). *Lancet Respiratory Medicine*, 1:695 – 704.
- Pope, C. A., Dockery, D.W. 2006. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J Air Waste Manag Assoc*. 56(6):709-42.
- Prieditis, H., Adamson, I.Y. 2002. Comparative pulmonary toxicity of various soluble metals found in urban particulate dusts. *Exp. Lung Res*. 28(7):563–576.

- Prikle, J.L. et al. 1994. The Decline in Blood Lead Levels in the United States. The National Health and Nutritional Examination Survey *J. Am. Med. Assoc.* 272:284-291.
- Saldiva, P. H. N. et al. 2002. Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165:1610–1617.
- Sava, F., Carlsten, C. 2012. Respiratory health effects of ambient air pollution: an update. *Clin. Chest Med.* 33: 759–69.
- Schaumann, P. J. et al. 2004. Metal-rich ambient particles (particulate matter 2.5) cause airway inflammation in healthy subjects. *Am J Resp Critical Care Med.* 170:898–903.
- Schlesinger, R. B. 2007. The health impact of common inorganic components of fine particulate matter (PM_{2.5}) in ambient air: a critical review. *Inhal Toxicol.* 19(10):811-32.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., Dowd, C. A. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* 360(Pt 1):1-16.
- Steering Committee (ISAAC). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet.* 351, 1225-32, 1998.
- Torra, M., Rodamilans, M., Montero, F., Farre, C., Corbella, J. 1997. Lead Exposure in the Barcelona Population: Chronological Trend between 1984–1995 (in Spanish, with English abstract). *Med. Clin.* 108: 601-603.
- Valavanidis, A., Fiotakis, K., Vlachogianni, T. 2008. Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 26(4): p. 339 – 62.

- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, K., Loridas, S. 2013. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *Int J Environ Res Public Health*. 10(9):p. 3886-907.
- Watanabe, T. et al. 1996. Reduced Cadmium and Lead Burden in Japan in the Past 10 Years. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68:305-314.
- Welch, K. D., Davis, T. Z., Eden, M. E. V., Aust, S. D. 2002. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. *Free Radic Biol Med*. 32(7):577-83
- World Health Organization (WHO). 2005. Air Pollution Guideline. WHO Regional Office Europe.
- World Health Organization (WHO). News release: 7 million premature deaths annually linked to air pollution [accessed in 8/25/2014]. Available in <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/air-pollution/en/>
- Wu, W., Bromberg, P. A., Samet, J. M. 2013. Zinc ions as effects of environmental oxidative lung injury. *Free Radical Biol. Med*. 65: 57–69.
- Yamasoe, M. A., Artaxo, P., Miguel, A. H., Allen A. 2000. Chemical composition of aerosol particles from direct emissions of vegetation fires in the Amazon Basin: water-soluble species and trace elements. *Atmospheric Environment*. 34(10):1641-1653.

Tabelas

Tabela 1. Análise descritiva da população e das variáveis em estudo.

Variável	N	
Biológicas não modificáveis		
Idade (média ± SD/min-max)	200	11,0 ± 2,72 / 5 – 17
Masculino (%)	200	40,5% (81)
Polimorfismo para GST ^a	154	42,2% (65)
Variáveis de saúde e nutricionais		
IgE Hx2 Ku/L (média ± SD/ min-max)	200	4,9 ± 15,9 / 0,10 – 100
PCR (% PCR>6 mg/L)	200	4,5% (09)
Asmático (%)	191	19,4% (37)
Sintomas respiratórios (%)	197	51,8% (102)
Obstrutivo pulmonar (%)	195	15,4% (30)
Cont. eosinófilos % (média ± SD/ min-max)	200	8,9 ± 15,9 / 1,0 – 35
Glicose mg% (média ± SD/ min-max)	199	83,5 ± 7,50 / 68 – 128
Ferro mcg/dL (média ± SD/ min-max)	200	68,6 ± 12,3 / 47 – 118
Anemia ferropriva (%)	200	19% (38)
IMC (média ± SD/ min-max)	199	18,1 ± 3,60 / 11 – 38
Sobrepeso (%)	197	16,2% (32)
Consumo de peixe (% mais 3 vezes na semana)	200	26% (52)
Fatores socioeconômicos		
Renda familiar (% menos de 1 salário mínimo)	190	23,7% (45)
Escolaridade dos pais (% não lê ou primário completo)	196	41,3% (81)
Local residência (% urbana ou periurbana)	200	64% (74)
Fatores ambientais		
Fumante em casa (% Sim)	195	28,2% (55)
Fonte de poluição indoor (% Sim)	197	26,9% (53)
Proximidade de queimada (%Sim)	195	61,5% (120)
PM _{2,5} µg/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	15,5 ± 2,04 / 12 – 19
Black carbon ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	1812 ± 624 / 1240 – 2878
Enxofre ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	237,8 ± 48,3 / 167 – 301
Alumínio ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	144,6 ± 75,5 / 72 – 318
Potássio ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	280,2 ± 43,1 / 200 – 395
Ferro ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	176,8 ± 52,1 / 126 – 318
Zinco ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	1,61 ± 1,33 / 0,5 – 3,9
Titânio ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	17,5 ± 4,44 / 12 – 28
Chumbo ng/m ³ (média ± SD/ min-max) ^b	200	5,84 ± 1,02 / 5,0 – 7,0
T (média) (média ± SD/ min-max) ^b	200	28,6 ± 0,60 / 28 – 30
UR (média) (média ± SD/ min-max) ^b	200	64,3 ± 7,91 / 54 – 74
Hg-sangue µg/L (média ± SD/ min-max)	190	9,86 ± 13,3 / 1,0 – 74
Antioxidante		
Tiol mmol/L (média ± SD/ min-max)	197	0,48 ± 0,09 / 0,22 – 1,22
Enzima de detoxicação		
GST U/L (média ± SD/ min-max)	194	19,8 ± 7,5 / 3,0 – 40
Produto da peroxidação lipídica		
MDA µmol/L (média ± SD/ min-max)	197	1,50 ± 0,328 / 0,86 – 2,4

^a Possui polimorfismo de deleção GSTM1 e GSTT1 ou GSTP1 alelo GG; ^b Concentração média de 24 horas (lag1) anterior a coleta de sangue.

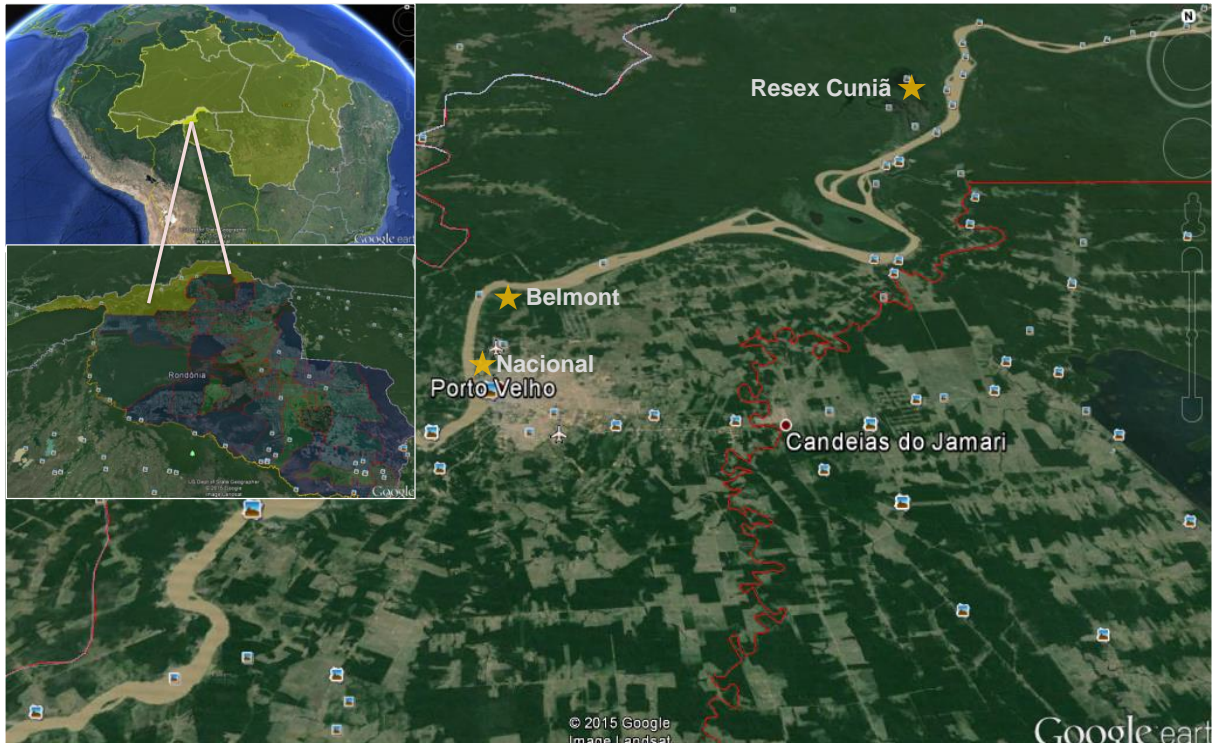
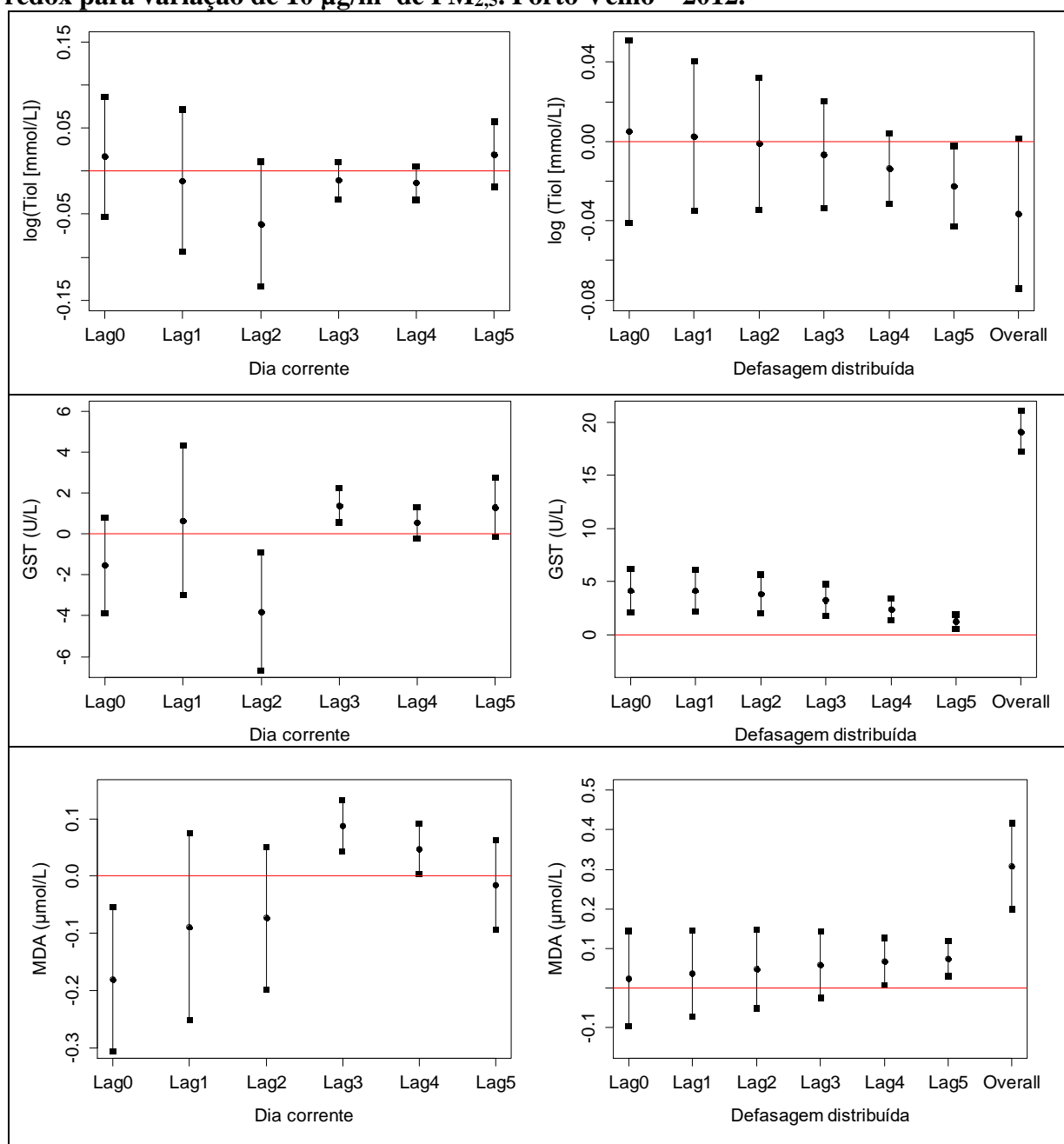


Figura 1. Localização geográfica de Porto Velho (RO).

Figura 2. Variação absoluta na concentração sérica de biomarcadores de desbalanço redox para variação de 10 µg/m³ de PM_{2.5}. Porto Velho – 2012.

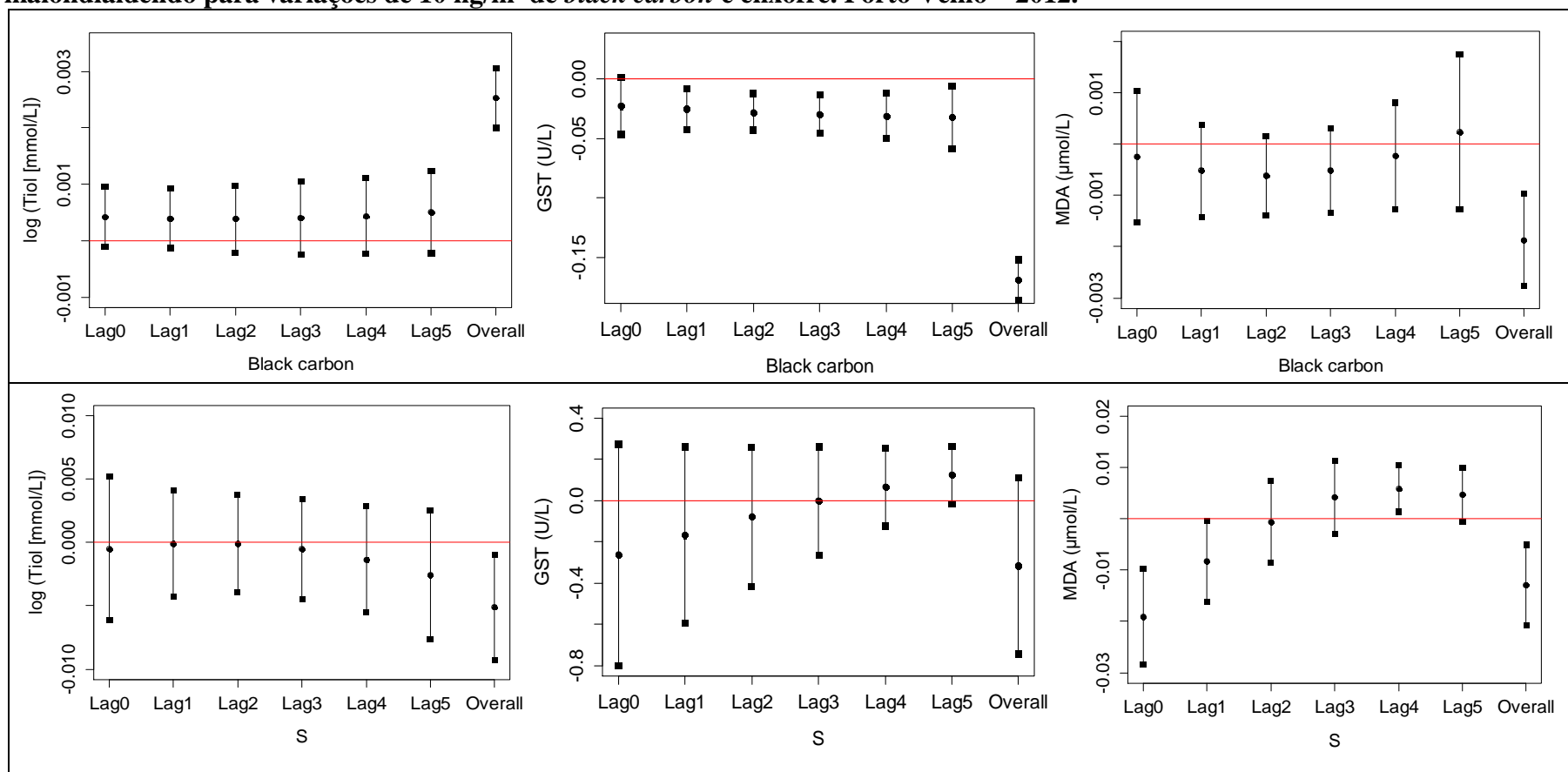


Modelo para tiol ajustado por: idade, sexo, presença de asma, proteína-C-reativa, glicose, mercúrio no sangue, poluição indoor e temperatura máxima (média de 5 dias anteriores a coleta de sangue). Retirados os valores *outliers* (tiol > 1,0 mmol/L).

Modelo para GST ajustado por: idade, sexo, tiol, polimorfismo, glicose, consumo de peixe, umidade relativa do ar média (média de 5 dias anteriores a coleta de dados).

Modelo para MDA ajustado por: idade, sexo, obstrução pulmonar, contagem de eosinófilos, consumo semanal de peixe e umidade relativa do ar média (média 24 horas anteriores a coleta de sangue).

Figura 3. Variação absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutathione S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m³ de *black carbon* e enxofre. Porto Velho – 2012.

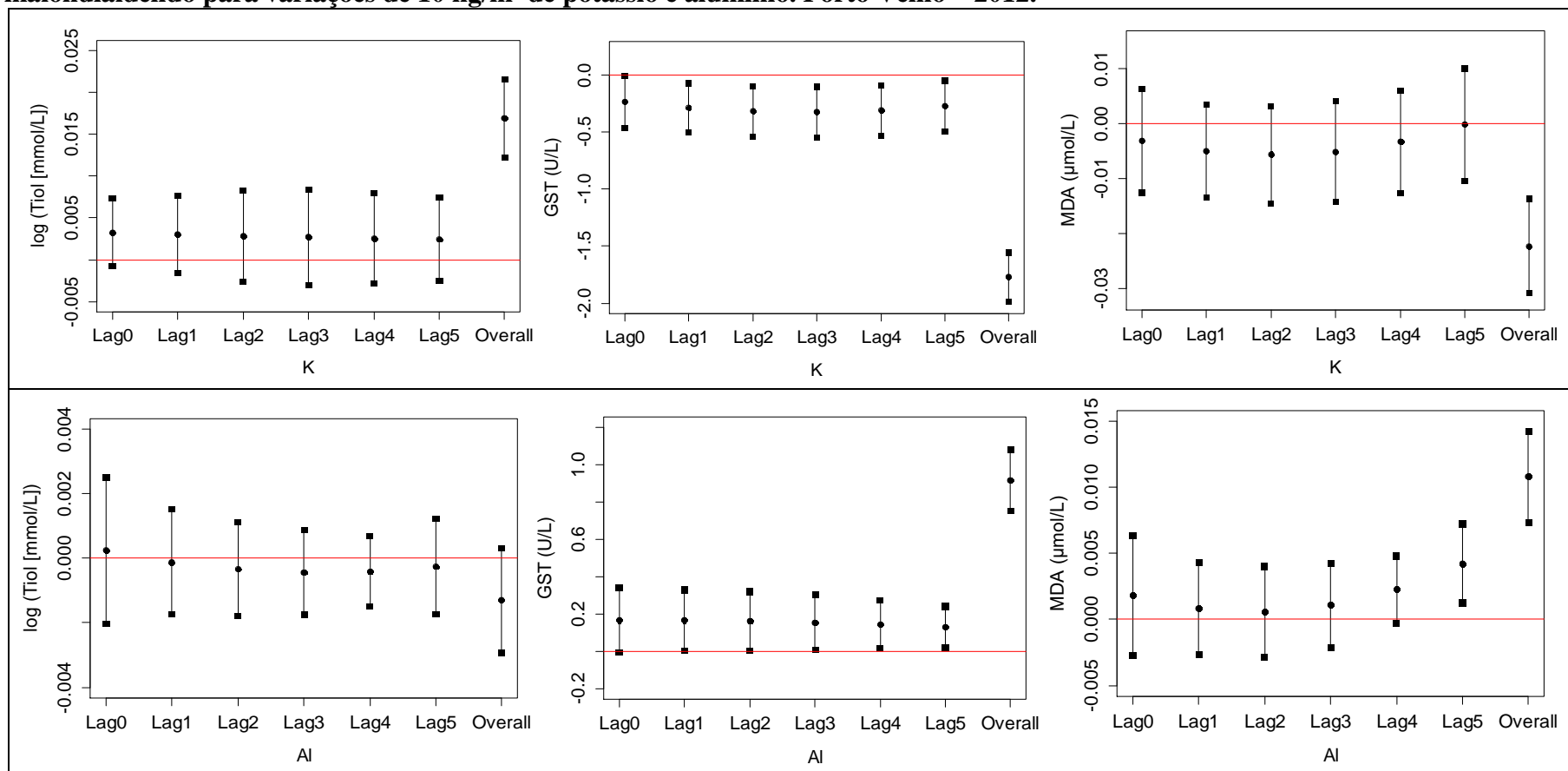


Modelo para tiol ajustado por: idade, sexo, presença de asma, proteína-C-reativa, glicose, mercúrio no sangue, poluição indoor e temperatura máxima (média de 5 dias anteriores a coleta de sangue). Retirados os valores *outliers* (tiol > 1,0 mmol/L).

Modelo para GST ajustado por: idade, sexo, tiol, polimorfismo, glicose, consumo de peixe, umidade relativa do ar média (média de 5 dias anteriores a coleta de dados).

Modelo para MDA ajustado por: idade, sexo, obstrução pulmonar, contagem de eosinófilos, consumo semanal de peixe e umidade relativa do ar média (média 24 horas anteriores a coleta de sangue).

Figura 4. Variação absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutathione S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m³ de potássio e alumínio. Porto Velho – 2012.

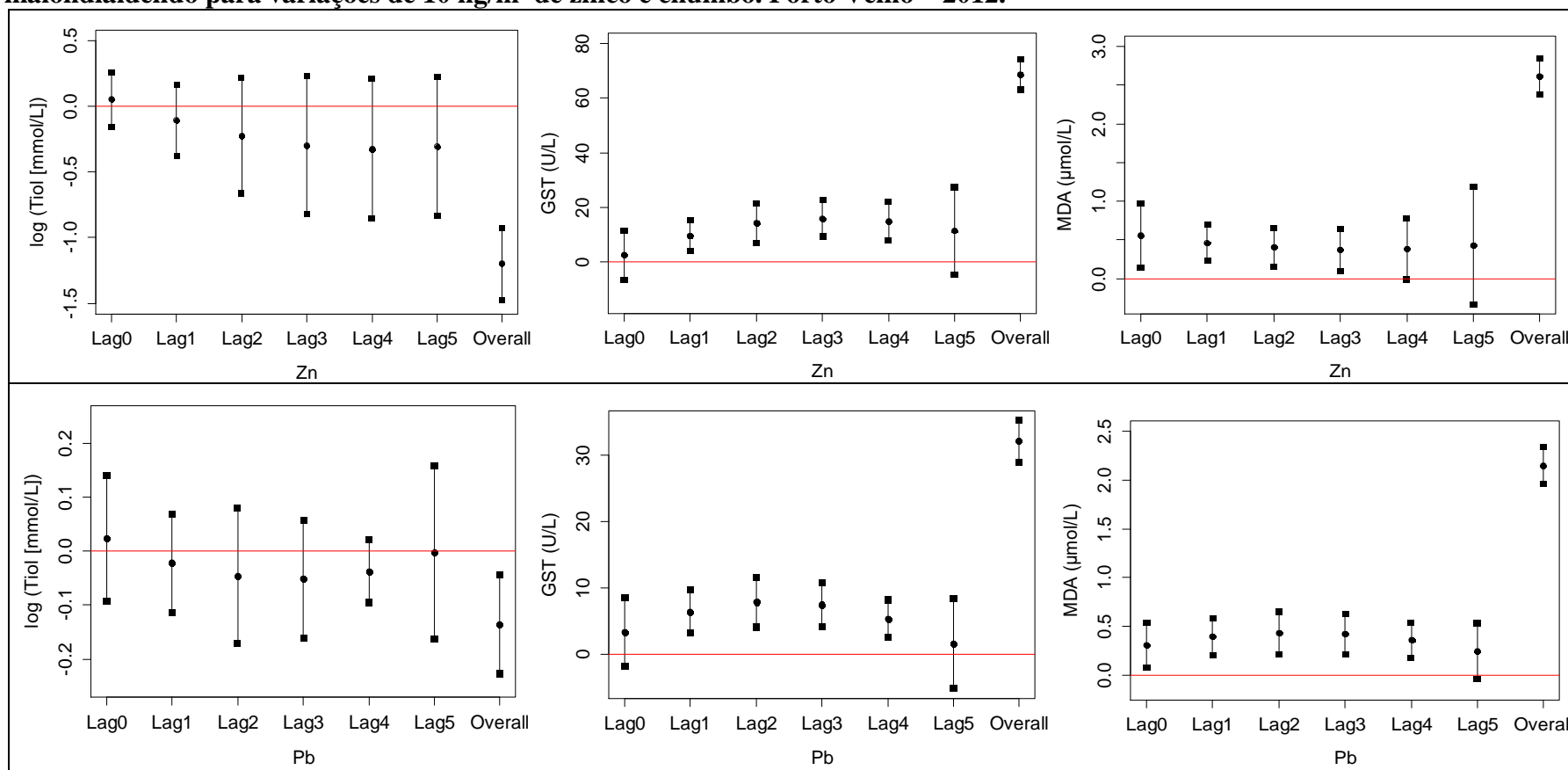


Modelo para tiol ajustado por: idade, sexo, presença de asma, proteína-C-reativa, glicose, mercúrio no sangue, poluição indoor e temperatura máxima (média de 5 dias anteriores a coleta de sangue). Retirados os valores *outliers* (tiol > 1,0 mmol/L).

Modelo para GST ajustado por: idade, sexo, tiol, polimorfismo, glicose, consumo de peixe, umidade relativa do ar média (média de 5 dias anteriores a coleta de dados).

Modelo para MDA ajustado por: idade, sexo, obstrução pulmonar, contagem de eosinófilos, consumo semanal de peixe e umidade relativa do ar média (média 24 horas anteriores a coleta de sangue).

Figura 5. Variação absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutathiona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m³ de zinco e chumbo. Porto Velho – 2012.

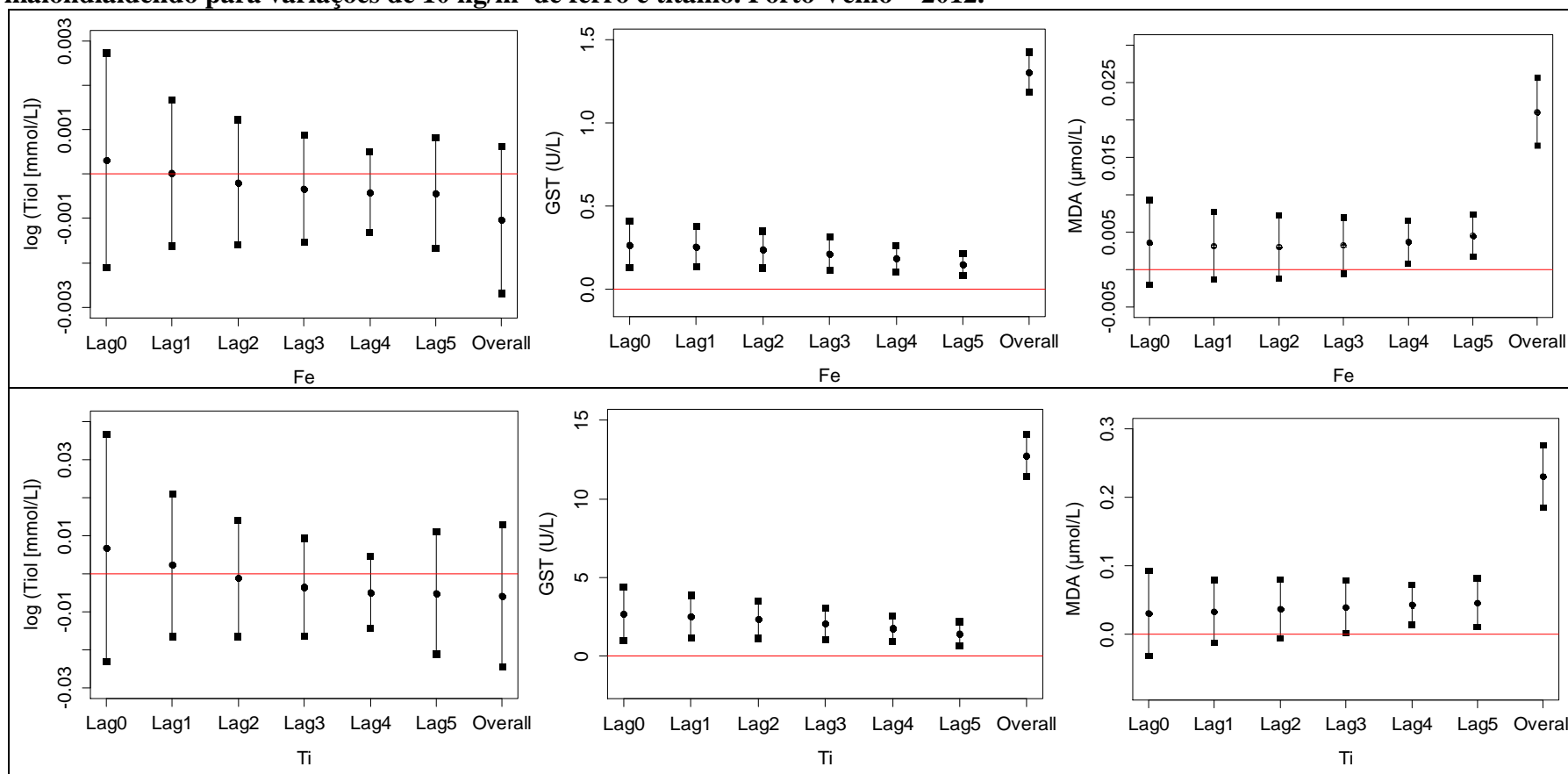


Modelo para tiol ajustado por: idade, sexo, presença de asma, proteína-C-reativa, glicose, mercúrio no sangue, poluição indoor e temperatura máxima (média de 5 dias anteriores a coleta de sangue). Retirados os valores *outliers* (tiol > 1,0 mmol/L).

Modelo para GST ajustado por: idade, sexo, tiol, polimorfismo, glicose, consumo de peixe, umidade relativa do ar média (média de 5 dias anteriores a coleta de dados).

Modelo para MDA ajustado por: idade, sexo, obstrução pulmonar, contagem de eosinófilos, consumo semanal de peixe e umidade relativa do ar média (média 24 horas anteriores a coleta de sangue).

Figura 6. Variação absoluta nas concentrações séricas de tiol (ln-transformado), atividade da glutatona S-transferase e malondialdeído para variações de 10 ng/m³ de ferro e titânio. Porto Velho – 2012.



Modelo para tiol ajustado por: idade, sexo, presença de asma, proteína-C-reativa, glicose, mercúrio no sangue, poluição indoor e temperatura máxima (média de 5 dias anteriores a coleta de sangue). Retirados os valores *outliers* (tiol > 1,0 mmol/L).

Modelo para GST ajustado por: idade, sexo, tiol, polimorfismo, glicose, consumo de peixe, umidade relativa do ar média (média de 5 dias anteriores a coleta de dados).

Modelo para MDA ajustado por: idade, sexo, obstrução pulmonar, contagem de eosinófilos, consumo semanal de peixe e umidade relativa do ar média (média 24 horas anteriores a coleta de sangue).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do presente estudo partiu da necessidade entender melhor sobre os mecanismos de atuação dos poluentes atmosféricos em crianças e adolescentes residentes na Amazônia Ocidental Brasileira. Nessa região, a poluição atmosférica corresponde a um sério problema de saúde pública e meio ambiente, especialmente durante o período de estiagem em que se observa um aumento da emissão dos poluentes pela queima de biomassa. Diversos estudos epidemiológicos mostraram os impactos da poluição do ar em desfechos de morbimortalidade e este estudo aprofunda essa investigação, explorando os potenciais efeitos da exposição ao PM_{2,5} em biomarcadores de desbalanço.

O estudo de revisão ofereceu um escopo abrangente das pesquisas publicadas recentemente na área de biomarcadores em relação à poluição do ar e apresenta evidências da atuação desses poluentes em mecanismos de doenças como diabetes, problemas respiratórios, cardiovasculares e trombose. Em geral, o organismo humano reage a diversas exposições, incluindo poluição do ar, e tenta adaptar-se constantemente a elas.

Nas abordagens transversais, os estudos mostraram a relação de fatores genéticos, demográficos, sociais, ambientais e de saúde no estado de desbalanço redox em crianças e adolescentes. Os resultados sugeriram que a exposição ao PM_{2,5} reduz as concentrações de tiol e aumenta a atividade da GST e concentrações de MDA no grupo populacional de estudo. No entanto, esses efeitos mostraram relação positiva com a composição química do PM_{2,5}, sobretudo com os metais. Essas especificidades podem contribuir para maior segurança na utilização dos biomarcadores de desbalanço redox seja para prever efeitos ao organismo ou para indicar uma determinada exposição ambiental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMSON, I.Y. et al. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.166, n. 2, p.111–119, 2000.
- AGRICOLA, G. De Re Metallica, 1556.
- AIKAWA, E. et al. Reactive oxygen species in mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 289, p. 901 – 907, 2001.
- AL ZABADI, H. et al. Integrated exposure assessment of sewage workers to genotoxicants: an urinary biomarker approach and oxidative stress evaluation. **Environmental Health: A Global Access Science Source**, v. 10, p. 23, 2011.
- AL-BAZZ, Y. O. et al. Immuno-analysis of phospho-Akt in primary human breast cancers. **International Journal of Oncology**, v.35, p. 1159–67, 2009.
- ALEXEEFF, S. E. et al. Medium-term exposure to traffic-related air pollution and markers of inflammation and endothelial function. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, p. 481–6, 2011.
- ALLEN, J. et al. Effect of diesel exhaust inhalation on antioxidant and oxidative stress responses in adults with metabolic syndrome. **Inhalation Toxicology**, v. 21, p. 1061–7, 2009.
- ALLEN, R. W. et al. An air filter intervention study of endothelial function among healthy adults in a woodsmoke-impacted community. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 183, p. 1222–30, 2011.
- AL-SAAD, S. et al. Diverse prognostic roles of Akt isoforms, PTEN and PI3K in tumor epithelial cells and stromal compartment in non-small cell lung cancer. **Anticancer Research**, v. 29, p. 4175–83, 2009.

- AMORIM, L. C. A. O uso de biomarcadores na avaliação da exposição ocupacional a substâncias químicas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, pp. 58-70, 2003.
- ANDREADIS, A. A. et al. Oxidative and nitrosative events in asthma. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, n. 3, p. 213–225, 2003.
- ANDREAE, M. O. et al. Transport of biomass burning smoke to the upper troposphere by deep convection in the equatorial region. **Geophysical Research Letters**, v. 28, n. 6, p. 951-954, 2001.
- ANDREAE, M. O.; GELENCSEÉR, A. Black carbon or brown carbon? The nature of light-absorbing carbonaceous aerosols. **Atmospheric Chemical and Physics**, v. 6, p. 3131-3148, 2006.
- ANON. [Naphthalene/naphthols and human biomonitoring. Position of the Human Biomonitoring Committee of the Federal Environmental Office] (in German). **Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz**, v. 50, p. 1357–64, 2007.
- ARAYASIRI, M. et al. Biomonitoring of benzene and 1,3-butadiene exposure and early biological effects in traffic policemen. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 4855–62, 2010.
- ARTAXO, P. et al. Efeitos climáticos de partículas de aerossóis biogênicos e emitidos em queimadas na Amazônia. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 21, n. 3a, p. 168-22, 2006.
- ARTAXO, P. et al. Large-scale aerosol source apportionment in Amazonia. **Journal of Geophysical Research**, v. 103, n. 24, p.31837-31847, 1998.
- ARTAXO, P. et al. Physical and chemical properties of aerosols in the wet and dry season in Rondônia, Amazonia. **Journal of Geophysical Research**, v. 107, n. D20, p. 49.1-49.14, 2002.

- ARTAXO, P.; BASTOS, W.; HACON S. Contribuição ao Relatório de Qualidade Ambiental na cidade de Porto Velho, 2010. [in press]
- ARTAXO, P.; GATTI, L. V.; LEAL, A. M. C.; et al. Química atmosférica na Amazônia: a floresta e as emissões de queimadas controlando a composição da atmosfera amazônica. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 2, p.185-196, 2005.
- AUTRUP, H. Genetic polymorphisms in human xenobiotic metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. **Mutation Research**, v. 464, p. 65–76, 2000.
- AVILA JÚNIOR, S. et al. Occupational airborne contamination in south Brazil: 1. Oxidative stress detected in the blood of coal miners. **Ecotoxicology**, v. 18, p. 1150–7, 2009.
- AYCICEK, A. et al. Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. **Pediatric Neurology**, v. 35, n. 6, p. 382-6, 2006.
- AYI-FANOU, L. et al. DNA-adducts in subjects exposed to urban air pollution by benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Cotonou, Benin. **Environmental Toxicology**, v. 26, p. 93–102, 2011.
- AYLWARD, L. L. et al. Sources of variability in biomarker concentrations. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, Critical Review**, 17: 45-61, 2014.
- AYRES, J. G. et al. Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential--a workshop report and consensus statement. **Inhalation Toxicology**, v. 20, n. 1, p.75-99, 2008.
- BAE, S. et al. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. **Environmental Health Perspectives**, v.118, p.579–83, 2010.
- BAGRYANTSEVA, Y. et al. Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms. **Toxicology Letters**, v.199, p.60–8, 2010.

- BALAKRISHNA, S. et al. Environmentally persistent free radicals amplify ultrafine particle mediated cellular oxidative stress and cytotoxicity. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 6, n. 1, p. 11, 2009.
- BALSARA, B. R. et al. Frequent activation of AKT in non-small cell lung carcinomas and preneoplastic bronchial lesions. **Carcinogenesis**, v. 25, p. 2053–9, 2004.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARNHAM, K. J.; MASTERS, C. L.; Bush, A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 3, p. 205-14, 2004.
- BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. **Diabetes**, v. 40, n. 4, p. 405-12, 1991.
- BAZENET, C.; LOVESTONE, S. Plasma biomarkers for Alzheimer's disease: much needed but tough to find. **Biomarkers in Medicine**, v. 6, p. 441–54, 2012.
- BEAVER, L. M. et al. Lung injury, inflammation and Akt signaling following inhalation of particulate hexavalent chromium. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 235, p. 47–56, 2009.
- BEHNDIG, A. F. et al. Proinflammatory doses of diesel exhaust in healthy subjects fail to elicit equivalent or augmented airway inflammation in subjects with asthma. **Thorax**, v. 66, p. 12–9, 2011.
- BIND, M-A. et al. Air pollution and markers of coagulation, inflammation, and endothelial function: associations and epigene-environment interactions in an elderly cohort. **Epidemiology**, v. 23, p. 332–40, 2012.
- BIRCH-MACHIN, M. A.; RUSSELL, E. V.; LATIMER, J. A. Mitochondrial DNA damage as a biomarker for ultraviolet radiation exposure and oxidative stress. **British Journal of Dermatology**, v. 169, Suppl. 2, p. 9-14, 2013.

- BLAU, S. et al. Differences in the reducing power along the rat GI tract: Lower antioxidant capacity of the colon. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 194, p. 185 – 191, 1999.
- BLAU, S. et al. Relation between colonic inflammation severity and total low-molecular-weight antioxidant profile in experimental colitis. **Digestive Disease and Science**, v. 45, p. 1180 – 1187, 2000a.
- BLAU, S. et al. The effect of local attachment of cationized enzymes on experimental colitis in the rat. **Pharmaceutical Research**, v. 17, p. 1077 – 1084, 2000b.
- BROOK, R. D. et al. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease. An update to the scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 121, p. 2331-2378, 2010.
- BROTMAN, B.; PRINCE, A. M. Gamma-glutamyltransferase as a potential surrogate marker for detection of the non-A, non-B carrier state. **Vox Sanguinis**, v. 54, p. 144–7, 1988.
- BROWN, D. M. et al. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 57, p. 685-691, 2000.
- BROWN, N. S.; BICKNELL, R. 2001. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress: Its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 3, p. 323 – 327, 2001.
- BULOG, A. et al. Determination of enzyme matrix metalloproteinases-9 and immune status as indicators of development of the environmental diseases. **Collegium Antropologicum**, v. 35, Suppl. 2, p. 153–6, 2011.
- BURIM, R. V. et al. Polymorphisms in glutathione S-transferases GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and cytochromes P450 CYP2E1 and CYP1A1 and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics. **Mutagenesis**, v. 19, n.4, pp. 291-8, 2004.

- BURNETT, R. et al. An Integrated Risk Function for Estimating the Global Burden of Disease Attributable to Ambient Fine Particulate Matter Exposure **Environmental Health Perspectives**, v. 122, n. 4, p. 397–403, 2014.
- CADENAS, E.; DAVIES, K. J. A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 3-4, p. 222-230, 2000.
- CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L. et al. Air pollution is associated with brainstem auditory nuclei pathology and delayed brainstem auditory evoked potentials. **International Journal Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience**, v. 29, p. 365–75, 2011.
- CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L. et al. Early Alzheimer's and Parkinson's disease pathology in urban children: Friend versus Foe responses--it is time to face the evidence. **BioMed Research International**, article ID 161687, 2013.
- CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L. et al. Immunotoxicity and environment: immunodysregulation and systemic inflammation in children. **Toxicologic Pathology**, v. 37, p. 161–9, 2009.
- CALDERÓN-GUARCIDEÑAS, L. et al. Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution. **Toxicologic Pathology**, v. 32, p. 650-658, 2004.
- CAMPO, L. et al. Urinary methyl tert-butyl ether and benzene as biomarkers of exposure to urban traffic. **Environment International**, v. 37, p. 404–11, 2011.
- CARDOZO, F. S. et al. Avaliação das áreas queimaas no Estado de Rondônia-Amazônia Brasileira. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 66, n. 3, p. 705-716, 2014.
- CARLSTEN, C. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphisms and lung cancer: a literature-based systematic HuGE review and meta-analysis. **American Journal of Epidemiology**, v. 167, n. 7, p. 759–774, 2008.

- CARMO, C. N. et al. [Association between particulate matter from biomass burning and respiratory diseases in the southern region of the Brazilian Amazon]. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 27, p.10-16, 2010.
- CARRATELLI, M. et al. Reactive oxygen metabolites and prooxidant status in children with Down's syndrome. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v. 21, n. 2, p. 79-84, 2001.
- CHANNON, K. M.; GUZIK, T. J. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 53, n. 4 Pt 1, p. 515-24, 2002.
- CHEN, C. J.; LIAO, S. L. Zinc toxicity on neonatal cortical neurons: involvement of glutathione chelation. **Journal of Neurochemistry**, v. 85, p. 443–53, 2003.
- CHEN, H.; GOLDBERG, M. S.;VILLENEUVE, P. J. A systematic review of the relation between long-term exposure to ambient air pollution and chronic diseases. **Reviews on Environmental Health**, v. 23, n. 4, p. 243-97, 2008.
- CHEN, X.; GUO, C.; KONG, J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Neural Regeneration Research**, v. 7, n 5, p. 376–385, 2012.
- CHUANG, K-J. et al. Long-term air pollution exposure and risk factors for cardiovascular diseases among the elderly in Taiwan. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 68, p. 64–8, 2011.
- CHUN, K-H. et al. Effects of deguelin on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and apoptosis in premalignant human bronchial epithelial cells. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 95, p. 291–302, 2003 .
- COCHRANE, M. A. Fire science for rainforest. **Nature**, v. 421, p, 913-919, 2003.

- COCHRANE, M. A.; SCHULZE, M. D. Fire as a recurrent event in tropical forests of the eastern Amazon: Effects on forest structure, biomass, and species composition. **Biotropica**, v, 31, n. 1, p. 2-16, 1999.
- CRUZAT, V. F. et al. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 5, p. 336-342, 2007.
- CUNNINGHAM, M. T. et al. External quality assurance of fibrinogen assays using normal plasma: results of the 2008 College of American Pathologists proficiency testing program in coagulation. **Archives Pathology & Laboratory Medicine**, v. 136, p. 789–95, 2012.
- DAVIDSON, E. A. et al. The Amazon basin in transition. **Nature**. v. 481, p. 321-328, 2012.
- DE HARTOG, J.J. et al. Associations between PM2.5 and heart rate variability are modified by particle composition and beta-blocker use in patients with coronary heart disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 105–11, 2009.
- DELFINO, R. J. et al. Air pollution exposures and circulating biomarkers of effect in a susceptible population: clues to potential causal component mixtures and mechanisms. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 1232–8, 2009.
- DELFINO, R. J. et al. Association of biomarkers of systemic inflammation with organic components and source tracers in quasi-ultrafine particles. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, p. 756–62, 2010a.
- DELFINO, R. J. et al. Associations of primary and secondary organic aerosols with airway and systemic inflammation in an elderly panel cohort. **Epidemiology**, v. 21, p. 892–902, 2010b.
- DELFINO, R. J. et al. Traffic-related air pollution and blood pressure in elderly subjects with coronary artery disease. **Epidemiology**. 21: 396–40, 2010c.

- DELLINGER, B. et al. Role of free radicals in the toxicity of airborne fine particulate matter. **Chemical Research Toxicology**, v. 14, n. 10, p.1371–7, 2001.
- DONALDSON, K. et al. Free radical activity of PM10: iron-mediated generation of hydroxyl radicals. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, Suppl. 5, p. 1285-1289, 1997.
- DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v. 82, p. 47 – 95, 2002.
- DUTTA, A. et al. Hypertension with elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and anticardiolipin antibody in the circulation of premenopausal Indian women chronically exposed to biomass smoke during cooking. **Indoor Air**, v. 21, p. 165–76, 2011.
- DVONCH, J.T. et al. Acute effects of ambient particulate matter on blood pressure: differential effects across urban communities. **Hypertension**, v. 53, n. 5, p. 853–859, 2009.
- ELANGOVAN, V. et al. Increased hepatic lipid soluble antioxidant capacity as compared to other organs of streptozotocin-induced diabetic rat: A cyclic voltammetry study. **Free Radical Research**, v. 32, p. 125 – 134, 2000.
- ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, v. 82, p. 70-7, 1959.
- ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem*, v. 6, p. 529-39, 2001.
- ERDEN-INAL, M.; SUNAL, E.; KANBAK, G. Age-related changes in the glutathione redox system. **Cell Biochemistry and Function**, v. 20, n. 1, p. 61-6, 2002.
- EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **British Journal of Nutrition**, v. 85, Suppl 2, p. S67-74, 2001.

- FAHMY, B. et al. In vitro and in vivo assessment of pulmonary risk associated with exposure to combustion generated fine particles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 29, n. 2, p.173–182, 2010.
- FAHMY, B.; CORMIER, S. A. Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. ***Toxicology in Vitro***, v. 23, n. 7, p.1365–1371, 2009.
- FAN, R. et al . Preliminary study of children’s exposure to PAHs and its association with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Guangzhou, China. ***Environment International***, v. 42, p. 53–8, 2012.
- FARHAT, S. C. L. et al. Effect of air pollution on pediatric respiratory emergency room visits and hospital admissions. ***Brazilian Journal of Medical and Biological Research***, v. 38, n. 2, p. 227-35, 2005.
- FARINA, M. et al. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. ***Neurochemistry International***, v. 62, p. 575-594, 2013.
- FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia brasileira: história, índices e consequências. ***Megadiversidade***, v.1, p. 113-23, 2005.
- FEARNSIDE, P.M. Dams in the Amazon: Belo Monte and Brazil’s hydroelectric development of the Xingu River Basin. ***Environmental Management***, v. 38, n. 1, pp. 16-27, 2006.
- FEARON, I. M.; FAUX, S. P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. ***Journal of Molecular and Cellular Cardiology***, v. 47, n. 3, p. 372-81, 2009.
- FENILI, G. Z.; LOCH, C. Impactos socioambientais ambientais Causados pela Implantação da Usina Hidrelétrica Ita [acessado em 2010]. Disponível em: http://geodesia.ufsc.br/Geodesia-online/arquivo/cobrac_2002/092/092.

- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.1, pp. 61-68, 1997.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239 – 247, 2000.
- FIRKET, J. Fog along the Meuse Valley. **Transactions of the Faraday Society**, v. 32, p. 1192–1197, 1936.
- FITZPATRICK, A. M. et al. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 123, n. 1, p.146-152, 2009.
- FLAMANT-HULIN, M. et al. Air pollution and increased levels of fractional exhaled nitric oxide in children with no history of airway damage. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part. A**, v. 73, p. 272–83, 2010.
- FLEISCHER, N. L. et al. Outdoor air pollution, preterm birth, and low birth weight: analysis of the world health organization global survey on maternal and perinatal health. **Environmental Health Perspectives**, v.122, p. 425 – 30, 2014.
- FLOYD, R. A. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 222, p. 236 – 245, 1999.
- FOLINO, A.F. et al. Individual exposure to particulate matter and the short-term arrhythmic and autonomic profiles in patients with myocardial infarction. **European Heart Journal**, v. 30, p. 1614–20, 2009.
- FORBES, L. J. L. et al. Chronic exposure to outdoor air pollution and markers of systemic inflammation. **Epidemiology**, v. 20, p. 245–53, 2009.

- FREIRE, C. et al. Urinary 1-hydroxypyrene and PAH exposure in 4-year-old Spanish children. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 1562–9, 2009.
- FREITAS, S. R. et al. A convective kinematic trajectory technique for low resolution atmospheric models. **Journal of Geophysical Research**, v. 105, n. D19, p. 24.375-24.386, 2000.
- FREITAS, S. R. et al. Monitoring the transport of biomass burning emissions in South America. **Environmental Fluid Mechanics**, v. 5, n. 1, p. 135-167, 2005.
- FUERTE, E. et al. Associations between particulate matter elements and early-life pneumonia in seven birth cohorts: results from the ESCAPE and TRANSPHORM projects. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, n. 8, p. 819-29, 2014.
- FUJIHARA, J. et al. Cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferases M1 and T1 polymorphisms in Ovambos and Mongolians. **Legal Medicine (Tokyo)**, v. 11, suppl. 1, p. S408-10, 2009.
- FUSTINONI, S. et al. Urinary BTEX, MTBE and naphthalene as biomarkers to gain environmental exposure profiles of the general population. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 2840–9, 2010.
- GAINES, L. G. T. et al. Urine 1,6-hexamethylene diamine (HDA) levels among workers exposed to 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI). **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 54, p. 678–91, 2010.
- GATTAS, G. J. et al. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.4, pp.451-8, 2004.

- GHIO, A. J. et al. Metals associated with both the water-soluble and insoluble fractions of ambient air pollution particles catalyze an oxidative stress. **Inhalation Toxicology**, v. 11, p. 37–49, 1999.
- GHIO, A. J.; CARRAWAY, M. S.; MADDEN, M. C. Composition of air pollution particles and oxidative stress in cells, tissues and living systems. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 15, p.1-21, 2012.
- GILLILAND, F. D. et al. Effect of glutathione S-transferase M1 and P1 genotypes on xenobiotic enhancement of allergic responses: randomised, placebo-controlled crossover study. **Lancet**, v. 363, p. 119-125, 2004.
- GILLILAND, F. D. et al. Effects of Glutathione-S-Transferase M1, T1, and P1 on Childhood Lung Function Growth. **American Journal of respiratory and Critical Care Medicine**, v. 166, n. 5, pp. 710-716, 2002.
- GOMES, E. C.; FLORIDA-JAMES, G. Lung Inflammation, Oxidative Stress and Air Pollution, Lung Inflammation, Dr. Kian Chung Ong (Ed.), ISBN: 978-953-51-1373-7, InTech, 2014. Available from: <http://www.intechopen.com/books/lung-inflammation/lung-inflammation-oxidative-stress-and-air-pollution>
- GOUVEIA, N. et al. Respiratory and cardiovascular hospitalizations associated with air pollution in the city of São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, p. 2669-77, 2006.
- GOUVEIA, N.; BREMMER, S. A.; NOVAES, H. M. D. Association between ambient air pollution and birth weight in São Paulo, Brazil. **Journal of Epidemiology & Community Health**, v. 58, p.11-17, 2004.
- GROB, N. M.; AYTEKIN, M.; DWEIK, R. A. Biomarkers in exhaled breath condensate: a review of collection, processing and analysis. **Journal of Breath Research**, v. 2, n. 3, p. 037004, 2008.

- GROTTO, D. et al. Mercury exposure and oxidative stress in communities of Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 806-811, 2010.
- GROW, A. J.; ISCHIROPOULOS, H. Nitric oxide chemistry and cellular signaling. **Journal of Cellular Physiology**, v. 187, p. 277-282, 2001.
- GUECHEVA, T. N.; HENRIQUES, J. A. P. Metabolismo de xenobióticos: citocromo P450. **Genética Toxicológica**, p. 225-247, 2003.
- GUILD, L. S. et al. Modeling biomass burning emissions for Amazon forest and pastures in Rondônia, Brazil. **Ecological Applications**, v. 14, p. S232–S246, 2004.
- GURGUEIRA, S. A. et al. Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 8, p. 749-55, 2002.
- HA, K. N. et al. Increased glutathione synthesis through an ARE-Nrf2-dependent pathway by zinc in the RPE: implication for protection against oxidative stress. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 47, n. 6, p. 2709-15, 2006.
- HABDOUS, M. et al. Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. **Clinica Chimica Acta**, v. 326, p. 131–142, 2002.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JACOBY, W. B. Glutathione S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.
- HACON, S.; ARTAXO, P.; GERAB, F. et al. Atmospheric mercury and trace elements in the region of Alta Floresta in the Amazon Basin. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 80, n. 1 - 4, p. 273-283, 1995.
- HALD, A., LOTHARIUS J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? **Experimental Neurology**, v. 193, n. 2, p. 279-90, 2005.

- HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49, p. 1341 – 1348, 1995.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radical Research**, v. 25, n. 1, p. 57-74, 1996.
- HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **Lancet**, v. 355, p. 1179 – 1180, 2000.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in humans disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v. 186, n. 1, p. 1-85, 1990.
- HAN, Y.-Y.; DONOVAN, M.; SUNG, F.-C. Increased urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion in long-distance bus drivers in Taiwan. **Chemosphere**, v. 79, p. 942–8, 2010.
- HARMAN, D. Free radical theory of ageing: applications. **The Asia Pacific Heart Journal**, v. 7, n. 3, p. 169-177, 1998.
- HATAGIMA, A. et al. Glutathione S-transferase M1(GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, pp. 709-713, 2000.
- HEMAT, H. et al. High levels of 1-hydroxypyrene and hydroxyphenanthrenes in urine of children and adults from Afghanistan. **Journal of Exposure Science and Environmental**, v. 22, p. 46–51, 2012.
- HÉROUX, M. et al. Quantifying the health impacts of ambient air pollutants: recommendations of a WHO/Europe project. **International Journal of Public Health**, v. 60, n. 5, p. 619–627, 2015.
- HERTEL, S. et al. Influence of short-term exposure to ultrafine and fine particles on systemic inflammation. **European Journal of Epidemiology**, v. 25, p. 581–92, 2010.
- HILDEBRANDT, K. et al. Short-term effects of air pollution: a panel study of blood markers in patients with chronic pulmonary disease. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 6, p. 25, 2009.

- HINTELMANN, H. Organomercurials: Their formation and pathways in the environment. **Metal Ions in Life Science**, v. 7, p. 365–401, 2010.
- Hoet, P. et al. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. **International Archives of Occupational and Environmental**, v. 82, p. 985–95, 2009.
- Hoffmann, B. et al. Chronic residential exposure to particulate matter air pollution and systemic inflammatory markers. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 1302–8, 2009.
- HOMMA, A. K. et al. A Dinâmica dos Desmatamentos e das Queimadas na Amazônia: Uma Análise Microeconômica. **Anais do XXXI Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural**, 1, p: 663-676, 1993.
- HONG, Y-C. et al. Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. **Toxicology Letters**, v. 184, p. 139–44, 2009.
- HOXHA, M. et al. Association between leukocyte telomere shortening and exposure to traffic pollution: a cross-sectional study on traffic officers and indoor office workers. **Environmental Health**, v. 8: 41, 2009.
- HU, M. L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 380-5, 1994.
- HUANG, H-B. et al. Traffic-related air pollution and DNA damage: a longitudinal study in Taiwanese traffic conductors. **PLoS One**, v. 7, p. e37412, 2012a.
- HUANG, W. et al. Inflammatory and oxidative stress responses of healthy young adults to changes in air quality during the Beijing Olympics. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 186, p.1150–9, 2012b.

- HUANG, Y. C. et al. Comparison of gene expression profiles induced by coarse, fine, and ultrafine particulate matter. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 74, p. 296-312, 2011.
- HUTTUNEN, K. et al. Low-level exposure to ambient particulate matter is associated with systemic inflammation in ischemic heart disease patients. **Environmental Research**, v. 116, p. 44–51, 2012.
- IGNOTTI, E. et al. Air pollution and hospital admissions for respiratory diseases in the subequatorial Amazon: a time series approach. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, p.747-61, 2010a.
- IGNOTTI, E. et al. Impact on human health of particulate matter emitted from burning in the Brazilian Amazon region. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, p.121–130, 2010b.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Dados demográficos das cidades brasileiras. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2010 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). Centro de Previsão e Tempo e Estudos Climáticos[Acessado no dia 20 de maio de 2013]. Disponível em: <http://tempo.cptec.inpe.br/>
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). Monitoramento de queimadas e incêndios por satélite em tempo quase-real. 2014 [Acessado no dia 18 de junho de 2014]. Disponível em: <http://www.inpe.br/queimadas/sitAtual.php>
- JACOBS, L. et al. Air pollution related prothrombotic changes in persons with diabetes. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, p. 191–6, 2010a.
- JACOBS, L. et al. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environmental Health*, v. 9, p. 64, 2010b.
- JACOBS, L. et al. Traffic air pollution and oxidized LDL. **PLoS One**, v. 6, p. e16200, 2011.

- JACOBSON, L. S. et al. Acute effects of particulate matter and black carbon from seasonal fires on peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian Amazon. **Plos One**, v. 14, n. 8, p. e104177, 2014.
- JACOBSON, L. S. et al. Association between fine particulate matter and the peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian subequatorial Amazon: a panel study. **Environmental Research**, v. 117, p. 27-35, 2012.
- JACQUEMIN, B. et al. Common genetic polymorphisms and haplotypes of fibrinogen alpha, beta, and gamma chains affect fibrinogen levels and the response to proinflammatory stimulation in myocardial infarction survivors: the AIRGENE study. **American College of Cardiology Foundation**, v. 52, p. 941–52, 2008.
- JACQUEMIN, B. et al. Source category-specific PM_{2.5} and urinary levels of Clara cell protein CC16. The ULTRA study. **Inhalation Toxicology**, v. 21, p. 1068–76, 2009.
- JIMÉNEZ-GARZA, O. et al. CYP2E1 phenotype in Mexican workers occupationally exposed to low levels of toluene. **Toxicology Letters**, v. 210, p. 254–63, 2012.
- JONGENELEN, F. J. et al. Ambient and biological monitoring of coke oven workers: determinants of the internal dose of polycyclic aromatic hydrocarbons. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 47, p. 454–461, 1990.
- KADIISKA, M. B. et al. Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 38, n. 6, p. 698-710, 2005.
- KADIISKA, M. B. et al. Biomarkers of oxidative stress study: are plasma. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 6, p.838-45, 2000.
- KALAPPANAVAR, N. K. et al. Carbon particles in airway macrophage as a surrogate marker in the early detection of lung diseases. **International Journal of Occupational and Environmental**, v. 3, p. 68–75, 2012.

- KELISHADI, R. et al. Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children. **Atherosclerosis**, v. 203, p. 311–9, 2009.
- KELLEN, E. et al. Pooled analysis and meta-analysis of the glutathioneS-transferase P1 Ile 105Val polymorphism and bladder cancer: a HuGE-GSEC review. **American Journal of Epidemiology**, v. 165, n. 11, p. 1221–1230, 2007.
- KELLY, F. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 60, n. 8, p. 612–616, 2003.
- KIM, K. et al. Differential oxidative stress response in young children and the elderly following exposure to PM(2.5). **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 14, p. 60–6, 2009.
- KIRKHAM, P. A.; BARNES, P. J. Oxidative stress in COPD. **Chest**, v. 144, n. 1, p. 266-73, 2013.
- KNAAPEN, A. M. et al. Soluble metals as well as insoluble particle fraction are involved in cellular DNA damage induced by particulate matter. **Molecular and Cell Biochemistry**, v. 234/235, p. 317–326, 2002.
- KOHEN, R. et al. Noninvasive in vivo evaluation of skin antioxidant activity and oxidation status. **Methods in Enzymology**, 300: 428 – 437, 1999.
- KOHEN, R.; GATI, I. Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. **Toxicology**, v. 148, p. 149 – 157, 2000.
- KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. **Toxicologic Pathology**, v. 30, n. 6, p. 620-650, 2002.
- KUMAGAI, Y. et al. Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH-cytochrome P450 reductase and involvement

- of the bioactivation in the DNA damage. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, p. 479–487, 1997.
- LAI, C-H. et al. Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with Traffic Exhaust: The Increase of Lipid Peroxidation and Reduction of Antioxidant Capacity. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 12, p. 941–950, 2012.
- LANGRISH, J. P. et al. Beneficial cardiovascular effects of reducing exposure to particulate air pollution with a simple facemask. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 6: 8, 2009.
- LAUWERYS, R. R. Industrial Chemical Exposure — Guidelines for Biological Monitoring. 2^a ed. London: Lewis Publishers; 1993.
- LEAN, J. et al. The simulated impact of Amazonian deforestation on climate using measured ABRACOS vegetation characteristics. In: J.H.C. Gash, C.A. Nobre, J.M. Roberts & R.L. Victoria (eds.) Amazonian Deforestation and Climate. Wiley, Chichester, Reino Unido, p. 611, 1996.
- LEE, I-T. et al. TNF-alpha induces matrix metalloproteinase-9 expression in A549 cells: role of TNFR1/TRAF2/PKCalpha-dependent signaling pathways. **Journal of Cellular Physiology**, v. 224, p. 454–64, 2010a.
- LEE, M-W. et al. Exposure assessment of PM2.5 and urinary 8-OHdG for diesel exhaust emission inspector. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 505–10, 2010b.
- LEE, P-C. et al. Particulate air pollution exposure and C-reactive protein during early pregnancy. **Epidemiology**, v. 22, p. 524–31, 2011.
- LEE, R. et al. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 16, p. 2504-20, 2012.

- LEÓN-MEJÍA, G. et al. Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 686–91, 2011.
- LEROYER, A. et al. 1-Hydroxypyrene and 3-hydroxybenzo[a]pyrene as biomarkers of exposure to PAH in various environmental exposure situations. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 1166–73, 2010.
- LESUR, O. et al. Mechanical ventilation-induced pneumoprotein CC-16 vascular transfer in rats: effect of KGF pretreatment. **American Journal of Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 284, p. L410–9, 2003.
- LEWIS, R. A.; AUSTEN, K. F.; SOBERMAN, R. J. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway: biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 645–55, 1990.
- LI, N. et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 4, pp. 455-460, 2003.
- LI, Z. et al. Assessment of non-occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons through personal air sampling and urinary biomonitoring. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, p. 1110, 2010.
- LIN, W. et al. Acute respiratory inflammation in children and black carbon in ambient air before and during the 2008 Beijing Olympics. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, p. 1507–12, 2011.
- LIN, W. et al. Association between changes in exposure to air pollution and biomarkers of oxidative stress in children before and during the Beijing Olympics. **American Journal of Epidemiology**, v. 181, n. 8, p. 575-83, 2015.
- LIPPMANN, M.; SCHLESINGER, R. B. Toxicological bases for the setting of health-related air pollution standards. **Annual Review of Public Health**, v. 21, p. 309-33, 2000.

- LIU, H-H. et al. Oxidative damage in foundry workers occupationally co-exposed to PAHs and metals. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213, p. 93–8, 2010.
- LIU, L. et al. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 668–74, 2009a.
- LIU, L. et al. Effects of indoor, outdoor, and personal exposure to particulate air pollution on cardiovascular physiology and systemic mediators in seniors. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 51, p. 1088–98, 2009b.
- LIU, Y. J. et al. GSTP1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 15, n. 4, p. 659-66, 2006.
- LJUNGMAN, P. et al. Modification of the interleukin-6 response to air pollution by interleukin-6 and fibrinogen polymorphisms. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 1373–9, 2009.
- LOVREGLIO, P. et al. Biomarkers of internal dose for the assessment of environmental exposure to benzene. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, p. 2921–8, 2011.
- LOVREGLIO, P. et al. Validity of new biomarkers of internal dose for use in the biological monitoring of occupational and environmental exposure to low concentrations of benzene and toluene. **International Archives of Occupational and Environmental**, v. 83: 341–56, 2010.
- LUTTMANN-GIBSON, H. et al. Systemic inflammation, heart rate variability and air pollution in a cohort of senior adults. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 67, p. 625–30, 2010.

- MADRIGANO, J. et al. Air pollution, obesity, genes and cellular adhesion molecules. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 67, p. 312–7, 2010.
- MAENHAUT, W. et al. Two-year study of atmospheric aerosols in Alta Floresta, Brazil: Multielemental composition and source apportionment. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 189, n. 1-4, p. 243-248, 2002.
- MARCZYNSKI, B. et al. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage by industry: a nationwide study in Germany. **Archives of Toxicology**, v. 83, p. 947–57, 2009.
- MARIE, C. et al. Urinary Levels of Oxidative DNA and RNA Damage Among Workers Exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Silicon Production: Comparison with 1-hydroxypyrene. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 50, p. 88–95, 2009.
- MARQUES, O.; OUTEIRO, T. F. Alpha-synuclein: from secretion to dysfunction and death. **Cell Death & Disease**, v. 3, p. e350, 2012.
- MARQUES, R. C. et al. Hydroelectric reservoir inundation (Rio Madeira Basin, Amazon) and changes in traditional lifestyle: impact on growth and neurodevelopment of pre-school children. **Public Health Nutrition**, v. 14, n. 04, p. 661-669, 2011.
- MARTEUS, H. et al. Origin of nitrite and nitrate in nasal and exhaled breath condensate and relation to nitric oxide formation. **Thorax**, v. 60, p. 219–25, 2005.
- MARTÍNEZ-SALINAS, R.I. et al. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. **International Archives of Occupational and Environmental**, v. 83, p. 617–23, 2010.
- MASCARENHAS, M. D. M. et al. Poluição atmosférica devida à queima de biomassa florestal e atendimentos de emergência por doença respiratória em Rio Branco, Brasil- Setembro, 2005. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, p. 42-6, 2008.

- MASIELLO, C. A. New directions in black carbon organic geochemistry. **Marine Chemistry**, v. 92, p. 201-213, 2004.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, p. 412-9, 1985.
- MAZZOLI-ROCHA, F. et al. Roles of oxidative stress in signaling and inflammation induced by particulate matter. **Cell Biology and Toxicology**, v. 26, n. 5, p.481–498, 2010.
- McCRACKEN, J. et al. Annual ambient black carbon associated with shorter telomeres in elderly men: Veterans Affairs Normative Aging Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 118: 1564–70, 2010.
- MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, p. 711-60, 1983.
- MERCURI, F.; QUAGLIARO, L.; CERIELLO, A. Oxidative stress evaluation in diabetes. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 2, p. 589 – 600, 2000.
- MIGLIACCIO, C. T. et al. Urinary levoglucosan as a biomarker of wood smoke exposure: observations in a mouse model and in children. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. 74–9, 2009.
- MILLER, M. R.; SHAW, C. A.; LANGRISH, J. P. From particles to patients: oxidative stress and the cardiovascular effects of air pollution. **Future Cardiology**, v. 8, n. 4, p. 577-602, 2012.
- MINELLI, C. et al. Interactive effects of antioxidant genes and air pollution on respiratory function and airway disease: a HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, n. 6, p. 603-20, 2011.
- MOHOROVIC, L. et al. Pregnancy loss and maternal methemoglobin levels: an indirect explanation of the association of environmental toxics and their adverse effects on the

- mother and the fetus. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, p. 4203–12, 2010.
- MOLLER, P. et al. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. **Free Radical Research**, v. 44, n. 1, p.1–46, 2010.
- MONDAL, N. K. et al. Indoor air pollution from biomass burning activates Akt in airway cells and peripheral blood lymphocytes: a study among premenopausal women in rural India. **Toxicologic Pathology**, v. 38, p. 1085–98, 2010b.
- MONDAL, N. K. et al. Micronucleus formation, DNA damage and repair in premenopausal women chronically exposed to high level of indoor air pollution from biomass fuel use in rural India. **Mutation Research**, v. 697, p. 47–54, 2010a.
- MONDAL, N. K.; BHATTACHARYA, P.; RAY, M. R. Assessment of DNA damage by comet assay and fast halo assay in buccal epithelial cells of Indian women chronically exposed to biomass smoke. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, p. 311–8, 2011.
- MORDUKHOVICH, I. et al. Black carbon exposure, oxidative stress genes, and blood pressure in a repeated-measures study. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 11, p. 1767–72, 2009.
- MOULTON, P. V.; YANG. Air pollution, Oxidative Stress, and Alzheimer’s Disease. *J Environ Public Health.*, v. 2012, p. 9, 2012.
- NEL, A. E. et al. Enhancement of allergic inflammation by the interaction between diesel exhaust particles and the immune system. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 102, n. 4 Pt 1, p. 539–554, 1998.
- NEL, A. E.; DIAZ-SANCHEZ, D.; LI, N. The role of particulate pollutants in pulmonary inflammation and asthma: evidence for the involvement of organic chemicals and oxidative stress. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 7, n. 1, p. 20–26, 2001.

- NEPSTAD, D. C. et al. Road paving, fire regime feedbacks, and the future of Amazon forests. **Forest Ecology and Management**, v.154, p. 395 – 407, 2001.
- NEPSTAD, D. et al. Large-scale impoverishment of Amazonian forests by logging and fire. **Nature**, v. 398, p. 505–508, 1999.
- NETHERY, E. et al. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to PAHs in air: a pilot study among pregnant women. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 22, p. 70–81, 2012.
- NOVAES, P. et al. The effects of chronic exposure to traffic derived air pollution on the ocular surface. **Environmental Research**, v. 110, p. 372–4, 2010.
- NTAIS, C.; POLYCARPOU, A.; IOANNIDIS J. P. Association of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 14, n. 1, p. 176–181, 2005.
- O'TOOLE, T. E. et al. Episodic exposure to fine particulate air pollution decreases circulating levels of endothelial progenitor cells. **Circulation Research**, v. 107: 200–3, 2010.
- OBOLENSKAYA, M. Y. et al. Human placental glutathione S-transferase activity and polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts as biomarkers for environmental oxidative stress in placentas from pregnant women living in radioactivity- and chemically-polluted regions. **Toxicology Letters**, v. 196, p. 80–6, 2010.
- OCHOA, M. L. P.; TEIXEIRA, G. A (orgs.) Aprendendo com a natureza e conservando nossos conhecimentos culturais. Rio Branco - Acre: Comissão Pró-Índio do Acre, 2006.
- OLIVEIRA ALVES, N. et al. Genetic damage of organic matter in the Brazilian Amazon: a comparative study between intense and moderate biomass burning. **Environmental Research**, v. 130, p. 51-58, 2014.

- OLIVEIRA ALVES, N. et al. Genotoxicity and composition of particulate matter from biomass burning in the eastern Brazilian Amazon region. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1427-33, 2011.
- OLIVEIRA B. F. et al. Risk assessment of PM(2.5) to child residents in Brazilian Amazon region with biofuel production. **Environment Health.**, v. 11, p. 64, 2012.
- OLIVEIRA, B. F. A. et al. A curated review of recent literature of biomarkers used for assessing air pollution exposures and effects in humans. **Journal Toxicology and Environmental Health, Part B, Critical Reviews**, v. 17, n.7-8, p. 369-410, 2014.
- OLIVEIRA, B. F. A.; IGNOTTI, E.; HACON, S. A systematic review of the physical and chemical characteristics of pollutants from biomass burning and combustion of fossil fuels and health effects in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, p. 1678–1698, 2011.
- OLUWOLE, O. et al. Relationship between Household Air Pollution from Biomass Smoke Exposure, and Pulmonary Dysfunction, Oxidant-Antioxidant Imbalance and Systemic Inflammation in Rural Women and Children in Nigeria. **Global Journal of Health Science**, v. 5, n. 4, p. 28-38, 2013.
- ONO, H.; SAKAMOTO, A.; SAKURA, N. Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects. **Clinica Chimica Acta**, v. 312, n. 1-2, p. 227-9, 2001.
- PALMER, C. D. et al. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma–mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 61, n. 8, p. 980–990, 2006.
- PANASEVICH, S. et al. Associations of long- and short-term air pollution exposure with markers of inflammation and coagulation in a population sample. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 66: 747–53, 2009.

- PARACELSUS. Von der Bergsucht und anderen Bergkrankheiten, 1567.
- PATEL, M. M. et al. Traffic-related air pollutants and exhaled markers of airway inflammation. **Environmental Research.**, v. 121, p. 71-8, 2013.
- PATKI, G. et al. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. **Brain Research**, v. 1539, p. 73–86, 2013.
- PAULIQUEVIS, T. et al. Aerosol and precipitation chemistry in a remote site in Central Amazonia: the role of biogenic contribution. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 7, p. 11465-11509, 2007.
- PEDERSEN, M. et al. Ambient air pollution and low birthweight: a European cohort study (ESCAPE). **Lancet Respiratory Medicine**, v. 1, p. 695 – 704, 2013.
- PEDERSEN, M. et al. Increased micronuclei and bulky DNA adducts in cord blood after maternal exposures to traffic-related air pollution. **Environmental Research**, v. 109, p. 1012–20, 2009.
- PEEK, M. K. et al. Environmental hazards and stress: evidence from the Texas City Stress and Health Study. **Journal of Epidemiology & Community Health**, v. 63, p. 792–8, 2009.
- PELUSO, M. et al. Malondialdehyde-deoxyguanosine adducts among workers of a Thai industrial estate and nearby residents. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, p. 55–9, 2010.
- PETCHPOUNG, K. et al. The influence of metabolic gene polymorphisms on urinary 1-hydroxypyrene concentration in Thai bus drivers. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 31, p. 160–4, 2011.

- PIACENTINI, S. et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and air pollution as interactive risk factors for asthma in a multicentre Italian field study: A preliminary study. **Annals of Human Biology**, v. 37, n. 3, p. 427-439, 2010.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-42, 2000.
- POLAŃSKA, K. et al. Predictors of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among pregnant women--prospective cohort study in Poland. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 24, p. 8-17, 2011.
- POLDERMAN, K. H. et al. Influence of sex hormones on plasma endothelin levels. **Annals of Internal Medicine**, v. 118, p. 429-32, 1993.
- POPE, C. A.; DOCKERY, D.W. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. **Journal of the Air & Waste Management Association (1995)**, v. 56, n. 6, p. 709-42, 2006.
- POSSAMAI, F. P. et al. Antioxidant intervention compensates oxidative stress in blood of subjects exposed to emissions from a coal electric-power plant in South Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 30, p.175-80, 2010.
- POSSAMAI, F. P. et al. Occupational airborne contamination in South Brazil: 2. Oxidative stress detected in the blood of workers of incineration of hospital residues. **Ecotoxicology**, v. 18, p. 1158-64, 2009.
- POURSAFA, P. et al. The relationship of air pollution and surrogate markers of endothelial dysfunction in a population-based sample of children. **BMC Public Health**, v. 11, p. 115, 2011.

- PRIEDITIS, H.; ADAMSON, I.Y. Comparative pulmonary toxicity of various soluble metals found in urban particulate dusts. **Experimental Lung Research**, v. 28, n. 7), p. 563–576, 2002.
- PRIKLE, J.L. et al. The Decline in Blood Lead Levels in the United States. The National Health and Nutritional Examination Survey. **JAMA**, v. 272, p. 284-291, 1994.
- PROTANO, C. et al. Benzene exposure in childhood: Role of living environments and assessment of available tools. **Environment International**, v. 36, p. 779–87, 2010.
- PRUNEDA-ÁLVAREZ, L. G. et al. Exposure to indoor air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons, toluene, benzene) in Mexican indigenous women. **Indoor Air**, 22, p. 140–7, 2012.
- RAULF-HEIMSOTH, M. et al. Assessment of low dose effects of acute sulphur dioxide exposure on the airways using non-invasive methods. **Archives Toxicology**, v. 84, p. 121–7, 2010.
- RAVA, M. et al. Plasma and exhaled breath condensate nitrite-nitrate level in relation to environmental exposures in adults in the EGEA study. **Nitric Oxide**, v. 27, p. 169–75, 2012.
- REN , C. et al. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage induced by ambient pollution in the Normative Aging Study. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 68, p. 562–9, 2011.
- REN, C. et al. Effect modification of air pollution on Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by genotypes: an application of the multiple testing procedure to identify significant SNP interactions. **Environmental Health**, v. 9, p. 78, 2010.
- REPORT of the Committee on Public Health Relations of the New York Academy of Medicine. Effect of Air Pollution on Health. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 7, p. 751–775, 1931.

- REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603-16, 2010.
- RICH, D. Q. et al. Association between changes in air pollution levels during the Beijing Olympics and biomarkers of inflammation and thrombosis in healthy young adults. **JAMA**, v. 307, p. 2068–78, 2012.
- RIOJAS-RODRIGUEZ, H. et al. Impact of the improved patsari biomass stove on urinary polycyclic aromatic hydrocarbon biomarkers and carbon monoxide exposures in rural Mexican women. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, p. 1301–7, 2011.
- RIOUX, C. L. et al. Traffic exposure in a population with high prevalence type 2 diabetes--do medications influence concentrations of C-reactive protein? **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2051–60, 2011.
- RODRIGUES, S. L.; VIEGAS, C. A. A. Estudo de correlação entre provas funcionais respiratórias e o teste de caminhada de seis minutos em pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, n. 6, p. 324-328, 2002.
- ROMIEU, I. et al. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. **European Respiratory Journal**, v. 31, n. 1, p. 179-97, 2008.
- ROSCOCHE, L. F., VALLERIUS, D. M. Os impactos da Usina Hidrelétrica de Belo Monte nos atrativos turísticos da região do Xingu (Amazônia – Pará – Brasil). **Revista Eletrônica de Administração e Turismo**, v. 5, n. 3, pp. 414-30, 2014.
- ROSSELLA, F. et al. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and monohydroxy metabolites as biomarkers of exposure in coke oven workers. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 66, n. 8, p. 509–16, 2009.
- ROSSNER, P.; ROSSNEROVA, A.; SRAM, R. J. Oxidative stress and chromosomal aberrations in an environmentally exposed population. **Mutation Research**, v. 707, p. 34–41, 2011.

- ROSSNEROVA, A. et al. The impact of air pollution on the levels of micronuclei measured by automated image analysis. **Mutation Research**, v. 669, p. 42–7, 2009.
- RUCHIRAWAT, M.; NAVASUMRIT, P.; SETTACHAN, D. Exposure to benzene in various susceptible populations: co-exposures to 1,3-butadiene and PAHs and implications for carcinogenic risk. **Chemico-Biological Interactions**, v. 184, p. 67–76, 2010.
- RUDEZ, G. et al. Effects of ambient air pollution on hemostasis and inflammation. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, p. : 995–1001, 2009.
- SACKS, J. D.; STANEK, L. W.; LUBEN, T. J.; et al. Particulate matter-induced health effects: Who is susceptible? **Environ Health Perspectives**, v. 119, p. 446-454, 2011.
- SALDIVA, P. H. N. et al. Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 165, p. 1610–1617, 2002.
- SALZANO, S. et al. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 33, p.12157-62, 2014.
- SANTOS, E. C. O. et al. Avaliação dos níveis de exposição ao mercúrio entre índios Pakaanóva, Amazônia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 199-206, 2003.
- SARNAT, J. A. et al. Fine particle sources and cardiorespiratory morbidity: an application of chemical mass balance and factor analytical source-apportionment methods. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 4, p. 459-66, 2008.
- SAUERWEIN, R. W. et al. Inflammatory mediators in children with protein-energy malnutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 5, p. 1534-9, 1997.
- SAVA, F.; CARLSTEN, C. Respiratory health effects of ambient air pollution: an update. **Clinics in Chest Medicine**, v. 33, p. 759–69, 2012.

- SCHAFFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environments of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology**, v. 30, p. 1191 – 1212, 2001.
- SCHAUMANN, P. J. et al. Metal-rich ambient particles (particulate matter 2.5) cause airway inflammation in healthy subjects. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 170, p. 898–903, 2004.
- SCHLESINGER, R. B. The health impact of common inorganic components of fine particulate matter (PM_{2.5}) in ambient air: a critical review. **Inhalation Toxicology**, v. 19, n. 10, p. 811-32, 2007.
- SCHNEIDER, J. et al. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. **Cancer Letter**, v. 208, n. 1, p. 65-74, 2004.
- SCHRENK, H. H. et al. Air Pollution in Donora, PA: Epidemiology of the Unusual Smog Episode of October 1948, Preliminary Report. **Public Health Bulletin**, n. 306. Washington, DC: U.S. Public Health Service, 1949.
- SHEEHAN, D. et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochemical Journal**, v. 360, n. Pt 1, p. 1-16, 2001.
- SHERER, Y. et al. Coronary calcium and anti-cardiolipin antibody are elevated in patients with typical chest pain. *American Journal of Cardiology*, v. 86, p. 1306–11, 2000.
- SHIH, H.-T. et al. Subclinical abnormalities in workers with continuous low-level toluene exposure. **Toxicology and Industrial Health**, v. 27, p. 691–9, 2011.
- SHOEMARK, A.; WILSON, R. Exhaled Breath Condensate pH as a Non-invasive Measure of Inflammation in Non-CF Bronchiectasis. **Pulmonology**, v. 2011, p. 6, 2011.
- SIES, H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. **American Journal of Medicine**, v. 91, n. 3C, p. 31S-38S, 1991.

- SISENANDO, H. A. et al. Genotoxic potential generated by biomass burning in the Brazilian Legal Amazon by *Tradescantia* micronucleus bioassay: a toxicity assessment study. **Environmental Health**, v. 10, p. 41, 2011.
- SMITH, L. T. et al. Drought impacts on children's respiratory health in the Brazilian Amazon. **Scientific Reports**, v. 16, n. 4, pp. 3726, 2014.
- SOBUS, J. R. et al. Urinary naphthalene and phenanthrene as biomarkers of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 66, n. 2, p. 99–104, 2009.
- SOSA, V. et al. Oxidative stress and cancer: an overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376-90, 2013.
- SOUZA Jr., T. P.; OLIVEIRA, P. R.; PEREIRA, B. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, n. 1, p. 91-96, 2005.
- STEERING COMMITTEE (ISAAC). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. **Lancet**, v. 351, p. 1225-32, 1998.
- STELLMAN, J. M. *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety, Fourth Edition (4 Volumes) Hardcover* – November 1, 1998.
- STOCKFELT, L. et al. Effects on airways of short-term exposure to two kinds of wood smoke in a chamber study of healthy humans. **Inhalation Toxicology**, v. 24, p. 47–59, 2012.
- STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. What are biomarkers? **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, pp. 463-466, 2014.

- SURGUCHEV, A.; SURGUCHOV, A. Conformational diseases: looking into the eyes. **Brain Research Bulletin**, v. 81, p. 12–24, 2010.
- SVECOVA, V. et al. Urinary 8-oxodeoxyguanosine levels in children exposed to air pollutants. **Mutation Research**, v. 662, p. 37–43, 2009.
- THOMPSON, A. M. S. et al. Baseline repeated measures from controlled human exposure studies: associations between ambient air pollution exposure and the systemic inflammatory biomarkers IL-6 and fibrinogen. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, p. 120–4, 2010.
- THOMPSON, L. M. et al. Exposures to high levels of carbon monoxide from wood-fired temazcal (steam bath) use in highland Guatemala. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 17, p. 103–12, 2011.
- TONG, J. et al. Brain alpha-synuclein accumulation in multiple system atrophy, Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: a comparative investigation. **Brain**, v. 133, p. 172–88, 2010.
- TORRA, M. et al. Lead Exposure in the Barcelona Population: Chronological Trend between 1984–1995 (in Spanish, with English abstract). **Med. Clin**, v. 108, p. 601-603, 1997.
- TORRENTE-VILARA, G. et al. Effects natural rapids and waterfalls on fish assemblage structure in the Madeira River (Amazon Basin). **Ecology of Freshwater Fish**, v. 20, n. 4, p.588-597, 2011.
- TSAI, D-H. et al. Effects of particulate matter on inflammatory markers in the general adult population. *Particle Fibre and Toxicology*, v. 9, p. 24, 2012.
- TSAO, A. S. et al. Increased phospho-AKT (Ser(473)) expression in bronchial dysplasia: implications for lung cancer prevention studies. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 12, p. 660–4, 2003.

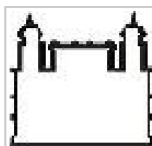
- TSAO, C-C. et al. Increased estimates of air-pollution emissions from Brazilian sugar-cane ethanol. **Nature Climate Change**, v. 2, p. 53–57, 2012.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Air quality criteria for particulate matter. Research Triangle Park, NC: National Center for Environmental Assessment-RTP Office; report, 2004.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Pesticides: Science and Policy – Defining biomarkers [accessed in 8/25/2014]. Available in <http://www.epa.gov/pesticides/science/biomarker.html>
- VALAVANIDIS, A. et al. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 9, p. 3886-907, 2013.
- VALAVANIDIS, A.; FIOTAKIS, K.; VLACHOGIANNI, T. Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. **Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews Impact Factor & Information**, v. 26, n. 4, p. 339 – 62, 2008.
- VAN MIERT, E. et al. Respiratory effects associated with wood fuel use: a cross-sectional biomarker study among adolescents. **Pediatric Pulmonology**, v. 47, p. 358–66, 2012.
- VARELA-CARVER, A. et al. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 23, p. 2551-8, 2010.
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

- VIAU, C.; ZAOUI, C.; CHARBONNEAU, S. Dietary fibers reduce the urinary excretion of 1-hydroxypyrene following intravenous administration of pyrene. **Toxicological Sciences**, v. 78, p. 15–9, 2004.
- VISIOLI, F.; KEANEY, J. F.; HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular Research**, v. 47, n. 3, p. 409, 2000.
- WANG, Q. et al. Increased urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in workers exposed to di-(2-ethylhexyl) phthalate in a waste plastic recycling site in China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, p. 987–96, 2011.
- WATANABE, S. et al. Activation of PI3K-AKT pathway in oral epithelial dysplasia and early cancer of tongue. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, v. 50, p. 125–33, 2009.
- WATANABE, T. et al. Reduced Cadmium and Lead Burden in Japan in the Past 10 Years. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 68, p. 305-314, 1996.
- WEI, Y. et al. PM_{2.5} constituents and oxidative DNA damage in humans. **Environmental Science & Technology**, v. 43, p. 4757-62, 2009.
- WEICHENTHAL, S. A.; GODRI-POLLITT, K.; VILLENEUVE, P. J. PM_{2.5}, oxidant defense and cardiorespiratory health: a review. **Environmental Health**, v. 4, n. 12, p. 40, 2013.
- WEIS, B. K. et al. Personalized exposure assessment: promising approaches for human environmental health research. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, p. 840-8, 2005.
- WELCH, K. D. et al. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 32, n. 7, p. 577-83, 2002.
- WILHELM, Filho D.; AVILA, S.; POSSAMAI, F. P.; et al. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in the blood of subjects exposed to occupational airborne contamination

- from coal mining extraction and incineration of hospital residues. *Ecotoxicology*, v. 19, p. 1193–200, 2010.
- WILKER, E. H. et al. Ambient pollutants, polymorphisms associated with microRNA processing and adhesion molecules: the Normative Aging Study. ***Environmental Health***, v. 10, p. 45, 2011.
- WILKINSON, J.; CLAPPER M. L. Detoxification enzymes and chemoprevention. ***Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine***, v. 216, p. 192–200, 1997.
- WILLIAMS, L. et al. Fine particulate matter (PM_{2.5}) air pollution and immune status among women in the Seattle area. ***Archives of Environmental & Occupational Health***, v. 66, p. 155–65, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) – International Programme on Chemical Safety (IPCS) – Environmental Health Criteria 155: Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Geneva; 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Air Quality Guidelines Global; Report on a Working Group Meeting, Bonn, Germany, October 18–20; World Health Organization, Regional Office for Europe: Copenhagen, Denmark, 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). News release: 7 million premature deaths annually linked to air pollution [accessed in 8/25/2014]. Available in <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/air-pollution/en/>
- WU, S. et al. Association of heart rate variability in taxi drivers with marked changes in particulate air pollution in Beijing in 2008. ***Environmental Health Perspectives***, v. 118, p. 87–91, 2010.
- WU, W.; BROMBERG, P. A.; SAMET, J. M. Zinc ions as effects of environmental oxidative lung injury. ***Free Radical Biology & Medicine***, v. 65, p. 57–69, 2013.

YAMASOE, M. A. et al. Chemical composition of aerosol particles from direct emissions of vegetation fires in the Amazon Basin: water-soluble species and trace elements. **Atmospheric Environment**, v. 34, n. 10, p. 1641-1653, 2000.

8. ANEXOS



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE
PÚBLICA SERGIO AROUCA -
ENSP/ FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de Impacto à Saúde. A construção de uma ferramenta para a gestão socioambiental de projetos de desenvolvimento na Amazônia.

Pesquisador: SANDRA DE SOUZA HACON

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 18634613.0.0000.5240

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 936.350

Data da Relatoria: 11/01/2015

Apresentação do Projeto:

Este parecer refere-se a uma solicitação de emenda para inclusão de subprojeto da aluna Beatriz Fátima Alves de Oliveira, matriculada no Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente, orientado pela Dra. Sandra de Souza Hacon. O título do subprojeto é "Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde humana: Um estudo sobre biomarcadores de efeito e de susceptibilidade em crianças e adolescentes da Amazônia Brasileira".

A emenda refere-se ao projeto original "Avaliação de Impacto à Saúde. A construção de uma ferramenta para a gestão socioambiental de projetos de desenvolvimento na Amazônia", coordenado pela Dra. Sandra de Souza Hacon, e do qual a aluna faz parte da equipe de pesquisa.

A apresentação do projeto foi descrita no parecer de aprovação do CEP/ENSP de número 423.720, emitido em 14/10/2013.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos do Projeto Original

Geral:

Desenvolver um modelo metodológico explicativo para a avaliação de impactos à saúde tendo

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.041-210

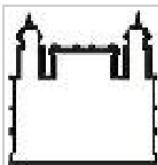
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2598-2863

Fax: (21)2598-2863

E-mail: cep@ensp.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 936.350

como base estudos de caso de alguns projetos de desenvolvimento na Amazônia evidenciando aplicabilidade dos conhecimentos gerados para a saúde pública.

Específicos:

- Desenvolver um modelo explicativo de indicadores integrados de saúde e ambiente relacionados aos impactos socioambientais antropogênicos e a variabilidade climática para a diarreia infantil em menores de 1 ano nas regiões brasileiras.
- Avaliar séries temporais de PM_{2,5}, PM₁₀, BC (Black Carbon) e metais (Ni, V, Cu, Cr, Pb, Mn) e seus impactos nos agravos respiratórios de uma população na região do Arco do Desmatamento ao longo dos últimos 4 anos.
- Investigar os efeitos adversos decorrentes da exposição ao PM_{2,5} ao nível pulmonar através da dosagem de biomarcadores de estresse oxidativo em crianças residentes na área urbana e ribeirinha em Porto Velho (RO).
- Avaliar o risco da exposição ao PM_{2,5} proveniente da queima de biomassa e suas potenciais repercussões na função pulmonar, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em crianças de 6 a 14 anos.
- Analisar os impactos à saúde na população ribeirinha resultantes das fases de construção e operação de Usinas Hidrelétricas, tendo como estudo de caso a Usina de Santo Antônio Energia em Porto Velho (RO).
- Desenvolver estudos epidemiológicos a) transversal e b) longitudinal com aplicação de questionários, coletas de material biológico e identificação dos perfis sociodemográficos e dos agravos à saúde das comunidades ribeirinhas.

Objetivos do projeto da aluna

Geral:

Avaliar os efeitos da exposição a poluentes atmosféricos na função pulmonar, biomarcadores de estresse oxidativo e alergia assim como os efeitos modificadores de biomarcadores de suscetibilidade em crianças de 6 a 16 anos residentes na Amazônia Ocidental Brasileira.

Específicos:

Revisar as recentes pesquisas na área de biomarcadores em poluição do ar na tentativa de oferecer uma visão mais ampla das pesquisas que estão sendo realizadas nesse campo de estudo.

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.041-210

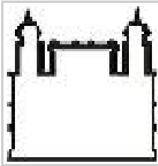
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2598-2863

Fax: (21)2598-2863

E-mail: cep@ensp.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 936.350

Comparar os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo e alergia entre crianças residentes em áreas ribeirinhas e urbanas na cidade de Porto Velho.

Avaliar as mudanças agudas na função pulmonar e nos níveis de biomarcadores de processo alérgicos em crianças expostas cronicamente a baixas concentrações de PM_{2,5} e Black Carbon.

Investigar a interação entre polimorfismos nas enzimas GST's (estresse oxidativo) e os efeitos agudos da poluição do ar (PM_{2,5} e Black Carbon) na função pulmonar de crianças residentes em Porto Velho.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O estudo não oferece riscos físicos aos participantes. O risco que poderá ocorrer é algum tipo de constrangimento na fase das entrevistas, como já ocorreu no passado em relação às condições de moradia, perda de filhos (espontâneos e abortos provocados), filhos com problemas de saúde. No entanto, estas questões são inerentes a pesquisa e a equipe sempre contornou estas questões deixando o entrevistado livre para não responder as questões que não se sinta à vontade. Outro risco seria diagnosticar participantes do estudo na fase aguda da doença de Minamata (por contaminação por mercúrio) e não ter opção de tratamento porque os efeitos são irreversíveis.

Benefícios:

Todo participante do projeto receberá o resultado das medidas de pressão arterial, peso, altura, níveis de Hg em cabelo com seu código de participante. Caso seja observada alguma alteração em um de seus exames, você será encaminhado para o serviço de saúde mais próximo da comunidade com seus resultados das medidas realizadas. Durante aplicação do questionário da criança/adolescente, caso seja verificado que a criança/adolescente não tenha sido vacinada, o pai, mãe ou responsável será solicitado atualizar a(s) vacina(s). Outro benefício de sua participação está no conhecimento de seu estado de saúde atual. Na parte da avaliação cognitiva os resultados serão apresentados ao final do estudo, em formato de relatório técnico encaminhado para a direção das escolas, considerando o desempenho na avaliação cognitiva de todas as crianças referente aos principais resultados encontrados em cada grupo escolar. Dessa forma garantimos trabalhar com a coletividade e o sigilo quanto aos dados individuais. Ao final da avaliação os pesquisadores se comprometem em realizar uma reunião com os professores, familiares e profissionais do serviço de saúde local para explicar os principais resultados encontrados no coletivo, considerando o desempenho dos testes aplicados. Além do relatório técnico os

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.041-210

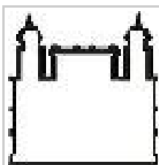
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2598-2863

Fax: (21)2598-2863

E-mail: cep@ensp.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 936.350

pesquisadores se comprometem em compartilhar orientações às famílias e as escolas sobre estratégias educativas levando em consideração os achados do presente estudo. Todos os participantes terão seus resultados de mercúrio no cabelo para que no futuro, caso seja necessário confirmar seu nível de contaminação causado pelo consumo de peixe, os níveis de mercúrio no cabelo serão a comprovação da redução ou aumento desses níveis no organismo. As crianças que apresentarem resultados indicativos de dificuldades cognitivas serão encaminhadas para os centros de referência da região. Caso seja identificada deficiência intelectual as famílias serão orientadas a buscarem atendimento especializado. Os resultados do estudo permitirão uma melhor orientação do consumo, das espécies e da quantidade de peixes visando o controle dos níveis aceitáveis de mercúrio no peixe”.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não há.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Cabe observar que a idade máxima proposta no projeto original é de 14 anos e não 16 como proposto pela aluna.

A emenda foi considerada aprovada.

Situação do Parecer:

Aprovado

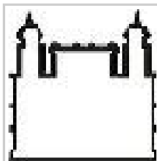
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em atendimento ao subitem II.19 da Resolução CNS nº 466/2012, cabe ao pesquisador responsável pelo presente estudo elaborar e apresentar relatório final "[...] após o encerramento da pesquisa, totalizando seus resultados", em forma de "notificação", cujo modelo se encontra

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.041-210
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2598-2863 **Fax:** (21)2598-2863 **E-mail:** cep@ensp.fiocruz.br



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE
PÚBLICA SERGIO AROUCA -
ENSP/ FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 936.350

disponível em www.ensp.fiocruz.br/etica.

RIO DE JANEIRO, 21 de Janeiro de 2015

Assinado por:
Carla Lourenço Tavares de Andrade
(Coordenador)

Endereço: Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - Térreo
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.041-210
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2598-2863 **Fax:** (21)2598-2863 **E-mail:** cep@ensp.fiocruz.br