

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA E MEIO AMBIENTE

**Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da
área sob influência do Polo Industrial na região de Campos Elíseos,
Baixada Fluminense**

CRISTIANE BARATA SILVA

Rio de Janeiro
2017

CRISTIANE BARATA SILVA

**Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da
área sob influência do Polo Industrial na região de Campos Elíseos,
Baixada Fluminense**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Josino Costa
Moreira

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Mitri
Nogueira

Rio de Janeiro
2017

Catálogo na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
Biblioteca de Saúde Pública

S586a Silva, Cristiane Barata.
Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da área sob influência do Polo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense / Cristiane Barata Silva. -- 2017.
184 f. : il. color. ; graf. ; mapas ; tab.

Orientador: Josino Costa Moreira.
Coorientadora: Simone Mitri Nogueira.
Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2017.

1. Benzeno - toxicidade. 2. Benzeno – metabolismo.
3. Poluição Ambiental. 4. Biomarcadores. 5. Polimorfismo Genético. I. Título.

CDD – 22.ed. – 615.9511

**Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da
área sob influência do Polo Industrial na região de Campos Elíseos,
Baixada Fluminense**

CRISTIANE BARATA SILVA

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Josino Costa Moreira- Orientador
Fundação Oswaldo Cruz- ENSP- CESTEH

Prof. Dr. Volney de Magalhães Câmara
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Armando Meyer
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Jorge Mesquita Huet Machado
Fundação Oswaldo Cruz- GEREB

Prof. Dr. Sergio Rabello Alves
Fundação Oswaldo Cruz- ENSP- CESTEH

Aprovada em 15 de dezembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais, às minhas irmãs e principalmente a minha filha e ao meu marido.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permite desenvolver a minha missão nessa encarnação e que me fortalece nos momentos de fraqueza e angustia.

Aos meus pais e irmãs, que me apoiaram e ampararam nessa caminhada de continuar estudando e questionando a todo momento.

Ao meu marido Luciano, que é o meu maior incentivador e companheiro de vida e de coletas em Campos Elíseos. Obrigada pelo apoio e por sempre me mostrar que eu faço o melhor que posso.

A minha filha Alice, que veio no meio dessa trajetória e me ensinou muito mais do que os livros me mostraram durante todo esse tempo. Mudou minhas prioridades e conseguiu fazer meu dia ter mais de 24 horas, pela quantidade de atividades executadas por segundo.

Ao meu orientador, que sempre acreditou que seria capaz desde a época da iniciação e de sempre confiar nas minhas decisões. Minha eterna admiração por ser essa pessoa tão simples e com um conhecimento admirável, um espelho a ser seguido.

A minha co-orientadora, que de mansinho foi conquistando a minha amizade e admiração. Com sua dedicação e carisma conseguiu me mostrar que a Genética não era um bicho de sete cabeças e uma área apaixonante.

As minhas colegas de setor, que caminharam comigo e me apoiaram nos momentos difíceis. À Thelma, pelo incentivo e ajuda com material de coleta quando iniciei meu

trabalho. À Carol, pelo companheirismo de coletas, até aos domingos, e de bancada, ensinamentos e pela grata surpresa de ganhar uma amiga que tem a mesma sintonia de trabalho que eu. À Vanessa, que aceitou o louco desafio de desenvolver o método e analisar as urinas em pouco tempo hábil, não medindo esforços para me ajudar, inclusive trabalhando sábado, e à Mel que mesmo dentro do útero esteve conosco nessa jornada. À Ana Cristina, que me incentivou desde a Iniciação Científica (sendo minha 1^o co-orientadora) e me passou todos os seus conhecimentos técnicos para que pudéssemos desenvolver o método e analisar o S-PMA nas amostras urinárias. Aos recém chegados estagiários, Yasmin, Marcos e Júlia, por me ajudarem e apoiarem nesta reta final. Ao Braga, pela ajuda em acessar e mobilizar os moradores de Campos Elíseos.

Aos amigos do laboratório que me ajudaram nas coletas, Tatyane, Enrico, Fernanda e Thais, que doaram o tempo e disposição em me ajudar. Aos demais, pelo apoio e pelos momentos de distração. A Selma, por ter mãos de anjo, coletando o sangue dos participantes de forma sublime, e o seu alto astral irradiante. Ao Frederico, que viabilizou a aquisição do material e a Hayra pela disponibilidade em vir nos passar o seu conhecimento.

É saber se sentir infinito num universo tão vasto e bonito é saber sonhar
Então, fazer valer a pena cada verso daquele poema sobre acreditar
Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu

Trem-Bala
Ana Vilela

RESUMO

O uso indiscriminado de um número cada vez maior de substâncias químicas vem aumentando e a contaminação ambiental associada tem trazido sérias conseqüências para a Saúde Pública. Uma das substâncias mais importantes neste contexto devido à sua grande utilização, à contaminação ambiental resultante de sua emissão e aos efeitos sobre a saúde humana é o benzeno, classificado pelo IARC como reconhecidamente carcinogênico para humanos (grupo 1) e associado ao desenvolvimento de leucemias. Em geral a população está exposta a essa substância por meio da inalação do ar contaminado, cuja contaminação varia conforme a localização e a intensidade de suas potenciais fontes emissoras. Dentre essas fontes, a indústria petroquímica é uma das mais importantes. O município de Duque de Caxias, especificamente o distrito de Campos Elíseos, abriga o Polo Industrial de Campos Elíseos (PICE), um agrupamento de mais de 25 indústrias dentre as quais a segunda maior refinaria de petróleo do País. A contaminação ambiental proveniente do PICE já é reconhecida, mas seus impactos sobre a saúde da população que vive em seu entorno ainda não estudada. Ao comparar as taxas de leucemia de 19 municípios do Estado do Rio de Janeiro, observou-se que Duque de Caxias apresentou uma das taxas mais elevadas (5,3), sugerindo a exposição da população residente naquele distrito. Avaliações hematológicas compatíveis com a contaminação por benzeno foram observadas em 33% dos 190 voluntários participantes neste estudo. Concentrações de ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) variando entre 0,80 e 8,01 $\mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina, foram determinadas na urina de 21 participantes. Aparentemente a concentração de SPMA se relaciona com as alterações hematológicas observadas. Concentração quantificável de SPMA na

urina aumentaria em 60% o risco de uma das alterações hematológicas estudadas. As frequências alélicas e genóticas das enzimas CYP2E1 e NQO1 observadas na população em estudo foi semelhante àquelas observadas em outros estudos. A presença do alelo variante no genótipo da NQO1 pode ser um fator de risco para alterações hematológicas observadas.

Palavras- chave: *benzeno; contaminante ambiental; determinação biológica; biomarcadores; polimorfismos metabólicos.*

ABSTRACT

The indiscriminate use of an increasing number of chemical substances and the associated environmental contamination has brought serious consequences for Public Health. One of the most important substances in this context due to its great use, the environmental contamination resulting from its emission and the effects on human health is benzene, classified by the IARC as recognized carcinogen to humans (group 1) and associated with the development of leukemias. In general the population is exposed to this substance by inhalation of contaminated air and the degree of contamination varies according to the location and intensity of its potential sources. Among these sources, the petrochemical industry is one of the most important. The municipality of Duque de Caxias, specifically the district of Campos Elíseos, houses the Industrial Complex of Campos Elíseos (PICE), a grouping of more than 25 industries, among which the second largest oil refinery in the country. Environmental contamination from the PICE is already recognized, but its impact on the health of the population living in its surroundings is not. Indeed, the comparison of the leukemia rates of 19 municipalities in the State of Rio de Janeiro showed that Duque de Caxias had one of the highest rates (5,3), suggesting the exposure of the resident population in that district. Haematological evaluations compatible with benzene contamination were observed in 33% of the 190 volunteers participating in this study. Concentrations of S-phenylmercapturic acid (SPMA) ranging from 0.80 to 8.01 $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinine were determined in the urine of 21 participants. Apparently the concentration of SPMA is related to the hematological changes observed. Quantifiable concentration of SPMA in urine would increase the risk of the studied haematological changes by 60%. The allelic and genotype frequencies of the CYP2E1 and NQO1 enzymes observed in the study population were similar to those observed in other studies. The presence of the variant allele in the NQO1 genotype may be a risk factor for observed hematological changes.

Keywords: benzene; environmental contaminant; biological determination; biomarkers; metabolic polymorphism.

LISTA DE ABREVIATURAS:

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

CESTEH – Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana

ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

IARC- Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

NR- Norma Regulamentadora

rpm – Rotações por minuto.

OMS – Organização Mundial da Saúde

ANP- Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

SUS- Sistema único de Saúde

DATASUS- Departamento de Informática do SUS

SIH/SUS- Sistema de informações hospitalares do SUS

EU- União Européia

ACGIH- American Conference of Governmental Industrial Hygienists

TLV-TWA- Média ponderada por oito horas de exposição

EROs- Espécies reativas de oxigênio

CYP2E1- Citocromo P450 2E1

BO- Óxido benzeno

COSIPA- Companhia Siderúrgica Paulista

VRT-MTP- Concentração média ponderada pelo tempo e medida na zona respiratória,
para uma jornada de trabalho de 8 horas

TWA- Time-weighted average

STEL/Teto- Short-term exposure level

BEI- Indicador Biológico de Exposição

HPA- Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

t,t-AM- Ácido *trans,trans*-mucônico

S-PMA- Ácido S-fenilmercaptúrico

GST- Glutathione S-transferase

NQO1- NAD(P)H quinona oxireductase 1

VP- Valor de produção

REDUC- Refinaria Duque de Caxias

FABOR- Fábrica de Borracha Sintética

APELL-CE- Sistema de Resposta para Emergências Externas do Pólo Industrial de Campos Elíseos

PNUMA- Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

CL-EM/EM- Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa Sequencial

SPE- Extração em fase sólida

MeOH- Metanol

PCR-RFLP- Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism

LISTA DE TABELAS:

TABELA 1. Relação entre os polimorfismos CYP2E1 -1293G→C e NQO1 609C→T e as respectivas consequências na metabolização do benzeno.

TABELA 2. Alguns dados informativos sobre a população de Campos Elíseos.

TABELA 3. Razão de taxa de internações por leucemia em adultos registradas nos municípios da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro no período de 2006 a 2014.

TABELA 4 - Testes das condições cromatográficas para o desenvolvimento do método.

TABELA 5. Sequências das sondas Taqman utilizadas para os ensaios de genotipagem dos polimorfismos por PCR em tempo real.

TABELA 6. Distribuição de patologias sugestivas pelas alterações hematológicas nos participantes que apresentaram valores fora da faixa de normalidade.

TABELA 7. Distribuição dos moradores conforme os resultados de Neutrófilos, Leucócitos e V.C.M.

TABELA 8. Parâmetros do espectrômetro de massas para a detecção do S-PMA.

TABELA 9. Transição do monitoramento de reações múltiplas (MRM)

TABELA 10. Resultado obtidos nos experimentos de recuperação de SPMA de amostras de urina fortificados para se obter as concentrações de 10, 25 e 50 ng mL⁻¹.

TABELA 11. Determinação da faixa de razão de íons aceitáveis para qualificação em cada dia de análise.

TABELA 12. Concentrações de S-PMA urinário nas amostras coletadas em 2016 e 2017 dos moradores de Campos Elíseos incluídos no presente estudo.

TABELA 13. Níveis de S-PMA urinário encontrados em estudos realizados em outros países.

TABELA 14. Razão de risco dos grupos de S-PMA sobre as alterações nos valores dos Leucócitos, V.C.M. e Neutrófilos.

TABELA 15. Razão de risco dos grupos de S-PMA sobre as alterações hematológicas encontrados nesse estudo.

TABELA 16. Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T na população estudada.

TABELA 17. Razão de risco dos genótipos homozigoto e heterozigoto dos alelos variantes do CYP2E1-1293 G>C e NQO1 609 C>T sobre as alterações nos valores de leucócitos, V.C.M. e neutrófilos.

TABELA 18. Razão de risco dos genótipos do CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T sobre as alterações hematológicas.

LISTA DE FIGURAS:

FIGURA 1. Representação da biotransformação do benzeno no organismo humano. Adaptado de NEBERT et al., 2002; ROSS, 2000.

FIGURA 2. Representação simplificada dos mecanismos responsáveis pelo dano citotóxico e carcinogênico do benzeno ao organismo. Adaptação de ATKINSON, 2009.

FIGURA 3. Mapa representativo do Estado do Rio de Janeiro e em destaque o mapa de Duque de Caxias, onde região circulada é a área de estudo, Campos Elíseos.

FIGURA 4. Conjunto de empresas que atualmente constituem o Pólo Industrial de Campos Elíseos e suas localizações na comunidade (http://www.apellce.com.br/mapa_de_acesso.php).

FIGURA 5. Situação comum em Campos Elíseos, onde moradias são afixadas próximas aos tanques de distribuidoras de combustíveis do Pólo Petroquímico. Fonte: Raulino, S.F. (2009) citado em VAZ, 2013.

FIGURA 6. Mapa com a área vulnerável do polo, considerando os cenários de acidentes com maior alcance das empresas. 1.Marilândia; 2. Pilar; 3. Centro de Campos Elíseos; 4. Saraiva; 5. Ana Clara; 6.Vila Serafim; 7. Parque Império; 8. Nosso Bar; 9. Bom Retiro; 10. Parque Moderno (http://www.apellce.com.br/mapa_area_vulneravel.php).

FIGURA 7. Mapa com a área vulnerável de cada empresa. 1.Marilândia; 2. Pilar; 3. Centro de Campos Elíseos; 4. Saraiva; 5. Ana Clara; 6.Vila Serafim; 7. Parque Império; 8. Nosso Bar; 9. Bom Retiro; 10. Parque Moderno (http://www.apellce.com.br/mapa_area_vulneravel.php).

FIGURA 8. Representação da distribuição etária da população residente em Campos Elíseos. Fonte: Censo 2010 (http://populacao.net.br/populacao-campos-eliseos-duque-de-caxias_rj.html).

FIGURA 9. Ilustração do procedimento LTPE utilizado na etapa de extração de SPMA da amostra.

FIGURA 10. Esquema do acoplamento da técnica de CLAE com EM/EM.

FIGURA 11. Foto do cromatógrafo em fase líquida, marca Thermo Scientific®, modelo Surveyor e o espectrômetro de massas com triplo quadrupolo, marca Thermo Scientific®, modelo TSQ Quantum, com software Xcalibur® utilizado na análise S-PMA.

FIGURA 12. Representação gráfica da distribuição da população estudada em faixas etárias.

FIGURA 13. Representação gráfica da distribuição da população alvo segundo a renda familiar.

FIGURA 14. Representação gráfica da distribuição da população alvo segundo a exposição a substâncias químicas.

FIGURA 15. Caracterização do odor relatado pelos moradores em porcentagem.

FIGURA 16. Situação específica em que os moradores percebem a presença do odor no ambiente.

FIGURA 17. Localização geográfica dos endereços dos participantes que apresentaram alterações hematológicas. **(B)** Foto de satélite de Campos Elíseos,

sendo que a região marcada em vermelho representa a localidade com maior concentração de residências de moradores com alterações hematológicas e as regiões marcadas em amarelo são os aglomerados industriais ali existentes.

FIGURA 18. (A) Exemplo de Cromatograma e espectro de massas referentes a urina considerada branco. **(B)** Exemplo de Cromatograma e espectro de massas referentes a fortificação com solução padrão de S-PMA em uma urina considerada branco.

FIGURA 19. Exemplo de uma curva analítica obtida para a determinação de S-PMA em urina.

FIGURA 20. Gráfico mostrando o resultado da genotipagem das amostras para o polimorfismo CYP2E1 -1293 G>C. Em azul, no eixo X: genótipo homozigoto **C/C**; em vermelho: genótipo heterozigoto G/C; em verde, no eixo Y: genótipo homozigoto G/G. Os controles negativos são representados pelo círculo preto e o "x" indica as amostras que não amplificaram na reação.

FIGURA 21. Gráfico mostrando o resultado da genotipagem das amostras para o polimorfismo NQO1 609 C>T Em azul, no eixo X: genótipo homozigoto C/C; em vermelho: genótipo heterozigoto C/T; em verde, no eixo Y: genótipo homozigoto T/T. Os controles negativos são representados pelo círculo preto.

FIGURA 22. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo CYP2E1 -1293 G>C de uma amostra. Única curva acima da ROX, referente à sonda VIC: genótipo selvagem homozigoto (CC).

FIGURA 23. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo NQO1 609 C>T de uma amostra. Única curva acima da ROX, referente à sonda FAM: genótipo variante homozigoto (GG).

FIGURA 24. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo CYP2E1 -1293 G>C de uma amostra. Duas curvas acima da ROX, referentes às sondas VIC e FAM: genótipo heterozigoto (CG).

ÍNDICE

I- INTRODUÇÃO.....	1
I.1. Introdução.....	2
I.1.1. Benzeno e sua presença no ambiente	3
I.1.2. Aspectos Toxicológicos do Benzeno	4
I.1.3. Exposição ao benzeno no Brasil	9
I.1.4- Avaliação da exposição ambiental	11
I.1.5- Avaliação Biológica	12
II- OBJETIVOS	19
II.1. Objetivo Geral.....	20
II.2. Objetivos Específicos	20
III- METODOLOGIA.....	21
III.1. Metodologia do estudo	22
III.1.1. Desenho do estudo	22
III.1.2- Área e população de estudo.....	22
III.2. Coleta de informações	30
III.3. Coleta de materiais biológicos.....	30

III.4. Organização e caracterização dos grupos de estudo	31
III.5. Procedimento analítico.....	32
III.5.1. Análise de ácido S-fenilmercaptúrico urinário	32
III.5.2. Determinação dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T	40
III.6. Análise estatística	41
IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
IV.1. Estudo na população alvo	44
IV.1.1. Perfil da população	44
IV.1.2. Análise das amostras biológicas	53
IV.1.2.1. Hemograma.....	53
IV.1.2.2. Ácido S-fenilmercaptúrico urinário	59
IV.1.2.2.1. Otimização das condições espectrométricas e cromatográficas ..	59
IV.1.2.2.2. Curva analítica e Recuperação do método de extração	62
IV.1.2.2.3. Parâmetro para Quantificação em CLAE-EM/EM	64
IV.1.2.2.4. Avaliação dos níveis de S-PMA urinário nas amostras	65
IV.1.2.3. Análises Moleculares	71
IV.1.3.1. Determinação dos polimorfismos	71
IV.1.3.1. Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T na população estudada	78

V- CONCLUSÃO.....	84
IV.1. Conclusão	85
VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXOS.....	114
ANEXO A: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP/FIOCRUZ	115
ANEXO B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	120
ANEXO C: Questionário	123
ANEXO D: Cartilha distribuída à população	128
ANEXO E: Resultado dos níveis de S-PMA dos participantes deste estudo	129
ANEXO F: Artigos relacionados a Tese	130
ANEXO G: Outros artigos publicados durante o doutorado	178

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

I.1. Introdução

A exposição a substâncias químicas atualmente ocupa uma posição de destaque devido ao fato do crescente número de registro de patologias a ela relacionadas, no sistema público de saúde. Sendo assim, o presente cenário se configura como uma questão preocupante para a Saúde Pública (ARAÚJO, 2008).

A presença de xenobióticos no ambiente é a principal forma de exposição da população em geral, visto que tais substâncias se fazem presentes no ar, no solo, nos alimentos e na água utilizada rotineiramente (ARNOLD et al., 2013; ATSDR, 2007; OGA, 2005). Desta forma, se fazem necessários estudos específicos que proporcionem o conhecimento das variáveis existentes em cada situação para que se possa realizar uma completa avaliação de risco e a prevenção dos agravos à saúde advindos dos ambientes contaminados (ARNOLD et al., 2013; WEISEL, 2010; ALBERTINI et al., 2006; ZHANG e LIOY, 2002).

Uma das substâncias que tem requerido grande atenção dos pesquisadores devido a sua toxicidade e a sua presença em baixas concentrações em diversos locais é o benzeno, um composto orgânico presente e/ou utilizado como matéria-prima em diversos produtos como a gasolina e o plástico. Esta substância está classificada no grupo 1 da International Agency for Research on Cancer (IARC), ou seja, é comprovadamente carcinogênica para o homem, e atualmente é uma das dez substâncias químicas consideradas prioritárias para estudo e regulação segundo a Organização Mundial da Saúde (COTTICA e GRIGNANI, 2013; SAHMEL et al., 2013; PANKO et al., 2009; ACGIH, 2001).

I.1.1. Benzeno e sua presença no ambiente

O benzeno é uma substância aromática de grande importância industrial, utilizado e obtido como subproduto em diversos processos na indústria química, petroquímica e siderúrgica (SAHMEL et al., 2013; KIM, 2006). É uma das substâncias mais utilizadas em termos de quantidade e diversidade, além de fazer parte da composição de óleos naturais e da gasolina, estando inclusive presente na fumaça de cigarros (STEINMAUS et al., 2008; LIN et al., 2007). Sua ação carcinogênica faz com que o controle sobre seu uso seja feito com maior rigor e precaução, visto que admite-se que para substâncias carcinogênicas e genotóxicas não há um limite seguro de exposição (COUTRIM et al., 2000; SCHERER et al., 1995; JOHNSON e LUCIER, 1992).

Antigamente, o benzeno era amplamente utilizado em laboratórios químicos e chegou mesmo a ser usado como loção pós-barba por seu aroma adocicado (ECO-USA, 2014). Este uso foi logo banido devido ao aparecimento de efeitos maléficos à saúde (ARAÚJO, 2008). Posteriormente, constatou-se que sua presença na composição da gasolina aumentava a eficiência dos motores, de modo semelhante à adição de chumbo tetraetila (LANDRIGAN, 2002). Por conta da elevada toxicidade, a presença de chumbo tetraetila na gasolina foi restringida, mas a do benzeno permanece (SANTOS et al., 2013; MIELKE et al., 2010). No Brasil, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) por meio da Resolução nº 40 de 25/10/2013, determina que a concentração de benzeno na gasolina do tipo C ou da gasolina Premium tipo C comercializada seja no máximo de 1% em volume.

Em geral a população está exposta a essa substância por meio da inalação de ar contaminado. A presença do benzeno na atmosfera vem sendo registrada não somente nas áreas das indústrias como também em ambientes urbanos e rurais,

sendo, por isto, considerado um contaminante global (ARNOLD et al., 2013; HU et al., 2011; RAPPAPORT et al., 2009; DOUGHERTY et al., 2008; COSTA e COSTA, 2002).

Seus efeitos tóxicos sobre o organismo fizeram com que esta substância tivesse sua concentração no ar de ambientes de trabalho ou mesmo na atmosfera, regulada em diversos países para minimizar os efeitos da exposição crônica. Assim, a União Europeia (UE) definiu como valor limite para a exposição ocupacional ao benzeno, a concentração de 1 mg L^{-1} (EC, 1997) enquanto a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) recomenda o limite de exposição ocupacional (TLV-TWA) de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, que corresponde à média ponderada para oito horas de exposição (ACGIH, 2013).

A concentração atmosférica desse contaminante varia conforme a localização de suas potenciais fontes emissoras, ou seja, locais próximos ou com aglomeração de várias fontes, tanto as pontuais como as difusas, apresentam concentrações mais elevadas, que podem atingir valores superiores a 10 mg L^{-1} (TOVALIN-AHUMADA e WHITEHEAD, 2007; WALLACE, 1996; IARC, 1989). Sendo assim, moradores que residem ou trabalham nestes ambientes, como os das indústrias químicas, de postos de gasolina, oficinas mecânicas e de exploração petrolífera geralmente estarão sujeitos a uma exposição ambiental com concentrações mais elevadas deste xenobiótico do que as recomendadas pelos órgãos regulamentadores (DOUGHERTY et al., 2008; JOHNSON et al., 2007).

I.1.2. Aspectos Toxicológicos do Benzeno

As principais formas de introdução do benzeno no organismo são as vias respiratória (vapores) e oral (alimentos e água). A via cutânea é mais rara, uma vez que é necessário o contato dérmico com essa substância sob a forma líquida, porém

quando ocorre, possui alto índice de absorção (JOHNSON et al., 2007). Em termos de Saúde Pública, a via de contaminação mais importante é a respiratória, e a maior parte do benzeno inalado é eliminada pela expiração, ficando a parte retida, acumulada principalmente em tecidos com alto teor lipídico (RASERA, 2009). Após absorvido, a biotransformação do benzeno ocorre preferencialmente no fígado e na medula óssea, conforme representado nas FIGURAS 1 e 2. No processo de excreção dos metabólitos gerados, o rim é o principal responsável por tal função (DOUGHERTY et al., 2008).

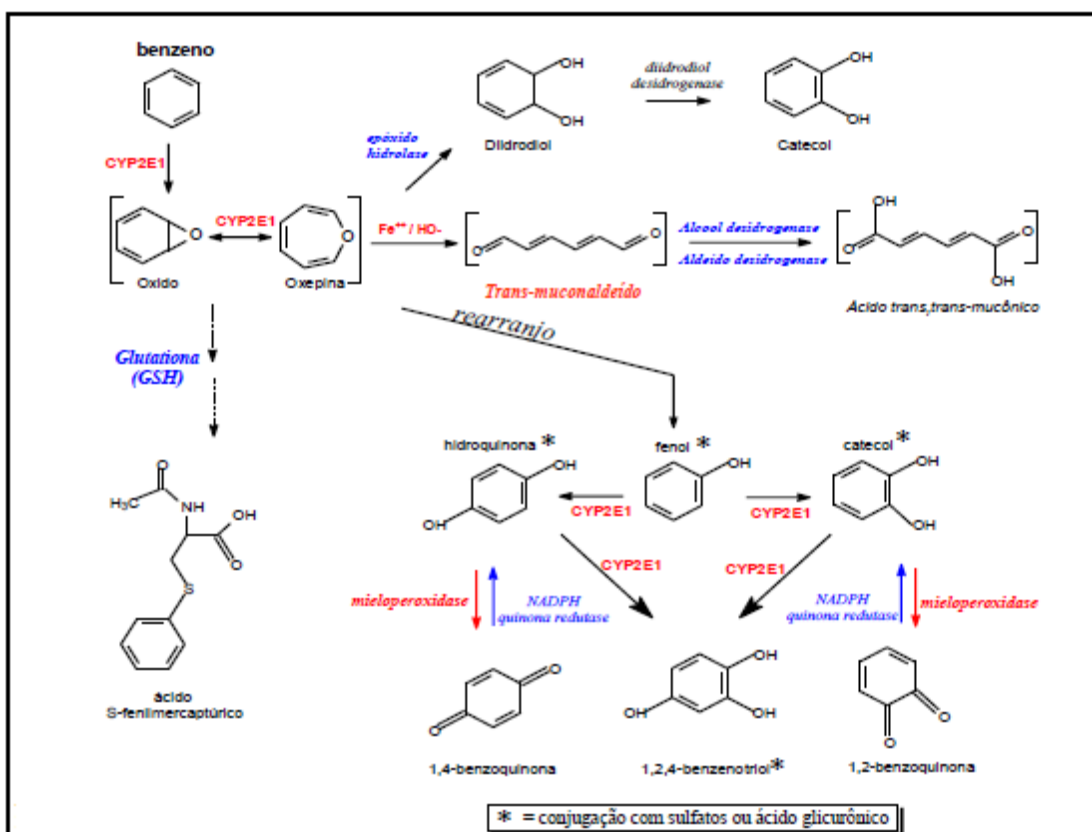


FIGURA 1. Representação da biotransformação do benzeno no organismo humano.

Adaptado de NEBERT et al., 2002; ROSS, 2000.

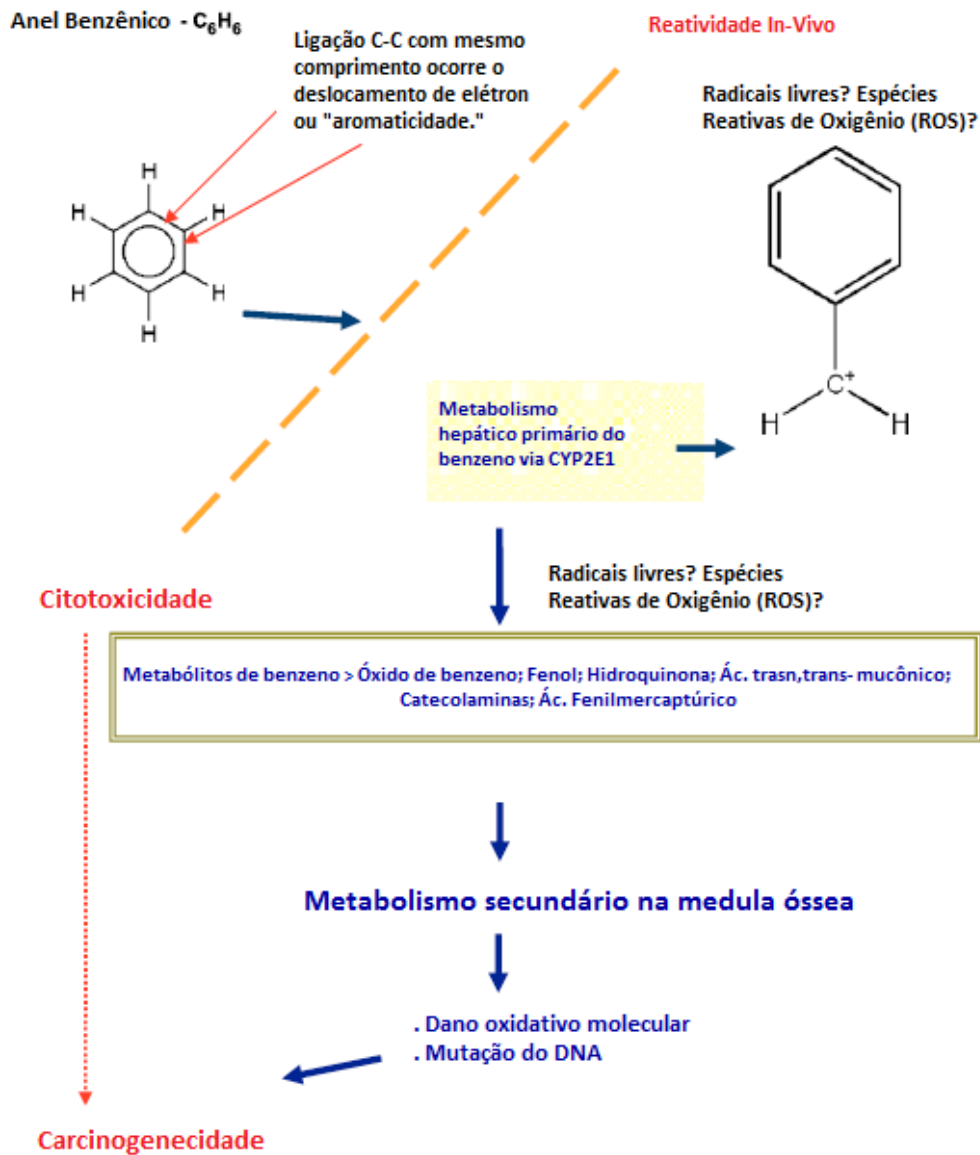


FIGURA 2. Representação simplificada dos mecanismos responsáveis pelos danos citotóxico e carcinogênico do benzeno ao organismo. Adaptação de ATKINSON, 2009.

A primeira etapa do metabolismo envolve a participação de enzimas da família do citocromo P450, o CYP 2E1, e leva à formação de um intermediário eletrofílico reativo (MONKS et al., 2010; SNYDER e HEDLI, 1996; ROSS, 1996; CHANEY e CARLSON, 1995), o óxido de benzeno (BO) que possui um tempo de meia-vida *in vivo* estimado em 7,9 minutos (LIN et al., 2007; ROSS, 2000). Esse

metabolito tem a capacidade de se ligar covalentemente aos sítios nucleofílicos de proteínas e de moléculas de DNA (MONKS et al., 2010) mas pode sofrer nova metabolização, gerando outros metabólitos reativos (muconaldeídos e benzoquinonas), que ainda detêm a capacidade de ligação ao DNA e às proteínas (MONKS et al., 2010). Além disso, promove um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que comprometem o sistema antioxidante gerando estresse oxidativo (MORO et al., 2013; NORTH et al., 2011; MACDONALD, 2010; BUTHBUMRUNG et al., 2008). Os adutos formados nas reações entre o óxido de benzeno e as macromoléculas (proteínas ou DNA) (LIN et al., 2007; RAPPAPORT et al., 2002; TORNQVIST et al., 2002) são considerados como agentes pré-cancerígenos (HARTWIG, 2010; POIRIER, 2004; SNYDER, 2002).

O óxido benzeno (BO) espontaneamente se transforma em fenol, *in vivo*, o qual é metabolizado posteriormente com a participação da CYP2E1, à hidroquinona considerada precursora dos metabólitos mielotóxicos - as benzoquinonas (MCHALE et al., 2012). As benzoquinonas também são capazes de formarem adutos de DNA em sistemas celulares e em humanos (KIM, 2006). Esses adutos podem gerar a ativação proto-oncogenes e/ou silenciamento de genes supressores de tumor, podendo, assim, dar início a um processo de carcinogênese química (LOUREIRO et al., 2002).

Suspeita-se que na presença concomitante do fenol e de hidroquinona no organismo ocorra uma interação farmacocinética entre os dois metabólitos, elevando a toxicidade e causando uma diminuição das células da medula óssea de camundongos (LAU et al., 2010). Além disso, a presença da hidroquinona no organismo pode promover a inibição da ribonucleotídeo redutase, uma enzima essencial para a síntese de DNA (ROSS, 2000).

Rappaport e colaboradores (2009) defendem que o metabolismo do benzeno ocorre por duas vias cujo mecanismo total ainda é pouco conhecido. Outros estudos observaram que a curva da dose específica relacionada à formação dos metabólitos totais frente à exposição a altas concentrações de benzeno ($> 1 \text{ mg L}^{-1}$) atinge um platô que vem sendo atribuído a saturação no metabolismo, o que limita uma relação direta entre a formação de metabólitos e a dose de benzeno absorvida (KIM, 2006; RAPPAPORT et al., 2013; KIM et al., 2007).

Alguns efeitos resultantes da exposição aguda são: dor de cabeça, fadiga, tontura, irritação das mucosas, convulsões, excitação, depressão e eventualmente morte por falência respiratória (TUNSARINGKARN et al., 2013; ACGIH, 2003). A medula óssea é o principal órgão alvo de sua toxicidade (ATSDR, 2007; SORENSEN et al., 2003).

A exposição crônica a baixas concentrações de benzeno está associada a enfermidades, como a anemia aplástica e a leucemia (SAHMEL et al., 2013; INFANTE, 2011; PYATT et al., 2007; SCHNATTER et al., 2005). Há também estudos que sugerem que tal exposição em diferentes concentrações podem aumentar o risco de desenvolver linfoma não-Hodgkin (STEINMAUS et al., 2008; INFANTE, 2011; GALBRAITH et al., 2010; SMITH et al., 2007; SAVITZ e ANDREWS, 1997), mieloma múltiplo (INFANTE, 2011; GALBRAITH et al., 2010; INFANTE, 2006) e várias outras desordens hematopoiéticas. Outros efeitos resultantes da exposição aguda são irritação das mucosas, convulsões, excitação, depressão e eventualmente morte por falência respiratória (TUNSARINGKARN et al., 2013; ACGIH, 2003; ROSS, 2000).

A medula é o principal órgão alvo da toxicidade do benzeno (ATSDR, 2007; SORENSEN et al., 2003, SNYDER e HEDLI, 1996). Adicionalmente encontram-se relatos de que a exposição média de 8-9 horas por dia por um longo período induza alterações cromossomiais que levam à má formação do feto ou até mesmo a infertilidade do homem (MANDANI et al., 2013; KATUKAM et al., 2012; XING et al., 2010).

I.1.3. Exposição ao benzeno no Brasil

No Brasil, a preocupação com a exposição de determinados grupos populacionais ao benzeno teve início quando o Sindicato dos Metalúrgicos de Santos, na década de 80, denunciou a existência de inúmeros casos de leucopenia em trabalhadores da Companhia Siderúrgica Paulista (COSIPA), localizada em Cubatão e resultantes da exposição ocupacional (MACHADO et al., 2003). A partir desta denúncia, outros casos foram identificados em várias indústrias no País e outras foram identificadas como potenciais poluidoras. De fato, as principais fontes de produção do benzeno no Brasil encontram-se nos centros de produção petroquímica e refino de petróleo, que são responsáveis por aproximadamente 95% da produção nacional (COSTA, 2009).

Dentre estas, encontra-se o Pólo Industrial de Campos Elíseos (PICE) localizado no distrito de Campos Elíseos, município de Duque de Caxias / RJ.

Como consequência da crescente exposição e dos relatos de danos à saúde, em 1993 foi realizada em Belo Horizonte o “Seminário Nacional sobre Exposição ao Benzeno e outros Mielotóxicos” que resultou, inclusive, na revisão da NR-15 em seu tópico relativo ao benzeno, presente no Anexo 13 desta norma (BRASIL, 1995).

Em 1994, foi constituída uma Comissão Tripartite (Portaria 10 de 08/09/94) da qual participaram representantes dos Ministérios do Trabalho, Saúde e Previdência Social, dos empregadores e dos trabalhadores. A partir do trabalho realizado por esta Comissão foi criada a Comissão Nacional Permanente do Benzeno, e em 28/09/1995 foi pactuado, entre as partes envolvidas, o Acordo sobre o Benzeno.

Naquela ocasião ficou definido o VRT-MTP que é a concentração média ponderada pelo tempo e medida na zona respiratória do trabalhador, para uma jornada de 8 horas. Seus valores, conforme estabelecido no Anexo 13, são de 2,5 mg L⁻¹ para indústrias siderúrgicas e 1,0 mg L⁻¹ para outras indústrias.

De acordo com Norma Técnica do Ministério da Saúde (2006), a análise dos riscos relacionados a agentes químicos é atividade prioritária para qualificar a intervenção na vigilância em saúde. Esta Norma também reconhece a complexidade desta atividade que não deve se restringir meramente a uma determinação da concentração ambiental a que a população está exposta (BRASIL, 2006).

Embora esta Norma Técnica seja destinada prioritariamente à Saúde dos Trabalhadores, grupos populacionais que moram nas proximidades de fontes emissoras também estão sob risco e a exposição deve ser igualmente quali e quantificada.

Entre as ações negociadas por meio do Acordo do Benzeno, foi considerado prioritário o estabelecimento de um indicador biológico de exposição.

Obviamente este indicador deve ser entendido como um valor útil para a prevenção de possíveis enfermidades mas não expressa a certeza da ocorrência de patologias mesmo em uma pessoa exposta a valores superiores, em virtude da complexidade e variabilidade orgânicas e das características da exposição.

Para uma avaliação biológica, é necessário conhecer-se também os valores considerados “de referência”, medidos na população geral não exposta e que comparados àqueles determinados na população sob risco, possibilitam estimar-se a exposição e prever os riscos à saúde (FUSTINONI et al., 2010).

Diversos estudos científicos relacionados ao benzeno e desenvolvidos em âmbito nacional a partir do ano 2000, evidenciam a crescente preocupação com a exposição e com possíveis consequências para a população em geral. A coletânea de trabalhos encontrados compreende desde a avaliação ambiental utilizando como matriz o ar (GODOI et al., 2013; CARVALHO-OLIVEIRA et al., 2005; PARREIRA et al., 2002) ou a água/ alimentos (SANTOS et al., 2013), à avaliação biológica dos biomarcadores em urina (COUTRIM et al., 2000; VIEIRA et al., 2012; MENEZES et al., 2008; MARTINS e SIQUEIRA, 2004; PAULA et al., 2003; MARTINS e SIQUEIRA, 2002) e sangue (ALEGRETTI et al., 2004). Outros trabalhos foram direcionados para a verificação da suscetibilidade da população por meio da investigação de polimorfismos genéticos (ROSA et al., 2013; LIMA et al., 2009), bem como para avaliação dos efeitos genotóxicos (MORO et al., 2013; SANTIAGO et al., 2014; TREVISAN et al., 2014; ZUCCHI et al., 2005) e outros desfechos associados à exposição ao benzeno (MALUF et al., 2009; BRANDÃO et al., 2005).

I.1.4- Avaliação da exposição ambiental

Os rejeitos contendo benzeno são responsáveis pelas concentrações encontradas nos diversos tipos de ambientes (urbano, rural, externo e interno). Seu tempo de permanência na atmosfera é limitado por reações com radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$), que fazem com que esse tempo seja de apenas algumas horas ou dias (DIONÍSIO e ROHLFS, 2013). No entanto moradores de áreas localizadas na

vizinhança de indústrias ou outros locais onde se utiliza o benzeno sob a forma pura ou não, estão sob risco e assim constituem situações preocupantes (JOHNSON et al., 2007; PELALLO-MARTÍNEZ et al., 2014; FUSTINONI et al., 2012; STEFFEN et al., 2004).

Para controle da concentração de benzeno na atmosfera em ambientes de trabalho, a American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) adota os seguintes parâmetros e valores: a média ponderada pelo tempo, para 40h de exposição, (*time-weighted average*, TWA) 0,5 mg L⁻¹; e a concentração máxima (*short-term exposure level*, STEL/ Teto) 2,5 mg L⁻¹ (ACGIH, 2013).

O solo e as águas podem também ser contaminados por meio de rejeitos industriais e, principalmente, vazamento de tanques de gasolina. Isto faz com que populações expostas ocupacionalmente, ou que vivem em ambientes contaminados podem estar em contato com concentrações de benzeno capazes de produzir efeitos indesejáveis sobre a sua saúde (JOHNSON et al., 2007; PELALLO-MARTÍNEZ et al., 2014; FUSTINONI et al., 2012; STEFFEN et al., 2004).

I.1.5- Avaliação Biológica

A avaliação biológica é um instrumento importante no estabelecimento do Valor de Referência da Normalidade, definido pela NR-7 do Ministério do Trabalho e Emprego, como o valor do agente químico ou de seus metabólitos possível de ser encontrado em populações não ocupacionalmente expostas (BRASIL, 2010).

O conceito de Valor de Referência foi introduzido pelos pesquisadores Grasbeck & Saris na década de 60, citado por Apostoli (1999), como alternativa ao termo Valor Normal (valor associado à ausência de agravos à saúde ou valor

usualmente encontrado na população comum). Para Grasbeck & Saris, a principal diferença, entre os dois termos, resulta no fato do Valor de Referência considerar a partir de critérios metodológicos de avaliação, informações relevantes, como os fatores de confundimento, possivelmente presentes em diferentes grupos populacionais.

Os valores de referência são estabelecidos através da avaliação dos parâmetros biológicos que podem estar alterados como consequência da interação entre o agente químico e o organismo. Estes parâmetros são utilizados como indicadores biológicos ou biomarcadores sendo que devem possuir uma correlação com a intensidade da exposição e/ou com o efeito biológico provocado pela substância (AMORIM, 2003).

A Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais ratifica os valores de referência adotados pela ACGIH que prescreve como indicadores da exposição ocupacional ao benzeno a determinação dos ácidos S-Fenilmercaptúrico e trans,trans-mucônico, ambos à partir de amostra de urina coletada ao final da jornada de trabalho, e estabelece como Indicador Biológico de Exposição (BEI) os valores 25 $\mu\text{g. g}^{-1}$ creatinina e 500 $\mu\text{g. g}^{-1}$ creatinina, respectivamente (ACGIH, 2013).

Em linhas gerais, a avaliação biológica permite: o diagnóstico dos desvios das condições padrões do ambiente; a influência das características próprias de cada indivíduo; a estimativa da dose absorvida, evidenciando melhor os efeitos sobre a saúde do que a concentração ambiental; a identificação de outras vias de absorção, como a cutânea etc.

As diferenças individuais tornam algumas pessoas mais vulneráveis a ação de determinadas substâncias, seja devido a fatores endógenos (constituição

genética, antropométricos, estado de saúde) e/ou fatores exógenos (hábito de fumar, dieta alimentar, co-exposição).

Nesse sentido, a busca constante do entendimento da relação entre a exposição ambiental a uma substância tóxica e sua toxicocinética e toxicodinâmica, pode gerar novos e mais sensíveis biomarcadores.

Os fatores limitantes para a determinação da escolha do bioindicador a ser utilizado na avaliação biológica são o tempo de permanência no organismo após a exposição, a sensibilidade de cada um frente à exposição a baixas concentrações (JOHNSON et al., 2007; AMORIM, 2003; AUGUSTO e FREITAS, 1998), a sensibilidade e disponibilidade instrumentais e o custo. A avaliação biológica deve considerar ainda informações a respeito da coleta do material a ser analisado, como por exemplo, o momento da coleta (WEISEL, 2010).

Os biomarcadores mais utilizados

O ácido S-fenilmercaptúrico (S-PMA) é um metabólito alifático excretado pela urina, sendo que apenas 0,11% do benzeno absorvido é biotransformado neste produto. O tempo de meia vida de eliminação é de aproximadamente 10 horas, o que torna este metabólito um forte candidato a biomarcador de exposição devido ao fato de ter uma permanência maior quando comparado ao ácido trans,trans-mucônico (ttAM) no organismo (COUTRIM et al., 2000).

O ttAM é um metabólito alifático do benzeno, presente na urina (COSTA et al., 2000; COSTA, 2001) preconizado para a monitorização da exposição, através da Portaria número 34 de 20/12/2001 do MTE. Este tem o valor limite urinário de 500 $\mu\text{g. g}^{-1}$ creatinina (ACGIH, 2013). Segundo o estudo realizado por Coutrim e

colaboradores (2000), a concentração máxima deste metabólito no organismo ocorre 5,1 horas após uma jornada de trabalho (6-8 horas) sendo que apenas 3,9% do benzeno absorvido é excretado sob tal forma na urina.

No entanto, a utilização do ácido trans,trans-mucônico como indicador biológico apresenta uma série de fatores de confundimento (CAMPAGNA et al., 2013; HOET et al., 2009; COCCO et al., 2003), como a ingestão de ácido sórbico e seus sais que são muito utilizados na indústria alimentícia (PROTANO et al., 2012; GAGNÉ, 2012), a ingestão de bebida alcoólica (REKHADEVI et al., 2011), o tabagismo (WEISEL, 2010; LOVREGLIO et al., 2011), ou a exposição simultânea ao tolueno (LOVREGLIO et al., 2010; DUCOS et al., 2008) e aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (COUTRIM et al., 2000; HOPF et al., 2012).

Assim como o ttAM, o hábito de fumar atua como fator de confundimento nas análises do S-PMA. Em contrapartida, o nível do S-PMA na urina não sofre interferência da dieta. O S-PMA urinário possui um valor limite biológico de exposição de 25 $\mu\text{g. g}^{-1}$ creatinina (ACGIH, 2013).

Polimorfismos metabólicos

Os genes codificantes de diversas enzimas das rotas de metabolização do benzeno apresentam variações polimórficas, que podem alterar a eficiência enzimática com consequente aumento ou diminuição da concentração de metabólitos toxicologicamente relevantes. Estudos têm mostrado que os polimorfismos genéticos das enzimas CYP450 2E1 (CYP2E1) e NAD(P)H: quinona oxireductase 1 (NQO1) têm grande importância neste processo (DOUGHERTY et al., 2008; KIM et al., 2007; DE PALMA et al., 2013; ROSS e ZHOU, 2010; LAN et al., 2004). Por serem características individuais inerentes ao organismo exposto, estas

variações devem ser consideradas nas avaliações dos impactos potenciais sobre a saúde de grupos populacionais.

Citocromo P450 2E1- CYP2E1

Estudos recentes têm mostrado grande interesse no sistema enzimático CYP, pois sabe-se que este sistema tem intensa participação, principalmente na fase 1 do metabolismo da maioria das substâncias endógenas e xenobióticos, sendo mais citado no mecanismo de biotransformação de químicos orgânicos, como etanol, acetona e benzeno (MITRI et al, 2015; HATAGIMA et al., 2002; COURA et al., 2007; PICOLLI et al., 2010; TANG et al., 2010). Essa família de enzimas se faz presente em diversos locais no organismo humano, porém onde tem maior intensidade de expressão é o fígado (MITRI et al, 2015).

No genoma humano, este sistema enzimático é codificado por mais de 50 genes distribuídos em 10 grandes famílias, que possuem suas subfamílias e estas subdivididas em isoformas (MITRI et al, 2015; AUTRUP, 2000).

No metabolismo do benzeno a isoforma CYP2E1 é a mais ativa. A CYP2E1 catalisa a transformação do benzeno em BO e também a conversão de hidroquinona (HQ) e catecol em 1,2,4-trihidroxibenzeno (MITRI et al, 2015; ROTHMAN et al., 1997; BARRY et al., 2011; DE PALMA et al., 2013). A localização do gene CYP2E1 no genoma humano é no cromossomo 10, em 10q24.3. (MITRI et al, 2015; ROSSINI et al., 2006).

Os trabalhos descritos na literatura que objetivaram o estudo desta isoforma, relatam a presença de polimorfismos na região promotora em -1293 (sítio de

restrição da endonuclease *Rsal*) e na posição 7632 do gene (sítio de restrição da endonuclease *DraI*), cujas variantes estão associadas ao aumento da atividade enzimática e ao maior risco para o desenvolvimento de leucemia, provavelmente devido à elevada produção de intermediários tóxicos (TABELA 1) (MITRI et al, 2015; SEATON et al., 1994; DOUGHERTY et al., 2008, WANG et al., 2012).

NADPH:quinona oxidoreductase 1- NQO1

A enzima NQO1 atua preferencialmente na medula óssea e é considerada uma enzima de fase II no metabolismo de substâncias químicas. Na via de metabolização do benzeno, atua reduzindo as benzoquinonas a dihidroxi-quinonas, que são menos tóxicas (MITRI et al, 2015). Logo, quanto maior a atividade desta enzima, menor será a ação dos metabólitos intermediários reativos sobre o organismo (SNYDER et al., 1993; ROSS, 2000; NEBERT et al., 2002).

Na espécie humana, esta enzima localiza-se no cromossomo 16 (16q22.1) e apresenta um polimorfismo funcional com origem em uma substituição de bases C→T na posição 609 do gene, que determina a troca de um aminoácido prolina por uma serina na posição 187 da proteína (MITRI et al, 2015).

Estudos descrevem que a presença do alelo variante está relacionado à diminuição da eficiência enzimática e, conseqüentemente, da ação protetora da NQO1. Indivíduos portadores do genótipo homocigoto podem apresentar até ausência da atividade enzimática, como representado na TABELA 1 (ROSS, 2005; NEBERT et al., 2002).

TABELA 1. Relação entre os polimorfismos CYP2E1 -1293G→C e NQO1 609C→T e as respectivas consequências na metabolização do benzeno.

Genes	Variação Polimórficas	Fenótipo
CYP2E1	-1293G→C	Aumento da atividade enzimática Acúmulo de intermediários tóxicos. Aumento do risco.
NQO1	609C→T	Diminuição da atividade enzimática Acúmulo de intermediários tóxicos. Aumento do risco.

Sendo assim, há a necessidade da realização de estudos que promova a avaliação conjunta entre os biomarcadores, de susceptibilidade e de efeito, com avaliação hematológica em moradores residentes em torno de polos petroquímicos expostas ambientalmente ao benzeno, para encontrar possíveis justificativas da elevação de taxas de internações por leucemia nessas localidades.

CAPÍTULO II: OBJETIVOS

II.1- Objetivo Geral

Estudar a associação da exposição ambiental ao benzeno com alguns biomarcadores em residentes na área sob influência do Polo Industrial de Campos Elíseos, Baixada Fluminense.

II.2- Objetivos Específicos

1. Caracterizar, por meio do uso de questionários, a população em estudo;
2. Determinar a concentração do ácido fenilmercaptúrico urinário nos indivíduos do estudo;
3. Realizar o hemograma de cada participante para avaliar seus parâmetros hematológicos;
4. Analisar os polimorfismos metabólicos dos genes CYP2E1 (-1293G→C) e NQO1 (609C→T) como indicadores de susceptibilidade genética neste grupo populacional;
5. Investigar possíveis correlações entre os indicadores de susceptibilidade genética e as alterações hematológicas neste grupo populacional;
6. Investigar possíveis correlações entre os níveis do indicador de exposição ao benzeno S-PMA e as alterações hematológicas;

CAPÍTULO III: METODOLOGIA

III.1- Metodologia do estudo

Este projeto foi realizado no CESTEH e obteve aprovação pelo Comitê de Ética da ENSP (Parecer nº 971.927, CAAE: 40514415.0.0000.5240).

III.1.1- Desenho do estudo

O desenho utilizado para o estudo foi o observacional do tipo descritivo seccional, com a descrição da população residente na proximidade das indústrias petroquímicas. O tipo de amostragem adotada para a realização deste trabalho foi a amostragem por conveniência.

III.1.2- Área e população de estudo

A área geográfica escolhida para este estudo foi a região de Campos Elíseos, situada no município de Duque de Caxias, Baixada Fluminense do Estado do Rio de Janeiro (FIGURA 3), onde se localiza o Polo industrial de Campos Elíseos (PICE) cuja principal atividade é a petroquímica.

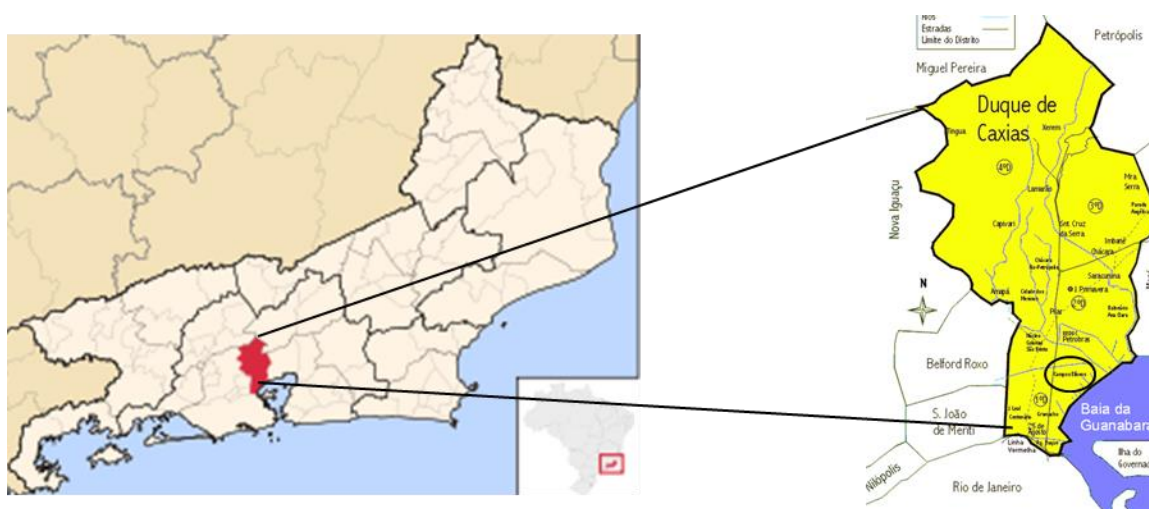


FIGURA 3. Mapa representativo do Estado do Rio de Janeiro e em destaque o mapa de Duque de Caxias, onde região circulada é a área de estudo, Campos Elíseos.

Este pólo possui 26 empresas petroquímicas, transformadoras e termoelétricas e é o segundo pólo industrial da Região Metropolitana e do Estado do Rio de Janeiro, respondendo por 27,1% do valor da produção (VP), sediando aproximadamente 5,2% das empresas do estado e cerca de 7% das empresas da Região Metropolitana. O pólo Gás-Químico desta região é o primeiro do Brasil e considerado o maior complexo do gênero da América Latina, onde é registrado o maior investimento privado no estado nas últimas três décadas, gerando 400 empregos diretos e 350 indiretos (<http://portal.baixadaon.com.br/duque-de-caxias/historia-de-duque-de-caxias-rj>).

Com o custo de US\$ 1,08 bilhão, o pólo pode produzir anualmente 540 mil toneladas de polietilenos e sua implantação está trazendo empresas transformadoras de plástico para a cidade e toda a região.

Esta região abriga indústrias como a Refinaria de Caxias (REDUC), que é a maior unidade industrial da área do Grande Rio, e a Fábrica de Borracha Sintética (FABOR), indústrias essas, que foram de grande importância para o desenvolvimento da região, como mostra a FIGURA 4.

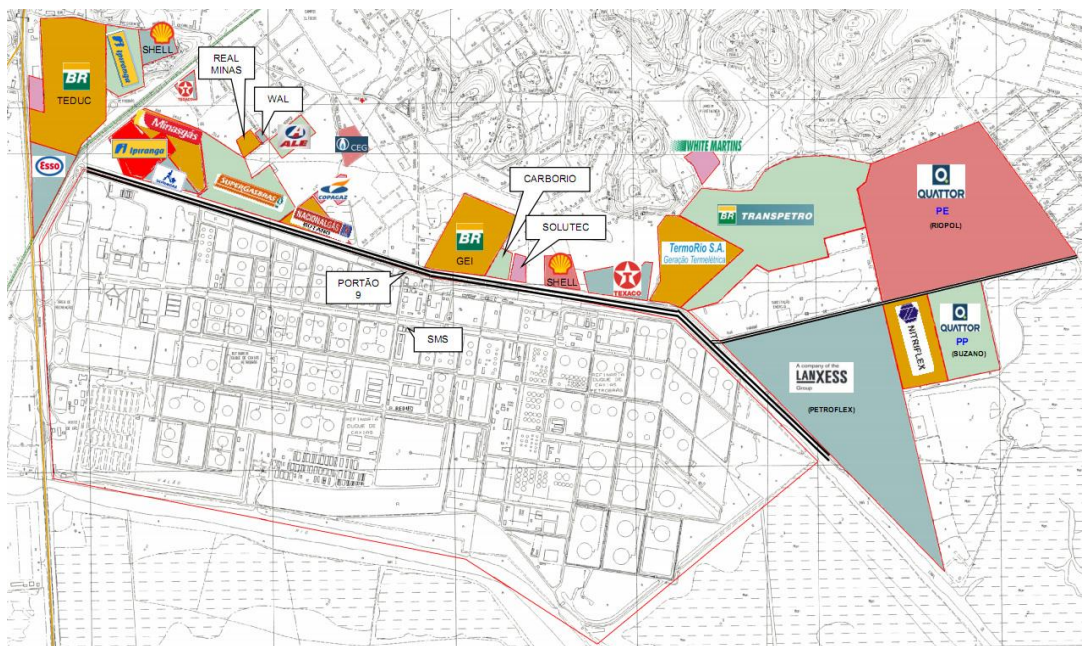


FIGURA 4. Conjunto de empresas que atualmente constituem o Pólo Industrial de Campos Elíseos e suas localizações na comunidade (http://www.apellce.com.br/mapa_de_acesso.php).

Em torno da REDUC (que produz combustíveis, nafta, GPL, etc.), surgiu uma série de indústrias químicas, algumas de grande porte e associadas à refinaria como a PETROFLEX, NITRIFLEX e outras independentes, além de um conjunto de médias e pequenas empresas produtoras de resinas, tintas, velas, parafinas e outros produtos químicos.

Atualmente também é possível observar que alguns segmentos industriais vêm ganhando importância, como é o caso das confecções têxteis, indústria moveleira e a de alimentos. Diante disso, se pode considerar que, com exceção do complexo da Petrobrás, o parque industrial de Duque de Caxias é formado por médias e pequenas empresas (<http://portal.baixadaon.com.br/duque-de-caxias/historia-de-duque-de-caxias-rj>).

Esta região é área de baía próximo de manguezais e que possui uma população estimada de 19.168 habitantes com uma desigualdade na distribuição de renda, apresentando sérios problemas urbanos e estando sujeita à contaminação ambiental de origem industrial, como mostrado na FIGURA 5.



FIGURA 5. Situação comum em Campos Elíseos, onde moradias são afixadas próximas aos tanques de distribuidoras de combustíveis do Pólo Petroquímico. Fonte: Raulino, S.F. (2009) citado em VAZ, 2013.

Segundo o projeto APELL-CE (Sistema de Resposta para Emergências Externas do Pólo Industrial de Campos Elíseos), criado em 1991, pela superintendência da REDUC com orientações do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA), existem localidades do distrito de Campos Elíseos classificadas como Áreas Vulneráveis, isto é, regiões nas quais se houver acidente podem ser necessárias evacuações e Áreas de Triagem, locais que podem receber a população deslocada (RIOS, 2011). Dentre os locais classificados como vulneráveis pode-se citar a área de estudo do presente trabalho, o centro de Campos Elíseos, conforme mostra as FIGURAS 6 e 7.

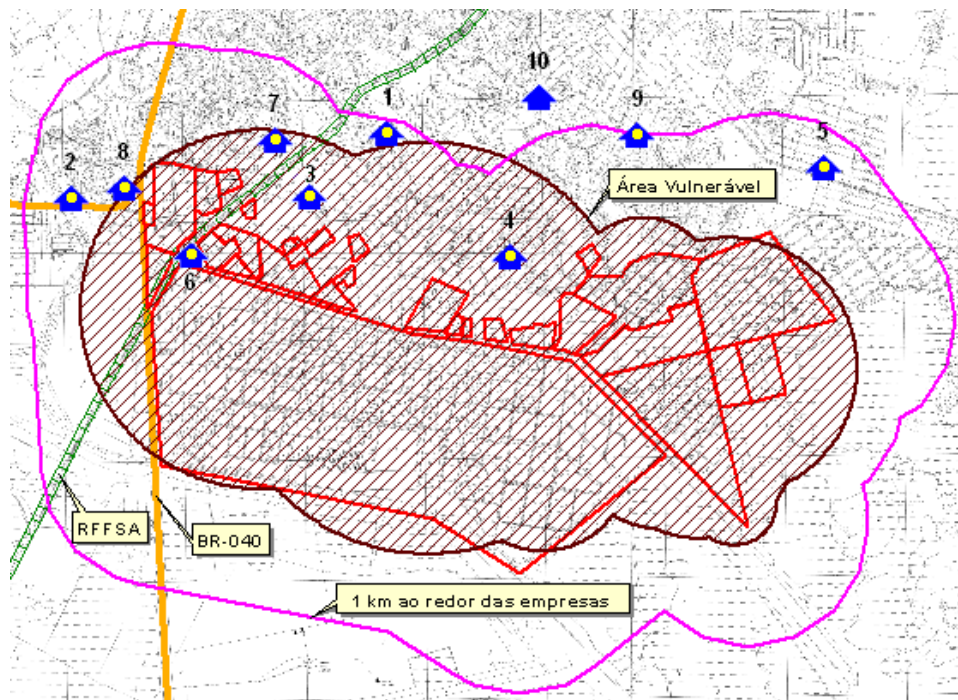


FIGURA 6. Mapa com a área vulnerável do polo, considerando os cenários de acidentes com maior alcance das empresas. 1.Marilândia; 2. Pilar; 3. Centro de Campos Elíseos; 4. Saraiva; 5. Ana Clara; 6.Vila Serafim; 7. Parque Império; 8. Nosso Bar; 9. Bom Retiro; 10. Parque Moderno (http://www.apellce.com.br/mapa_area_vulneravel.php).

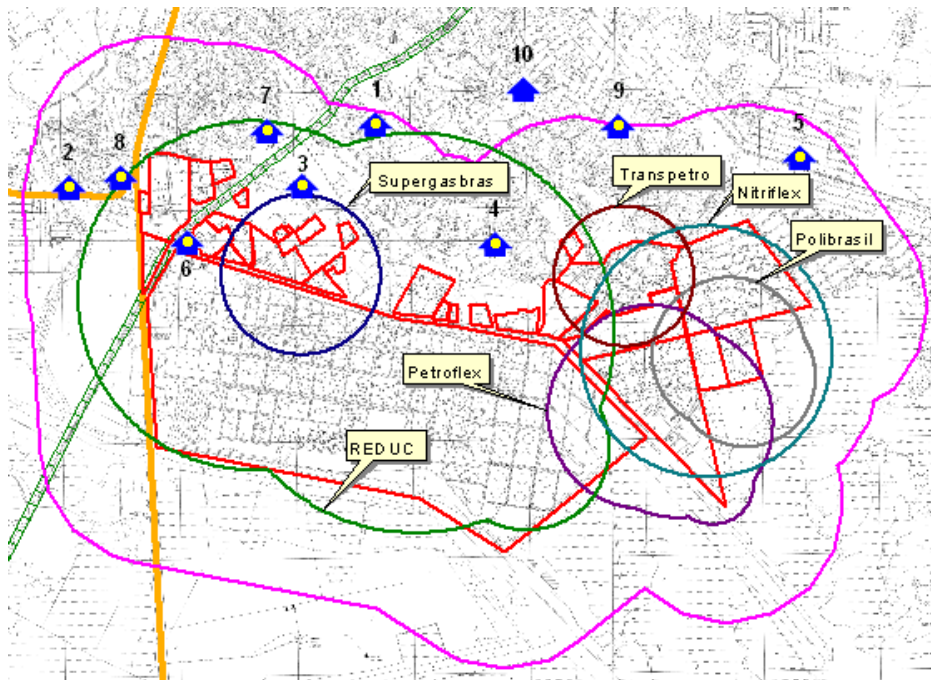


FIGURA 7. Mapa com a área vulnerável de cada empresa. 1.Marilândia; 2. Pilar; 3. Centro de Campos Elíseos; 4. Saraiva; 5. Ana Clara; 6.Vila Serafim; 7. Parque Império; 8. Nosso Bar; 9. Bom Retiro; 10. Parque Moderno (http://www.apellce.com.br/mapa_area_vulneravel.php).

Quanto à população residente nesta localidade, é possível observar que a distribuição da faixa etária se concentra na região jovem (FIGURA 8), a proporção entre homens e mulheres praticamente se iguala e tem média de 3 moradores por residência (TABELA 2).

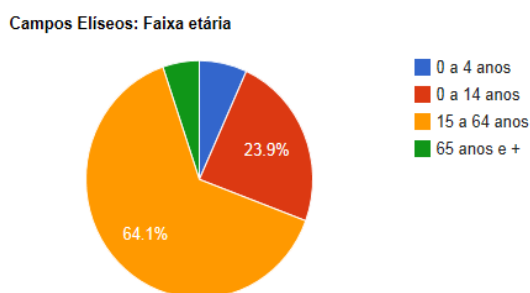


FIGURA 8. Representação da distribuição etária da população residente em Campos Elíseos. Fonte: Censo 2010 (http://populacao.net.br/populacao-campos-eliseos_duque-de-caxias_rj.html).

TABELA 2. Alguns dados informativos sobre a população de Campos Elíseos.

Variável	Valor
Domicílios Particulares Permanentes	6.312
População Residente	19.168
População Homens	9.424
População Mulheres	9.744
Razão de Dependência Jovens	37.1%
Razão de Dependência Idosos	8.2%
Razão de Dependência Total	45.3%
Índice de Envelhecimento	22%
Razão de Masculino x Feminino	96.7%
Razão Crianças-Mulheres	28.8%
Média de moradores por Domicílios	3.2
Proporção de domicílios ocupados	93.8%
Proporção de domicílios não ocupados	6.2%

Fonte: Censo 2010 (http://populacao.net.br/populacao-campos-eliseos_duque-de-caxias_rj.html).

Ao realizar o cálculo da razão da taxa de internação por leucemia no período de 2006 a 2014 registrada no Sistema Único de Saúde (DATASUS) dos municípios do Estado do Rio de Janeiro situado na região metropolitana e que possuem características semelhantes de políticas de saúdes adotadas em cada localidade e

na distribuição industrial e rural de cada município, o município de Duque de Caxias ficou entre os cinco municípios com maiores valores (TABELA 3).

TABELA 3. Razão de taxa de internações por leucemia em adultos registradas nos municípios da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro no período de 2006 a 2014.

Municípios	Razão de Taxa (IC95%)	
	Masculino	Feminino
Macaé	6.12 (3.03-11.98)	2.49 (1.12-5.85)
Queimados	5.18 (2.55-10.67)	6.77 (3.12-15.19)
Itaboraí	4.50 (2.28-9.19)	5.53 (2.53-12.02)
Rio de Janeiro	4.07 (2.10-7.80)	4.20 (2.04-9.00)
Itaguaí	4.01 (1.87-8.33)	3.74 (1.58-8.76)
São Gonçalo	3.93 (2.07-7.82)	3.62 (1.72-7.76)
Magé	3.85 (1.90-7.77)	5.16 (2.37-11.30)
Nilópolis	3.70 (1.87-7.93)	3.69 (1.65-8.38)
São João de Meriti	3.64 (1.79-6.99)	4,11 (1.95-8.97)
Niterói	3.57 (1.78-6.90)	3.12 (1.47-6.82)
Japeri	3.53 (1.62-7.65)	1.94 (0.72-5.16)
Nova Iguaçu	3.25 (1.68-6.43)	2.66 (1.27-5.84)
Duque de Caxias	3.18 (1.64-6.27)	5.27 (2.53-11.36)
Belford Roxo	2.70 (1,39-5.50)	2.39 (1.10-5.27)
Mesquita	1.98 (0.94-4.41)	4.15 (1.92-9.55)
Maricá	1.55 (0.67-3.58)	3.77 (1.63-8.60)
Tanguá	0.47 (0.06-3,77)	4.46 (1.53-12.47)

Fonte: BARATA-SILVA, 2016.

Critério de inclusão

O grupo de estudo foi formado por indivíduos que residiam até 1000 metros de distância do pólo petroquímico na região de Campos Elíseos. Este foi composto por adultos (idade \geq 18 anos) do sexo masculino e feminino, de diferentes faixas etárias e raças e que residiam em Campos Elíseos há pelo menos 3 meses. Estes deviam estar dispostos a fornecer material biológico.

Por meio de uma conversa informal e individual com os participantes do estudo foram explicitados: a ausência de riscos agregados no processo de coleta de amostras; os objetivos e a relevância do estudo para a saúde; e que os sujeitos da pesquisa seriam protegidos por meio do anonimato e os dados tratados de forma confidencial.

Os indivíduos que concordaram em participar da mesma, assinaram o termo de consentimento, conforme exigência do Ministério da Saúde, Resolução N° 466/2012 sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

III.2. Coleta de informações

No primeiro momento, os participantes responderam a um questionário semi estruturado (ANEXO C) com objetivo de caracterizar a exposição e obter dados sociodemográficos e informações relativas aos hábitos alimentares, rotina diária, condições de moradia, histórico de saúde e doença, dentre outras. Foram levantadas também, informações para identificação de fatores de confundimento do estudo. Os dados coletados foram analisados a fim de investigar possíveis associações exposição-desfecho; e por fim, caracterizar o risco ao qual estes moradores estão submetidos no ambiente em que habitam.

III.3. Coleta de materiais biológicos

As amostras biológicas foram coletadas de cada participante após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B) e responderem ao questionário semi-estruturado.

As amostras de urina foram coletadas em frascos de polietileno em volume de aproximadamente 20 mL e seguiram para o Laboratório de Toxicologia do CESTEh,

onde foram acondicionadas em ultrafreezer (-80°C) até a análise laboratorial. Estas foram realizadas no setor de Toxicogenética do Laboratório de Toxicologia do CESTEH.

Enquanto as amostras sanguíneas foram coletadas em dois tubos à vácuo contendo anticoagulante heparina, sendo um para a realização de exame de hemograma no Laboratório de Diagnóstico, Ensino e Pesquisa do Centro de Saúde Escola Germano Sinval Faria/ENSP (CSEGSF/ENSP/FIOCRUZ); e o outro, para as análises moleculares, foi armazenado em ultrafreezer (-80°C) no no setor de Toxicogenética do Laboratório de Toxicologia do CESTEH.

III.4- Organização e caracterização dos grupos de estudo

Para caracterizar os grupos de estudo, foi aplicado um questionário semi estruturado com a finalidade de se conhecer as variáveis: sexo, raça, idade, escolaridade, profissão, como também, verificar a frequência de manuseio com produtos químicos, o consumo de bebida alcoólica, e o hábito de fumar em seu círculo de convivência.

Os dados obtidos foram utilizados para minimizar a influência das variáveis de confundimento; promover a definição do perfil dos moradores da região exposta e delinear os hábitos comuns; obter com precisão e qualidade sintomas relevantes para ser possível uma futura associação exposição-desfecho e, caracterizar o risco em que estes residentes estão submetidos no ambiente de suas moradias.

III.5- Procedimento analítico

III.5.1. Análise de ácido S-fenilmercaptúrico urinário

O ácido S-fenilmercaptúrico foi determinado por meio da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa sequencial (CLAE-EM/EM), utilizando como referência a metodologia descrita por Gomes, 2016.

Preparo das soluções padrão de S-PMA

A partir de uma amostra de S-PMA de referência (pureza > 99%), foi preparada uma solução padrão estoque em metanol na concentração de $1,0 \cdot 10^2$ mg L⁻¹, utilizando uma balança analítica com precisão de 0,1 mg (Mettler® AE 200). A partir desta, duas soluções padrões intermediárias foram preparadas: uma na concentração 1000 µg L⁻¹ e outra de 100 µg L⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas em frascos âmbar e mantidas à temperatura de -20 °C até o momento das análises.

Procedimento de Extração

Para tal foi utilizado a extração líquido-líquido por partição em baixa temperatura (LLE-LTP). Este procedimento consiste na adição de uma quantidade reduzida de um solvente orgânico na amostra e posteriormente a mistura obtida é refrigerada a -20 °C, por no mínimo 3 horas. Sob estas condições, a fase aquosa solidifica-se e há separação do solvente orgânico com formação de uma fase sobrenadante contendo o analito solubilizado, a qual é removida e analisada (GOMES, 2016). As vantagens deste método de extração são o baixo custo, devido ao reduzido consumo de material e solventes; a simplicidade de sua aplicação, uma vez que possui um número de etapas reduzido e a obtenção de um extrato límpido com um pequeno volume de amostra (GOMES, 2016).

Sendo assim, uma alíquota de 600 μL de urina de cada participante foi transferida para um microtubo e então adicionados 30 μL de ácido clorídrico (HCl) 6 mol.L^{-1} . Esta etapa de hidrólise ácida se faz necessária para converter todo o SPMA conjugado (pré-SPMA) em S-PMA, uma vez que grande parte do S-PMA é excretado sob a forma de N-acetil-S (1,2-di-hidro-2-hidroxifenil) -L-cisteína (GOMES, 2016; TUAQUILA, 2013). Posteriormente, a amostra acidificada foi agitada em um misturador vórtex por 1 minuto e deixada em repouso por 10 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 1600 rpm. Ao término desta etapa, foram adicionados 600 μL de acetonitrila, seguido de nova agitação por 1 minuto e centrifugação por 10 minutos. Após esta etapa, as amostras foram submetidas ao congelamento da fase aquosa sob temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, *overnight*. Ao final, a fase orgânica foi retirada com o auxílio de uma micropipeta, e 100 μL da mesma foram transferidos para um *vial* com *insert*, como ilustrado na FIGURA 9.

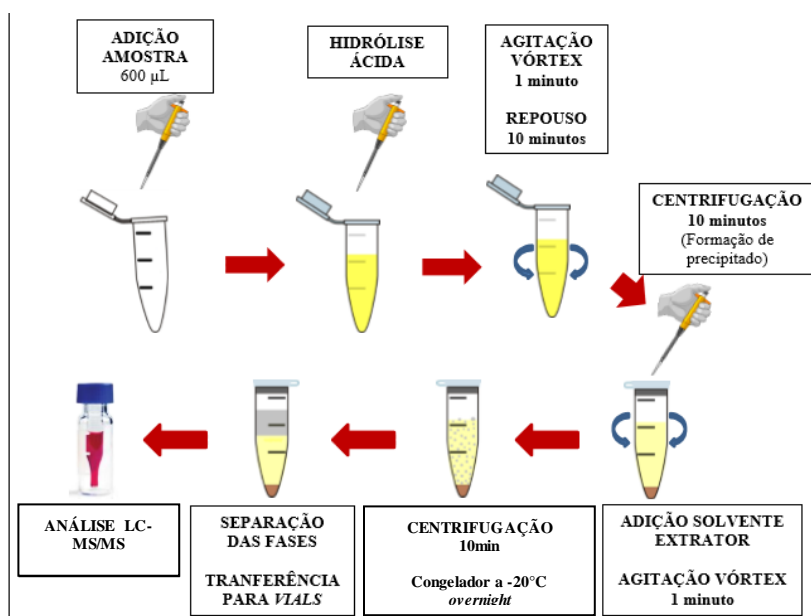


FIGURA 9. Ilustração do procedimento LTPE utilizado na etapa de extração de SPMA da amostra. Fonte: Adaptado de GOMES, 2016.

Condições cromatográficas e de detecção no espectrômetro de massas

A análise do S-PMA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a espectrometria de massas sequencial, tandem-MS, do tipo triplo quadrupolo usando fonte de ionização por eletronebulização (ESI). O cromatógrafo utilizado foi o cromatógrafo em fase líquida, marca Thermo Scientific®, modelo Surveyor e o espectrômetro de massas com triplo quadrupolo, marca Thermo Scientific®, modelo TSQ Quantum, com software Xcalibur®, como representado nas FIGURAS 10 e 11.

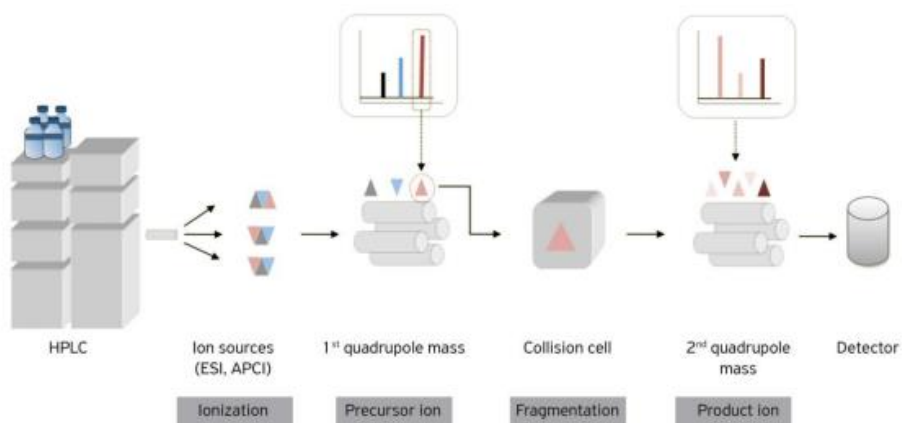


FIGURA 10. Esquema do acoplamento da técnica de CLAE com EM/EM.

Fonte: ROSA, 2017.



FIGURA 11. Foto do cromatógrafo em fase líquida, marca Thermo Scientific®, modelo Surveyor e o espectrômetro de massas com triplo quadrupolo, marca Thermo Scientific®, modelo TSQ Quantum, com software Xcalibur® utilizado na análise do S-PMA.

Fonte: Da autora, 2017.

As condições espectrométricas foram otimizadas a partir de infusão direta do padrão de S-PMA a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Determinadas as relações m/z do analito e o modo de ionização (positivo ou negativo), fez-se a regulagem da voltagem do spray (spray voltage), do gás de bainha (sheath gas), do gás de contracorrente (ion sweep gas), do gás auxiliar (auxiliary gas), da temperatura do capilar (capillary temperature), da voltagem da lente do tubo de transferência (tube lens offset), da voltagem do skimmer (skimmer offset), da pressão de colisão (collision pressure) e energia de colisão (collision energy).

Para a realização da separação cromatográfica foi usada a coluna ACE 3 C18-HL 150 x 3,0 mm. Para a seleção da fase móvel foi realizado uma série de testes (TABELA 4) com diferentes solventes como ácido acético, metanol e água em soluções com diferentes pH e proporções durante o processo cromatográfico. A utilização de fases móveis em gradiente permitiu a variação da polaridade durante a corrida para, assim, promover uma melhor separação do S-PMA dos interferentes presentes na urina (ROSA,2017).

TABELA 4. Testes das condições cromatográficas para o desenvolvimento do método.

TESTE	TEMPO (min)	Ácido acético aquoso 1% (%)	Ácido acético metanólico 1% (%)	H ₂ O pH 4,50 (%)	Metanol pH 4,50 (%)	Fluxo mL min ⁻¹	Energia de Colisão	Voltagem do spray (V)
1	0-1	99,0	1,0			0,3	10	3500
	1-8,5	15,0	85,0			0,3		
	8,5-9,5	5,0	95,0			0,3		
	9,5-12	5,0	95,0			0,4		
	12-13	99,0	1,0			0,4		
	13-15	99,0	99,0			0,4		
2	0			95,0	5,0		10	3500
	1			95,0	5,0			
	8,5			15,0	85,0			
	9,5			5,0	95,0	0,3		
	12			5,0	95,0			
	13			95,0	5,0			
3	0			80	20		10	3500
	1			80	20			
	2			50	50			
	5			50	50	0,3		
	5,5			80	20			
	8			80	20			
4	0			80	20		10	3500
	1			80	20			
	3			60	40			
	5			50	50	0,3		
	6			80	20			
	8			80	20			
5	0			90	10		10	3500
	1			90	10			
	3			60	40			
	5			40	60	0,3		
	7			80	20			
	8			80	20			
6	0			95	5		10	3500
	5			80	20			
	6			70	30			
	7			50	50	0,3		
	8			80	20			
	9			95	5			

7	0	95	5	0,3	20	3500
	5	80	20			
	6	70	30			
	7	50	50			
	8	80	20			
8	9	95	5	0,3	20	4000
	0	95	5			
	5	80	20			
	6	70	30			
	7	50	50			
9	8	80	20	0,3	10	4000
	9	95	5			
	0	95	5			
	5	80	20			
	6	70	30			
10	7	50	50	0,3	10	4000
	8	80	20			
	9	95	5			
	0	95	5			
	1	95	5			
	8,5	15	85			
11	9,5	5	95	0,3	10	4000
	12	5	95			
	13	95	5			
	15	95	5			
	0	95	5			
	1	95	5			
12	8,5	15	85	0,3	10	4000
	9,5	5	95			
	12	5	95			
	13	95	5			
13	15	95	5	0,5	10	4000
	0	50	50			
	5	5	95			
	11	50	50			
14	15	50	50	0,5	10	4000
	0	50	50			
	3	5	95			
	8	5	95			
	8,5	50	50			
15	9	50	50	0,5	10	4000
	0	50	50			
	3	5	5			
	10	5	5			
	10,5	50	50			
	20	50	50			

Para a otimização das condições cromatográficas e de detecção no espectrômetro de massas foi utilizado um “pool” de urinas, considerado como “branco”, doada pelos trabalhadores não fumantes do Laboratório de Toxicologia do CESTE. Alíquotas deste pool foram fortificadas com solução-padrão de S-PMA em diferentes concentrações para a construção da curva analítica contendo 6 pontos e para determinar a recuperação do método de extração LPTE. Todas as soluções foram preparadas em triplicata. Além disso, esse “pool” de urina foi utilizado também na quantificação das amostras. A cada dia de análise foi feito um ensaio em branco, uma curva analítica em urina e a avaliação da recuperação, como descrito em ROSA, 2017.

Parâmetro para Quantificação em CLAE-EM/EM

Os parâmetros para quantificação em CLAE-EM/EM são utilizados para a realizar de forma correta a aquisição dos dados no espectrômetro de massas e definem como ocorrerá a análise dos resultados gerados em cada estudo (ROSA,2017).

Para o presente estudo, foi realizada uma extensa pesquisa bibliográfica a fim de se obter o conhecimento e aplicar os critérios existentes na literatura para quantificação do S-PMA por CLAE- EM/EM. Porém, não foi encontrado na literatura nenhum estudo ou instrução normativa que descreva esses parâmetros para análise de S-PMA em matrizes biológicas.

Sendo assim, a quantificação de S-PMA por CLAE-EM/EM, com triplo quadrupolo, foi realizada pelo modo de monitoramento de reações múltiplas e a razão entre os íons de quantificação e de confirmação de cada amostra deveria estar compreendida num intervalo determinado pelo valor da média do coeficiente

de variação calculado em cada curva diária dos padrões analíticos. Além disso, o tempo de retenção dos íons nas amostras reais deveria ser semelhantes ao dos padrões analisados no mesmo dia, além do formato e na razão de resposta.

A quantificação final de S-PMA urinário nas amostras foi realizada pelo método de padronização externa. Este método utiliza a equação da reta obtida no experimento da curva de calibração realizado com 6 níveis de concentração em triplicata para o cálculo da concentração através da área do íon 109 m/z obtida em cada amostra.

Determinação de Creatinina

A análise da concentração de creatinina nas amostras de urina foi realizada por meio do *Kit* colorimétrico da Doles® pelo método espectrofotométrico com medida direta, pela reação com ácido pícrico em meio alcalino, após desproteinização (ROSA, 2017).

III.5.2. Determinação dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609

C>T

A determinação dos polimorfismos de todos os participantes foi feita por meio de genotipagem, utilizando a técnica da *Polimerase Chain Reaction* (PCR) em Tempo Real para amplificação do fragmento polimórfico e identificação dos genótipos.

Para ambos, foram utilizadas como *template*, amostras de DNA de cada indivíduo obtidas através de extração de DNA genômico pela técnica de *Salting-Out a partir* de alíquotas de 500 µL de sangue total.

A quantificação do DNA extraído foi realizada por fluorescência, utilizando o fluorômetro Qubit 2.0 (Invitrogen, Life Technologies, CA, USA). A fins de cálculo, a relação de 50µg mL⁻¹ de DNA por densidade ótica, foi adotada.

A PCR em Tempo Real foi feita em placas de 96 poços em volume final de 8µL, contendo 1x 4 µL de TaqMan® Genotyping Master Mix (Thermo Fisher Scientific), 1x 0,5 µL da sonda TaqMan® SNP Genotyping Assay (Thermo Fisher Scientific) específica para cada polimorfismo, CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T (tabela 5). As condições de amplificação fixadas no termociclador seguiram as recomendações sugeridas pelo fabricante das sondas.

TABELA 5. Sequências das sondas Taqman utilizadas para os ensaios de genotipagem dos polimorfismos por PCR em tempo real.

SNP	Gene	Posição/Troca	Sonda VIC/FAM	Sonda/Primer
rs3813867	CYP2E1	-1293 G>C	(VIC) G> C (FAM)	AACGCCCTTCTTGGTTCAGGAGAG[G/C]TGCACT GTTAGGTGCAGCACAACCA
rs1800566	NQO1	609 C>T	(VIC) A> G (FAM)	TGCCCAATGCTATATGTCAGTTGAG[A/G]TTCTAAG ACTTGGAAAGCCACAGAAA

III.6- Análise estatística

Como suporte para o tratamento estatístico, foram utilizados os programas Excel e SPSS Statistics v.20. Primeiramente foram analisados a frequência de cada variável investigada, como características da população, a concentração de S-PMA

urinário, os parâmetros do hemograma e os polimorfismos metabólicos. Posteriormente, a distribuição dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Como obteve-se uma distribuição normal para as variáveis referentes ao hemograma e nível de S-PMA urinário foi possível aplicação de testes paramétricos. Para verificar possíveis diferenças das médias das concentrações do ácido S-fenilmercaptúrico urinário, tempo de moradia, fumo e polimorfismo metabólico foi utilizado o teste de Man-Witney. Associações entre os polimorfismos, dados do hemograma, patologias e os níveis de S-PMA urinário foi investigada através da razão de risco (Odds ratio).

A representação dos valores de referência foi expressa em termos de valores médios, desvio padrão e intervalo de confiança de 95%.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Estudo na população alvo

Para realização deste trabalho, primeiramente foi promovido um encontro com a população no salão paroquial da comunidade (ponto de apoio). Neste momento, foram apresentados os objetivos do trabalho, através de apresentação oral e esclarecidas as dúvidas surgidas durante essa sensibilização.

A população recrutada para a efetivação deste estudo era formada por moradores que voluntariamente concordaram em participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O indivíduo era incluído no estudo se respondesse ao questionário e doasse urina e sangue para as análises. Ao final, 194 moradores da região se voluntariaram para participar, porém 4 indivíduos não forneceram quantidade de amostra sanguínea suficiente para as análises laboratoriais. Logo, o presente trabalho teve um tamanho de amostra de 190 indivíduos.

IV.1.1. Perfil da população

Ao traçar um perfil quanto ao gênero e idade da população avaliada, foi possível observar a predominância feminina no estudo (72%). Ao analisar a idade da população, observou-se que a média era de 55 anos e a variação foi de 20 a 86 anos. A FIGURA 12 representa graficamente a distribuição etária desta população.

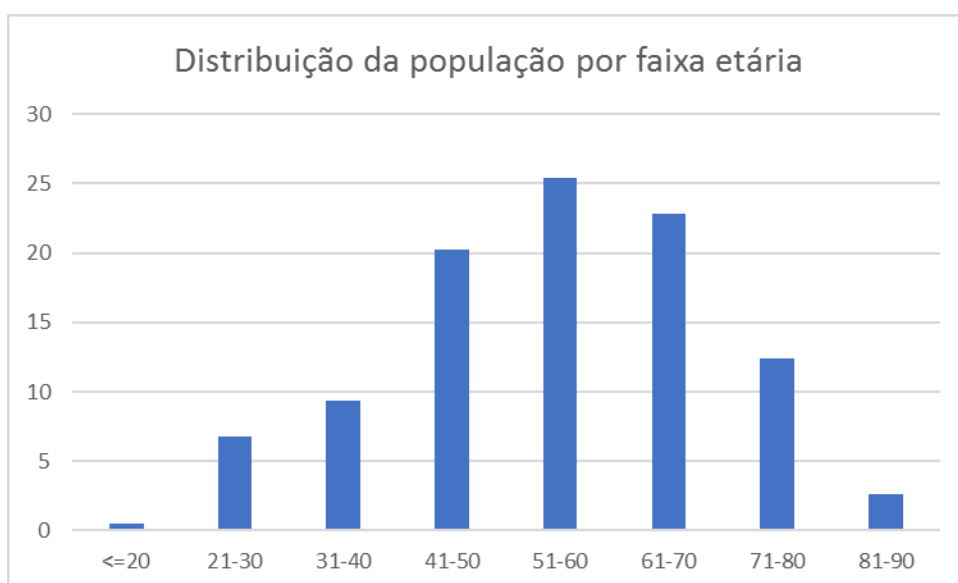


FIGURA 12. Representação gráfica da distribuição da população estudada em faixas etárias.

A classificação de cada indivíduo na variável etnia foi realizada no momento da entrevista por auto-declaração do participante. Observou-se que a maioria (47%) se declarou Pardo e que cerca de 4% não souberam ou não quiseram se classificar em uma das categorias apresentadas.

Durante a realização deste trabalho, foi relatado pelos moradores que o distrito de Campos Elíseos não possuía número de escolas públicas suficientes para atender toda a população e que o acesso ao ensino profissionalizante era inexistente. Sendo assim, para ter acesso à educação, os moradores tinham que se deslocar para outras regiões que possuíssem disponibilidade de vagas ou ingressar no sistema privado de educação.

Apesar dessa dificuldade, cerca de 38% dos entrevistados declararam ter cursado ou estarem cursando o Ensino Médio e apenas 6% se classificou como analfabeto funcional ou sem nenhum estudo. Essa porcentagem é mais baixa do que aquela observada a nível nacional de cerca de 9% (MEC, 2017). Em relação ao

ensino superior, apenas 9% relatou ter tido acesso a esse nível da educação, o que ressalta a carência de instituição básica de ensino com qualidade que permita o acesso dos alunos egressos de instituições públicas em universidades.

Em relação à ocupação, cerca de 64% da população avaliada encontrava-se sem trabalhar no momento, sendo uma pequena parcela de aposentados e a maioria de desempregados. Ao questionar a ocupação anterior, nos casos que se declararam desempregados, foi observado que diversos indivíduos haviam trabalhado no pólo petroquímico da região e devido à crise econômica, redução de gastos e carência de qualificação perderam seus empregos, ainda não tinham conseguido uma recolocação no mercado de trabalho.

A avaliação das condições sociais foi realizada tendo como base um conjunto de variáveis, como renda familiar, tipo e constituição estrutural da moradia, número de moradores e de cômodos em cada residência.

A renda familiar desta população é em média inferior a R\$ 1760,00, o que representa dois salários mínimos. A distribuição de renda familiar na população de Campos Elíseos é mostrada na FIGURA 13. Na maioria das vezes, foi declarada que a única fonte de renda da família era oriunda da aposentadoria do patriarca/matriarca ou de auxílio fornecido pelo governo, nos casos de desemprego e programas sociais. Esta é a base de sustento de cerca de três moradores, em média, uma vez que aproximadamente 33% dos participantes disseram que era esse quantitativo que viviam em sua residência, além dele.

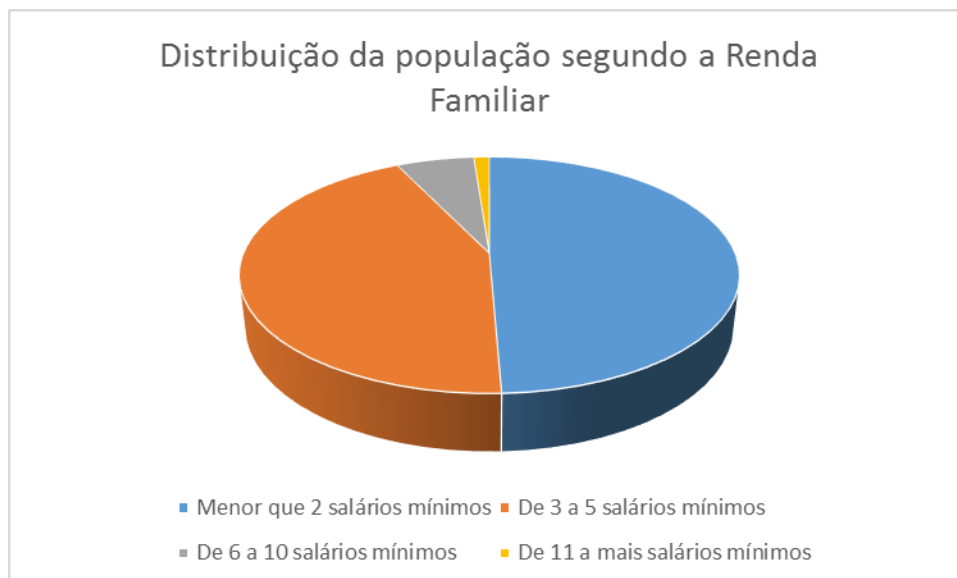


FIGURA 13. Representação gráfica da distribuição da população alvo segundo a renda familiar.

Em relação ao número de cômodos existentes em cada moradia, foi observado que cerca de 55% declararam que em sua residência tinha de 6 a 10 cômodos, incluindo nessa contagem cozinha, banheiro, quarto e sala. Quando se realiza o cálculo da densidade de moradores por cômodos, verifica-se que a maioria dos domicílios possuía até 0,5 morador por cômodo. Este dado é concordante com o obtido no CENSO 2010 para o Estado do Rio de Janeiro, para a região da Baixada Fluminense e para o município de Duque de Caxias (IBGE, 2010).

Quanto à constituição estrutural das residências, cerca 100% dos entrevistados descreveram sua moradia como sendo de alvenaria e cerca de 90% declararam morar em casa própria. Apesar de se tratar de uma região carente, que sofre com restrições de diversos serviços de urbanização, nenhum participante relatou viver em casa de materiais como madeira ou mesmo papelão.

Quanto a atuação do poder público naquela região, notou-se que tanto a energia elétrica quanto a coleta pública de lixo se fazia presente na totalidade das residências dos participantes. Ao contrário deste cenário, o fornecimento de água pela a empresa responsável por tal serviço, CEDAE, era ausente. Como alternativa, a população buscou acesso à água através da construção de poços artesianos em suas residências ou por realização de instalações ilegais que conectavam encanamentos particulares nas tubulações de água destinada às torres de resfriamento da REDUC/ PETROBRAS.

O agravante nesses tipos de fornecimento de água é a inexistência de serviço para garantia da qualidade da água consumida, uma vez que a água de resfriamento e de poços artesianos possuem características físico-químicas e biológicas que as tornam impróprias para o consumo humano (COUTO, 2014; COLVARA, 2009).

Como consequência deste consumo, seja pela ingestão direta, ou em outras atividades, como cozimento dos alimentos e banho, pode ocorrer o aumento da incidência de doenças de veiculação hídrica que juntamente com a ausência de saneamento básico se torna um grave problema de saúde pública, geralmente negligenciado pelas autoridades competentes (AYACH et al., 2012).

O questionário também abordou o estado de saúde atual e do ano anterior de cada participante sob a forma de auto declaração. Dentre os problemas de saúde atuais mais citados, encontrou-se a hipertensão, diabetes e alterações tireoidianas. Quanto o adoecimento no último ano (relativo ao ano de 2015), cerca de 62% responderam que não tiveram qualquer morbidade relevante.

Um relato constante feito pelos participantes é a dificuldade de acesso ao sistema público de saúde, pois, segundo eles, o posto de saúde do distrito encontrava-se carente de atendimento médico e de realização de exames e que a

fila de espera para obter qualquer um desses serviços é longa. Uma alternativa encontrada pelos moradores de Campos Elíseos foi a busca de tais serviços em outras localidades, como Jardim Primavera. Além do desgaste de deslocamento da população e da sobrecarga no atendimento da região que acolhe esses pacientes, é possível inferir que a estatística de morbidade de cada distrito se torna desproporcional, podendo ocasionar uma interpretação errônea da origem e distribuição das doenças influenciando a estruturação de políticas de saúde.

Alguns hábitos sociais descritos na literatura como relevantes para a avaliação da exposição ao benzeno foram contemplados na construção do questionário, como perguntas relativas ao consumo de entorpecente, álcool e fumo. Estes estão associados à utilização das mesmas via de metabolização do benzeno ou aumentam a formação dos metabólitos ou contêm benzeno.

Cerca de 100% dos participantes responderam que não faziam uso de entorpecente, porém o consumo de álcool de forma ocasional e em eventos e festas foi descrito pela maioria dos participantes (69%). Quanto ao fumo, cerca de 91% dos entrevistados afirmaram não possuir este hábito, mas 54% convive ou já conviveu com familiares que fumavam em suas residências.

O questionário continha ainda questões que buscavam captar informações que pudessem identificar a exposição à substâncias químicas a que cada um está submetido e seus confundidores, bem como a percepção individual quanto a poluição.

Sendo assim, foi perguntado se os moradores já haviam manipulado de forma direta algumas substâncias químicas que são reconhecidamente prejudiciais à saúde humana e que contenham em sua composição benzeno ou outros solventes que utilizem, durante o processo de biotransformação, a via de metabolização do

benzeno (MITRI, 2016; HATAGIMA et al., 2002; COURA et al., 2007; PICOLLI et al., 2010; TANG et al., 2010). Não foi possível incluir diversas substâncias nesta questão, mas as consideradas mais relevantes, como vernizes e tintas, colas, produto de limpeza, gasolina e outros solventes, foram abordadas. Para todas as substâncias, exceto produtos de limpeza e vernizes e tintas, a maioria dos indivíduos relataram nunca ter tido contato com estas, como representado na FIGURA 14.

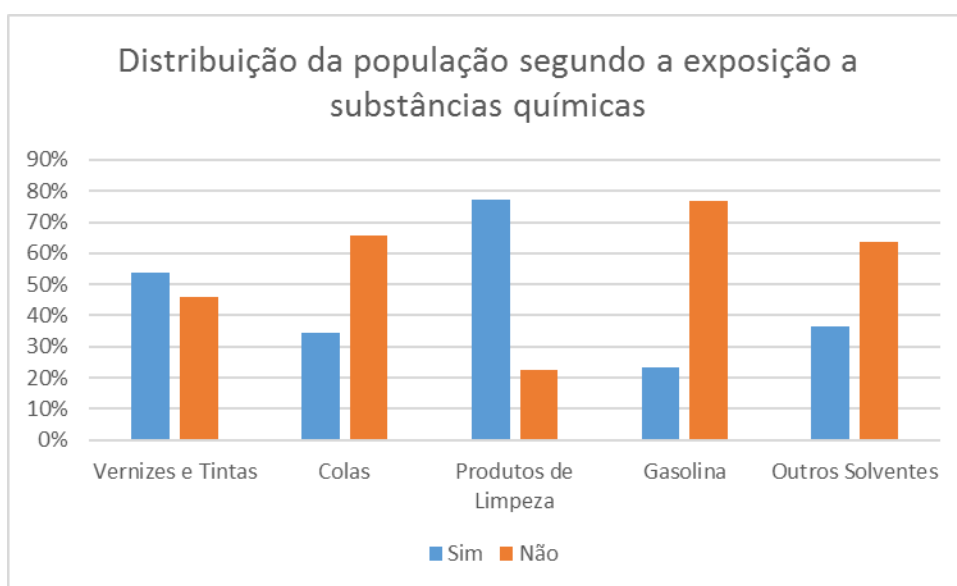


FIGURA 14. Representação gráfica da distribuição da população alvo segundo a exposição a substâncias químicas.

Quanto ao uso de produtos químicos no interior das residências que podiam fazer mal à saúde dos moradores, cerca de 57% dos participantes declararam que não utilizavam tais substâncias em sua rotina domiciliar. Quando questionado se algum morador da residência já havia passado mal por usar algum produto químico, 30% afirmaram ter apresentado alguma reação adversa, seja uma simples dermatite por contato até uma alergia severa.

O questionamento da percepção de poluição na cidade foi incluída no estudo apesar desta ser uma variável subjetiva, pois a classificação do grau de poluição sugerido por um indivíduo é dificilmente idêntica àquela definida por outra pessoa. Porém, a concordância na existência de poluição ocorreu em cerca de 98% dos moradores de Campos Elíseos. Sendo que, 79% afirmou que já sentiu ou sente algum mal estar relacionado a odor desagradável presente no ambiente e que na maioria dos casos o odor relatado se fazia presente constantemente e era similar a gases, como representado nas FIGURA 15 e FIGURA 16.

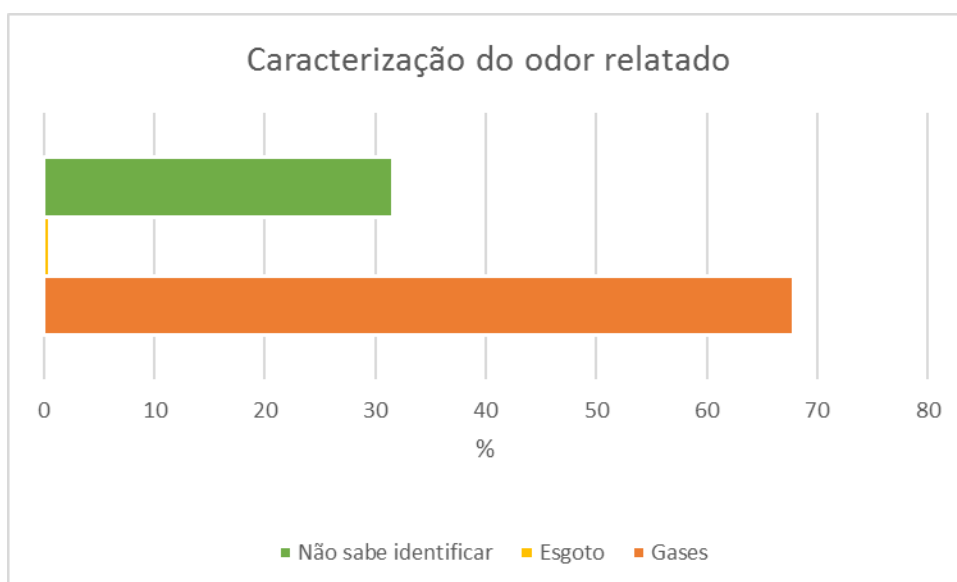


FIGURA 15. Caracterização do odor relatado pelos moradores em porcentagem.



FIGURA 16. Situação específica em que os moradores percebem a presença do odor no ambiente.

Na tentativa da construção do real cenário de exposição à substâncias químicas presentes nas moradias de Campos Elíseos, este estudo abordou na entrevista questões sobre o número de janelas e portas que cada moradia tinha, além da frequência de abertura e por quanto tempo as mesmas permaneciam abertas. Tais informações se tornaram relevantes para o conhecimento da possibilidade de circulação de xenobióticos e/ou da concentração destes no microambiente de cada residência, aumentando ou diminuindo a quantidade inalação destes toxicantes (FONTES e BARROS, 2009).

Como resultado, foi observado que cerca de 78% dos participantes declararam que em sua moradia tinha de 4 a 10 janelas e portas e que estas eram abertas todos os dias na maioria das residências (90%). Em relação ao tempo em que estas permanecem abertas, foi descrito que na maioria das casas, estas ficavam abertas de 10 a 14 horas, somente sendo fechadas quando os moradores saiam para alguma atividade fora da residência. Sendo assim, é possível inferir que

havia uma grande circulação de ar na maioria das moradias, podendo aumentar a exposição, quando a fonte de exposição era externa a residência, como as indústrias petroquímicas, ou diminuir a exposição, quando a fonte de exposição era interna a residência, como fumaça de cigarro e de forno a lenha, e ocorria a diluição destes toxicantes pela passagem da corrente de ar no ambiente.

Quanto à existência de fontes de exposição interna em cada residência, como fogão a lenha e fumaça de cigarro, cerca de 100% dos participantes afirmaram que realizavam o cozimento de seus alimentos em fogão a gás de botijão, excluindo assim a existência de fumaça oriunda da queima de materiais orgânicos. Já em relação ao fumo, como dito anteriormente, 9% relataram ser fumantes, porém cerca de 60% convive ou já conviveu com familiares que fumavam em suas residências, contribuindo assim para a exposição ao benzeno.

IV.1.2. Análise das amostras biológicas

IV.1.2.1. Hemograma

As amostras de sangue coletadas foram encaminhadas para o laboratório de análises clínicas para a realização do hemograma. A avaliação sanguínea constava na análise dos seguintes parâmetros: Hemácias, Hemoglobina, Hematócrito, V.C.M (Volume Corpuscular Médio), H.C.M (Hemoglobina Corpuscular Média), C.H.C.M (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), R.D.W (“Red Cell Distribution Width”), Leucócitos, Promielócitos, Mielócitos, Metamielócitos, Bastonetes, Segmentados, Eosinófilos, Basófilos, Monócitos, Linfócitos, Blastos e Plaquetas.

Após as análises, os hemogramas foram encaminhados para uma avaliação médica que analisou todos os parâmetros conforme os valores adotados como de referência atualmente pela literatura e usualmente utilizados pela rotina clínica.

Os resultados que apresentaram qualquer tipo de alteração, seja relacionada a exposição ao benzeno ou não, foi considerada relevante e os participantes encaminhados para atendimento médico no Centro de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) para a realização de uma investigação clínica com objetivo de identificar a causa responsável pela modificação dos valores e tentar reestabelecer a normalidade destes.

Ao final da avaliação dos hemogramas dos 190 participantes, cerca de 33% apresentaram alterações características de algumas patologias, dentre essas a mais frequente foi a anemia seguida por plaquetopenia, como mostrado na TABELA 6.

TABELA 6. Distribuição das alterações hematológicas nos participantes que apresentaram valores fora da faixa de normalidade

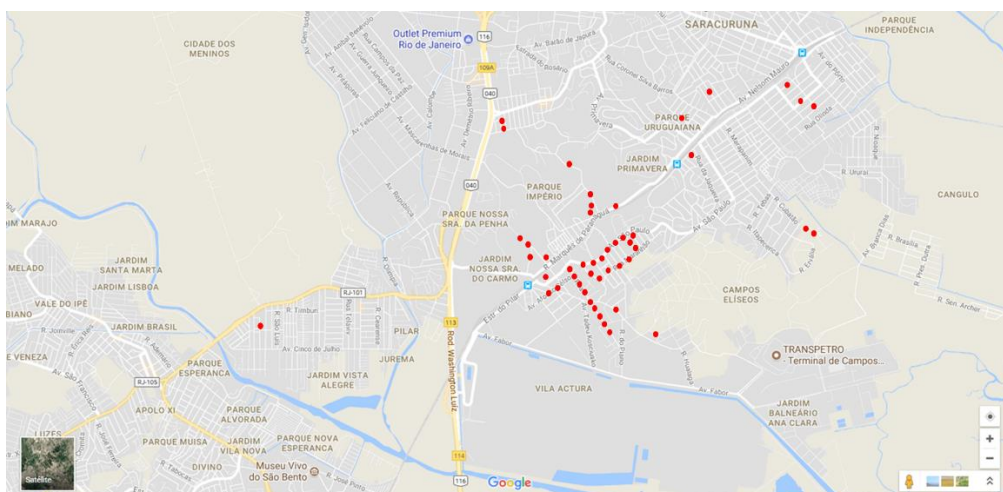
PATOLOGIAS SEGUNDO AS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS	%
Anemia	41
Plaquetopenia	17
Eosinofilia	13
Leucopenia e Neutropenia	11
Leucopenia	6
Plaquetopenia e Anemia	3
Leucocitose e Neutrofilia	3
Leucocitose	2
Plaquetopenia e Eosinofilia	2
Desidratação	2
TOTAL	100

As alterações hematológicas observadas neste estudo podem ser interpretadas como um indicativo de exposição crônica ao benzeno, uma vez que os mais frequentes achados no sangue periférico desta população, como a anemia, a

leucopenia isolada ou associada com a neutropenia e a plaquetopenia, condizem com descrito na literatura como principais desfechos observados na exposição ao benzeno, mesmo em níveis baixos de exposição. (MITRI et al., 2016; MANUELA et al., 2012; WANG et al., 2012; ZHANG et al., 2014; YE et al., 2015; RUIZ, 1994; D'ALASCIO et al., 2014).

Porém, essas alterações hematopoiéticas observadas podem ter origem multicausal, não sendo possível utilizar somente este resultado para afirmar que a exposição ao benzeno é a causa determinante desse desequilíbrio da homeostasia hematológica. Para tal, se faz necessário a avaliação completa do histórico clínico do paciente concomitantemente com avaliações seriadas dos hemogramas. Para esse tipo de estudo, no qual sabe-se que a exposição ao benzeno se faz presente no cotidiano dos moradores, toda e qualquer alteração hematológica deve ser valorizada (MITRI, 2016; BRASIL, 2006).

Após a avaliação dos hemogramas, os participantes que tiveram alterações hematológicas foram selecionados e a informação do endereço de onde residiam foi coletado através do questionário anteriormente aplicado. Diante deste dado, plotamos no mapa de Campos Elíseos a localidade de cada residência para avaliar se havia uma tendência de dispersão dessas moradias ou se havia proximidade ou não com indústrias, como mostrado na FIGURA 17.



(A)



(B)

FIGURA 17. (A) Localização geográfica dos endereços dos participantes que apresentaram alterações hematológicas. **(B)** Foto de satélite de Campos Eliseos, sendo que a região marcada em vermelho representa a localidade com maior concentração de residências de moradores com alterações hematológicas e as regiões marcadas em amarelo são os aglomerados industriais ali existentes.

A avaliação dos principais parâmetros hematológicos utilizados na identificação do benzenismo (RUIZ, 1987; RUIZ et al., 1993; RUIZ et al., 1994; DE PALMA et al., 2013; MITRI et al., 2015), que são os neutrófilos, os leucócitos e o V.C.M, mostra que cerca de 44% dos participantes apresentavam níveis abaixo de 3000/ mm³ de neutrófilos, 12% possuíam níveis abaixo de 4500/ mm³ de leucócitos e 51% apresentam níveis acima de 89 fl de V.C.M. A análise dos três indicadores concomitantemente de cada indivíduo, mostrou que 59 participantes não tiveram qualquer alteração nesses parâmetros e que 12 apresentaram alterações compatíveis com a exposição crônica ao benzeno, como mostrado na TABELA 7.

TABELA 7. Distribuição dos moradores conforme os resultados de Neutrófilos, Leucócitos e V.C.M.

VCM	Leucócitos	Neutrófilos	
		Normal	Baixo (3000/ mm ³)
Normal	Normal	59	23
	Baixo (4500/ mm ³)	0	10
Alto (Acima 89 fl)	Normal	48	38
	Baixo (4500/ mm ³)	0	12

As alterações hematológicas observadas neste estudo são semelhantes aos achados de outros trabalhos reportados na literatura que observaram decréscimos na contagem de células brancas e de plaquetas dentre outros parâmetros hematológicos em trabalhadores expostos a baixos níveis de benzeno (1 mg L⁻¹) (LAN et. al, 2004; YE et al.2015; ATSDR, 2007; FUSTINONI, 2012).

Poucos estudos foram encontrados na literatura científica que reportassem a exposição ao benzeno, como a hematotoxicidade da população em geral ou que habitasse próximo a regiões potencialmente contaminadas e dentre estes a grande maioria avaliou outros biomarcadores que não os parâmetros hematológicos, como o caso do estudo realizado por Fustinoni e colaboradores (2012).

O estudo realizado por Pelallo-Martínez e colaboradores (2014) avaliou crianças que residiam em áreas sob influência de indústrias petroquímicas no México e observou que a distância entre a moradia e as indústrias tinha relação com as alterações encontradas nos valores de hemoglobina, hematócrito e contagem de glóbulos brancos, mesmo em baixos níveis de exposição. De acordo com Bahadar e col. (2014) essas alterações hematológicas são efeitos comuns em uma ampla faixa de exposição ao benzeno, como reportado por diversos autores.

Um estudo de revisão, publicado por Johnson e colaboradores (2007) avaliando dados da exposição da população não ocupacionalmente exposta ao benzeno (inclusive crianças) e abrangendo biomarcadores distintos e uma faixa de concentração de exposição ampla, mostra que existem evidências suficientes de que a exposição ao benzeno gera diversas alterações à saúde, inclusive modificações hematológicas, desde o mais baixo nível de exposição. Porém, uma consideração importante levantada pelos autores foi de que há necessidade de maiores investigações sobre os fatores que determinam a suscetibilidade, como por

exemplo, os polimorfismos metabólicos, para entender como cada indivíduo gera uma resposta distinta para a mesma exposição, e assim estabelecer a relação exposição e desfecho em diferentes populações.

Outro achado relevante nos hemogramas dos moradores de Campos Elíseos foi o quantitativo de participantes com eosinofilia (13%). A literatura descreve que essa alteração hematológica pode ser observada tanto em indivíduos que tem diagnóstico de asma e doenças alérgicas quanto nas parasitoses como ascaridíase. Na asma, os eosinófilos participam da fisiopatogênese da doença e na ascaridíase a função deles é de combater o parasita (RIBEIRO, 2015).

Esta relação de eosinofilia e tais patologias corrobora com o relato dos participantes, quando questionados sobre o estado de saúde, de que a grande maioria dos moradores possui doenças alérgicas e doenças pulmonares, como a asma. Além disso, como já mencionado anteriormente, a região estudada de Campos Elíseos não possui acesso a água tratada, consumindo assim água de diversas procedências, como de poços artesianos e da tubulação da Petrobrás, sendo que em muitos casos, a qualidade não está de acordo com os padrões estabelecidos para o consumo humano, podendo apresentar diversos parasitas que gera adoecimento da população.

IV.1.2.2. Ácido S-fenilmercaptúrico urinário

IV.1.2.2.1. Otimização das condições espectrométricas e cromatográficas

Após a otimização das condições espectrométricas foi determinada a relação m/z do S-PMA e o modo de ionização negativo, bem como as transições do monitoramento de reações múltiplas (MRM), que foram usadas na quantificação e

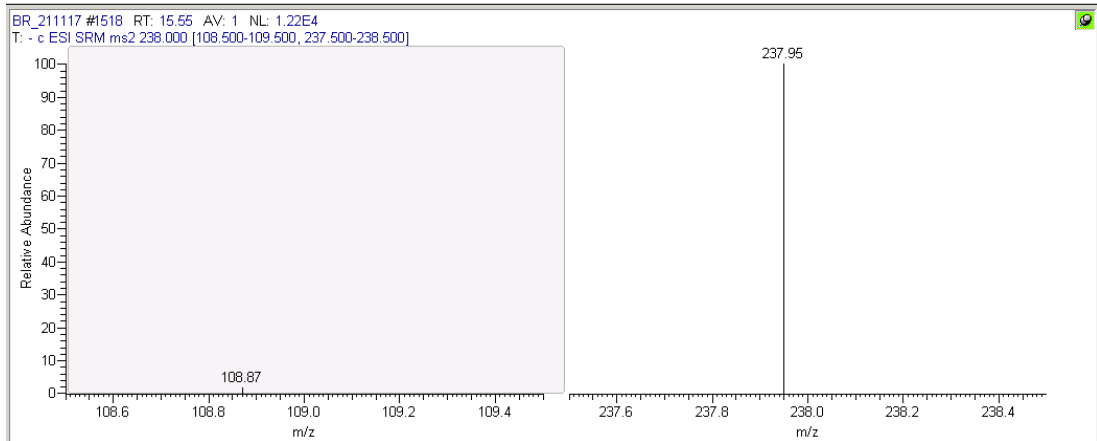
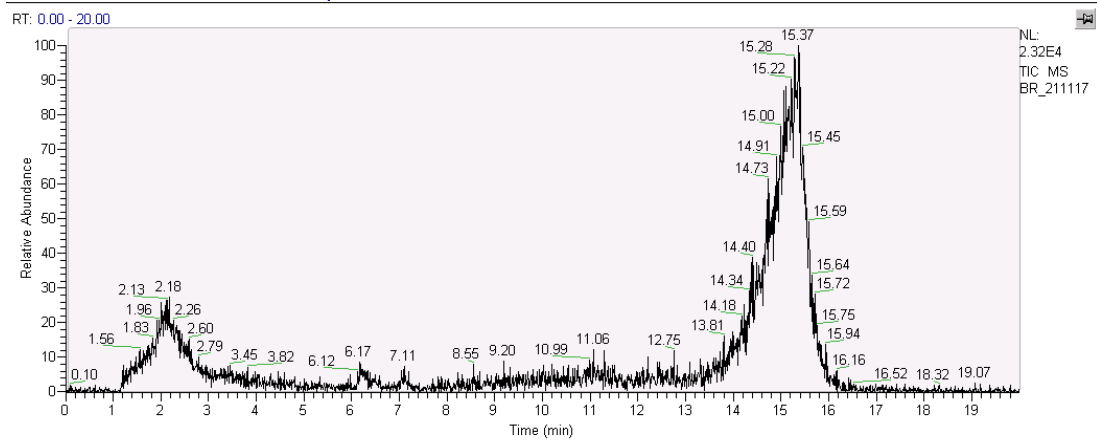
conjuntamente ao tempo de retenção, na confirmação das espécies. Os parâmetros do espectrômetro de massas utilizados para a otimização do método MRM estão detalhados nas TABELAS 8 e 9. A FIGURA 18 mostra um exemplo do cromatograma e espectro de massas de uma urina considera branco e do S-PMA em urina obtidos sob as condições descritas.

TABELA 8. Parâmetros do espectrômetro de massas utilizados para a detecção do S-PMA.

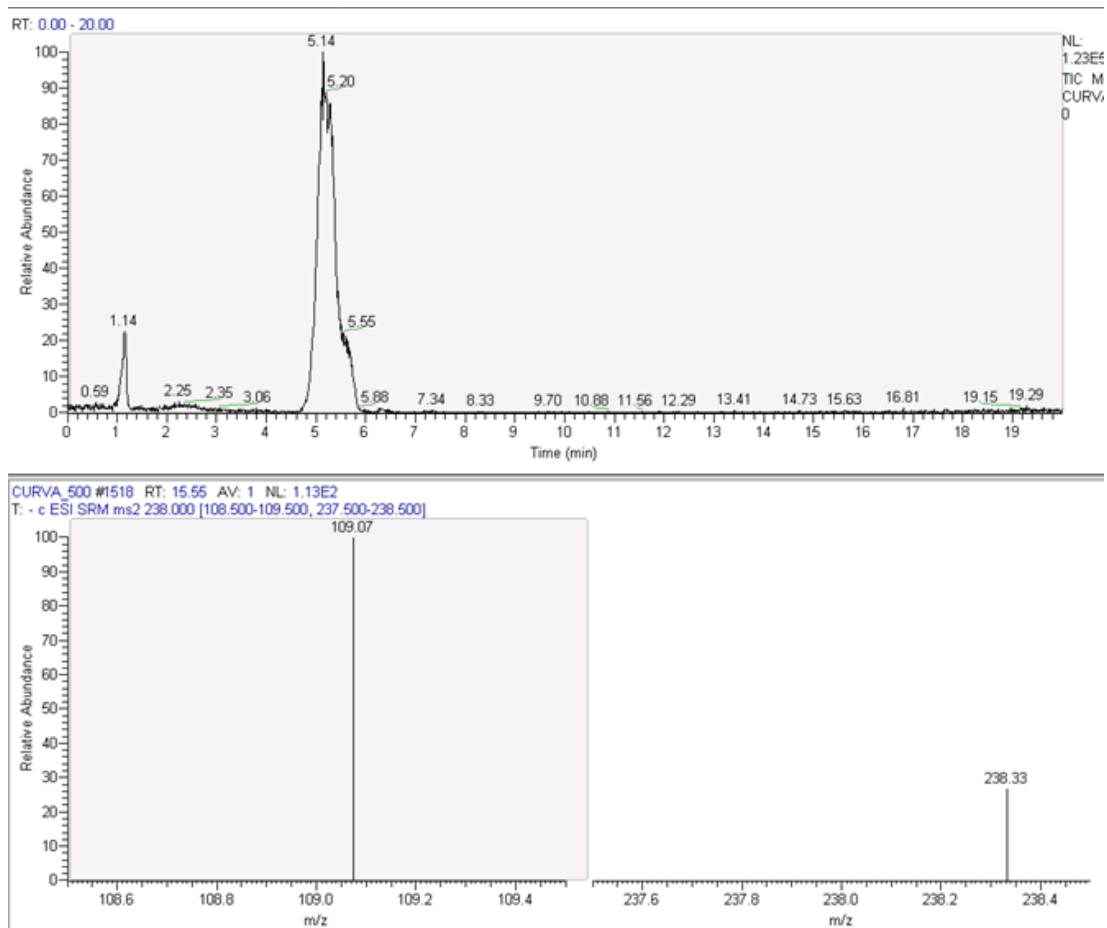
PARÂMETROS	CONDIÇÕES UTILIZADAS
Voltagem do spray	4000 V
Gás de bainha	30 (unidades arbitrárias)
Gás de contracorrente	0 (unidades arbitrárias)
Gás auxiliar	25 (unidades arbitrárias)
Temperatura do capilar	270°C
Voltagem do skimmer	0
Pressão de colisão	1,5 mTorr

TABELA 9. Transição do monitoramento de reações múltiplas (MRM)

Analito	Transições mais abundantes (m/z)		Energia de Colisão(V)	Tubo Lens (V)
	Íon Precursor	Íon Produto		
S-PMA	238,3	109,0	10	-70



(A)



(B)

FIGURA 18. (A) Exemplo de Cromatograma e espectro de massas referentes a urina considerada branco. **(B)** Exemplo de Cromatograma e espectro de massas referentes a fortificação com solução padrão de S-PMA em uma urina considerada branco.

IV.1.2.2.2. Curva Analítica e Recuperação do Método de Extração

Um exemplo de uma curva analítica obtida utilizando-se as condições previamente descritas é mostrada na FIGURA 19. As curvas analíticas foram preparadas para o intervalo de 10 a 500 ng mL⁻¹ e foram repetidas todas as vezes que um novo carregamento de amostras no injetor automático era analisado.

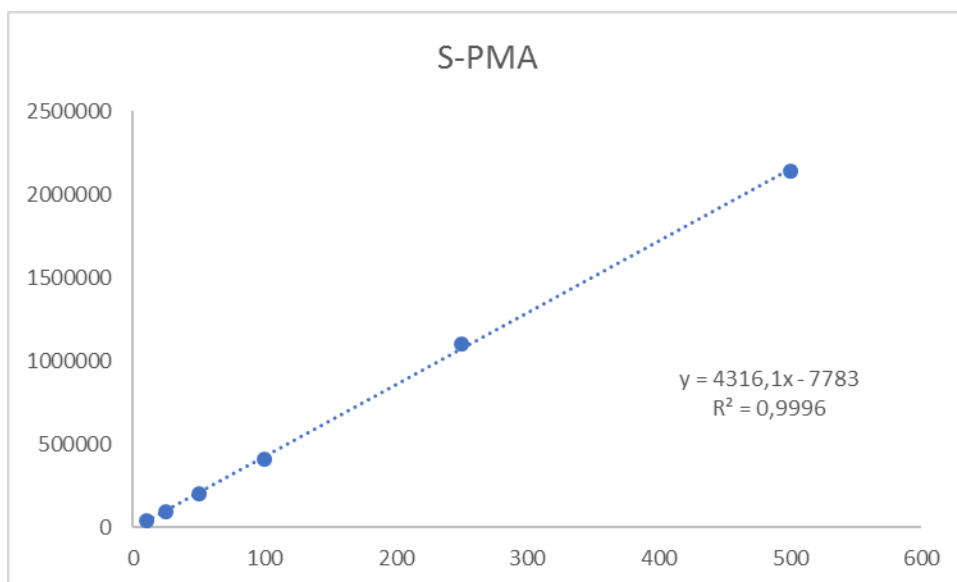


FIGURA 19. Exemplo de uma curva analítica obtida para a determinação de S-PMA em urina.

A percentagem de recuperação do analito obtida no procedimento de extração utilizado nestas determinações foi avaliada utilizando-se concentrações referentes a três pontos da curva de calibração. Para cada ponto, foi realizado a fortificação da urina com a quantidade pré-determinada do padrão de SPMA antes da realização da extração e em outra alíquota da mesma urina, feita a extração e, no extrato, foi adicionado a mesma quantidade de SPMA, considerada como correspondente a 100% de recuperação. Para que o método de extração fosse considerado eficiente o critério adotado foi de que as médias dos pontos estivessem compreendidas entre 70 a 120% (ROSA, 2017; EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, 2016).

Sendo assim, após a realização dos ensaios de recuperação os valores obtidos (TABELA 10) evidenciaram que a recuperação está dentro do aceitável em todas as faixas de concentração avaliada. Logo, este método é eficiente na extração do S-PMA das amostras de urina.

TABELA 10. Resultado obtidos nos experimentos de recuperação de SPMA de amostras de urina fortificados para se obter as concentrações de 10, 25 e 50 ng mL⁻¹.

Analito	Recuperação (%)	Recuperação (%)	Recuperação (%)
	10 ng mL ⁻¹	25 ng mL ⁻¹	50 ng mL ⁻¹
S-PMA	109	80	118

IV.1.2.2.3. Parâmetro para Quantificação em CLAE-EM/EM

A quantificação de S-PMA por CLAE-EM/EM, com triplo quadrupolo, foi realizada pelo modo de monitoramento de reações múltiplas e a razão entre os íons de quantificação e de confirmação de cada amostra deveria estar compreendida num intervalo de $\pm 50\%$ das razões de íons calculado em cada curva diária dos padrões analíticos, como apresentado na TABELA 11.

TABELA 11. Determinação da faixa de razão de íons aceitáveis para qualificação em cada dia de análise.

Curva	Média das Razões de íons (109/238 m/z)	Faixa de razão de íons aceitáveis para qualificação
1	2,61	1,30-3,91
2	1,98	0,99-2,97
3	2,47	1,23-3,70
4	2,90	1,45-4,34
5	2,04	1,02-3,06

Além disso, o tempo de retenção dos íons nas amostras reais estava compreendida num intervalo de $\pm 5,5$ minutos, semelhantes ao dos padrões analisados no mesmo dia.

IV.1.2.2.4. Avaliação dos níveis de S-PMA urinário nas amostras

Todas as amostras foram extraídas e analisadas em um período de 2 semanas e a ordem de processamento seguiu a sequência de coleta. Para cada dia de análise, era realizada uma curva de calibração com três pontos de concentração e a avaliação da recuperação em um ponto de concentração em um mesmo “pool” de urina utilizado para todos os dias. Esse “pool” utilizado como branco de urina era composto pela mistura de 5 urinas doadas pelos trabalhadores do CESTEJ que não eram fumantes.

Para a verificação do processamento diário das amostras e os controles de qualidade diários, foram observados as áreas e coeficientes angular e linear da curva na matriz e avaliação visual no módulo de avaliação qualitativa do software de análise das amostras do equipamento sobre as áreas das fortificações em três níveis de concentração, como descrito em ROSA, 2017.

A avaliação final das amostras foi realizada pelas as relações entre os íons quantificador e qualificador e se tal valor estivesse dentro da faixa de razão de íons estabelecida como aceitável para qualificação naquele dia de análise, a área do íon 109 m/z obtida em cada amostra era então aplicada na equação da reta da curva analítica para calcular o valor da concentração do S-PMA urinário em $\mu\text{g g}^{-1}$.

Da totalidade de 190 participantes deste estudo, apenas 21 amostras tiveram níveis de S-PMA urinários possíveis de quantificação pelo método de análise

adotado e tais resultados estão expressos em termos de média, mediana, valor máximo e mínimo e os percentis 25, 50, 75 e 95, como apresentado na TABELA 12.

TABELA 12. Concentrações de S-PMA urinário nas amostras coletadas em 2016 e 2017 dos moradores de Campos Elíseos incluídos no presente estudo.

S-PMA ($\mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina)	
Média	1,90
Mediana	1,36
Máximo	8,01
Mínimo	0,80
P25	1,03
P50	1,36
P75	2,01
P95	3,26

Os resultados de S-PMA urinários foram testados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e estes indicam que os dados gerais não apresentaram uma distribuição normal ($p < 0,05$).

Dessas 21 amostras que foram possíveis quantificar o S-PMA, apenas 2 eram referentes a indivíduos fumantes que apresentaram níveis de 0,88 e 1,56 $\mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina, indicando assim que a exposição gerada pelo fumo não influenciou significativamente os achados do grupo como todo.

Os níveis de S-PMA encontrados neste estudo são semelhantes aos achados de outros trabalhos reportados na literatura que investigavam tal biomarcador em população não exposta ocupacionalmente e abaixo do valor limite biológico de exposição de 25 $\mu\text{g. g}^{-1}$ creatinina definido pela ACGIH (2013) para exposição ocupacional.

Gomes (2016) aplicou o mesmo método de extração e técnica de separação e detecção em voluntários expostos ambientalmente ao benzeno e gerou um valor de mediana para S-PMA de $2,56 \mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina. Achado semelhante foi observado no estudo de desenvolvimento de método e aplicação realizado por Fan e colaboradores (2015), em que a mediana encontrada para grupos não expostos ocupacionalmente foi de $3,35 \mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina.

O estudo desenvolvido por Protano e colaboradores (2012) objetivou a avaliação de 395 crianças e adolescentes não expostas a fontes diretas de emissão de benzeno e encontrou um valor de valor de mediana de $0,62 \mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina.

Johnson e colaboradores (2007) publicou um estudo de revisão no qual avaliou dados da exposição da população exposta não ocupacionalmente ao benzeno (inclusive crianças) e resumiu os níveis de S-PMA encontrado por diversos autores em seus respectivos países (TABELA 13).

TABELA 13. Níveis de S-PMA urinário encontrados em estudos realizados em outros países.

País	Mediana	Máximo	Mínimo
Bélgica	1,53 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	19,86 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	0,28 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr
China	1,87 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	5,59 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	-
China	1,20 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	8,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr	-
China	0,018 mg L^{-1} (NF+F)	0,079 mg L^{-1} (NF+F)	0,002 mg L^{-1} (NF+F)
Europa e América do Norte	0,9 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ Cr (NF)	1,9 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ Cr (NF)	-
Alemanha	1,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NF) 6,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (F)	2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NF) 11,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (F)	0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NF) 2,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (F)
Alemanha	4,00 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr 0,94 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	16 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr 1,39 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	-
Países Baixos	Cr (NF) 1,71 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ Cr (F)	Cr (NF) 2,52 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ Cr (F)	-
Europa Ocidental	1,99 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr (NF) 3,61 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr (F)	2,86 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr (NF) 5,32 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr (NF)	-

(NF) Não Fumantes; (F) Fumantes

Fonte: Adaptado de Johnson e Colaboradores (2007)

Os dados de S-PMA urinário obtidos neste estudo foram agrupados em dois grandes grupos, no qual as amostras que tiveram níveis quantificados de S-PMA (n=21) foram denominados como amostras de POSITIVAS para S-PMA e o restante das amostras cuja os resultados não se enquadraram nos parâmetros de qualificação e quantificação (n= 169) foram classificadas como amostras NEGATIVAS para S-PMA, ou seja, com concentrações abaixo do limite de quantificação do método.

Após esse agrupamento, esses dois grupos foram associados com os parâmetros hematológicos através da medida de associação, razão de risco (odds ratio) para verificar qual foi a relação obtida entre esses dados. Para realizar tal análise, foram selecionados os componentes hematológicos que são amplamente descritos como característicos de sofrerem alteração quando há exposição ao benzeno, sendo estes os valores de leucócitos ($<4500/\text{mm}^3$), V.C.M. (Acima 89 fl) e Neutrófilos (soma de Bastonetes com Segmentados $<3000/\text{mm}^3$). Sendo assim, o teste do Qui-quadrado foi aplicado e a razão de risco calculado e os resultados estão descritos na TABELA 14.

TABELA 14. Razão de risco dos grupos de S-PMA sobre as alterações nos valores dos Leucócitos, V.C.M. e Neutrófilos.

S-PMA	OR (I.C. 95%) Leucócitos	OR (I.C. 95%) V.C.M.	OR (I.C. 95%) Neutrófilos
NEGATIVO	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)
POSITIVO	0,78 (0,17-3,62)	1,29 (0,52-3,21)	2,30 (0,90-5,84)

Com os resultados apresentados na tabela acima é possível observar que ter níveis de S-PMA urinários quantificáveis é um fator de risco para alterações nos valores de neutrófilos e V.C.M.. Embora não tenha sido observado associação estatisticamente significativa, observou-se uma tendência na associação entre os V.C.M. e S-PMA e Neutrófilos e S-PMA, indicando que com aumento do nível de S-PMA, há um aumento de V.C.M. e uma diminuição de Neutrófilos.

Observando as frequências das patologias detectadas neste estudo, segundo a avaliação dos hemogramas, foi questionado se o nível de S-PMA urinário tinha associação com presença ou ausência nos indivíduos estudados. Sendo assim, foi realizado uma razão de risco dessas variáveis e conclui-se que os participantes que tiveram níveis de S-PMA detectáveis têm cerca de 60% mais risco de ter uma patologia identificadas pelos hemogramas realizados neste trabalho (desidratação, eosinofilia, plaquetopenia com anemia, anemia, plaquetopenia, plaquetopenia com eosinofilia, leucocitose, leucocitose com neutrofilia, leucopenia e leucopenia e com neutropenia) (TABELA 15).

TABELA 15. Razão de risco dos grupos de S-PMA sobre as alterações hematológicas encontrados nesse estudo

S-PMA	OR (I.C. 95%) Alterações Hematológicas
NEGATIVO	1,00 (Ref)
POSITIVO	1,60 (0,64- 4,02)

Os valores encontrados neste trabalho são concordantes com os achados na literatura e corroboram que as alterações hematológicas observadas neste estudo podem estar associadas com a exposição ao benzeno mesmo em níveis baixos, como descrito também por outros autores (Johnson 2007; LAN et al., 2004; YE et al.2015; ATSDR, 2007; FUSTINONI, 2012).

Foi realizado também a razão de risco de algumas outras variáveis que permitiram a identificação qualitativa de possíveis fontes de exposição ao benzeno,

como a manipulação de gasolina e outros solventes, com os níveis de S-PMA urinário. Observou-se que a manipulação de gasolina e de outros solventes aumenta 12% e 41%, respectivamente, o risco de terem níveis S-PMA urinários passíveis de serem quantificados. Estes resultados eram esperados uma vez que a gasolina contém benzeno na sua composição e os tipos de solventes utilizados não foram classificados quanto a sua natureza.

V.1.2.3. Análises Moleculares

IV.1.2.3.1. Determinação dos polimorfismos

No presente trabalho foram estudados os polimorfismos genéticos de duas enzimas de metabolização do benzeno, CYP2E1 1293 G>C e NQO1 609 C>T, através da genotipagem por r PCR em tempo real. As FIGURAS 20 e 21 apresentam gráficos com os resultados da genotipagem das amostras para CYP2E1 1293 G>C e NQO1609 C>T, respectivamente.

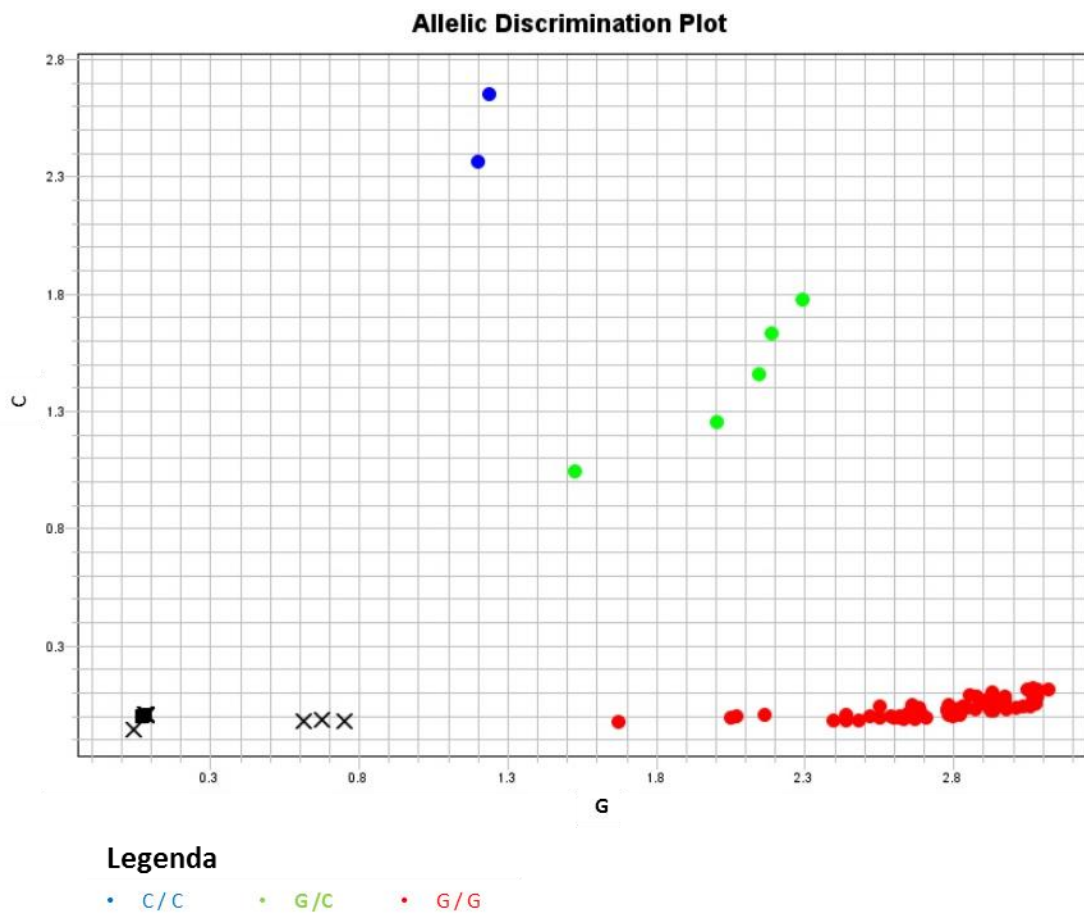


FIGURA 20. Gráfico mostrando o resultado da genotipagem das amostras para o polimorfismo CYP2E1 -1293 G>C.. Em azul, no eixo X: genótipo homozigoto **C/C**; em vermelho: genótipo heterozigoto G/C; em verde, no eixo Y: genótipo homozigoto G/G. Os controles negativos são representados pelo círculo preto e o “x” indica as amostras que não amplificaram na reação.

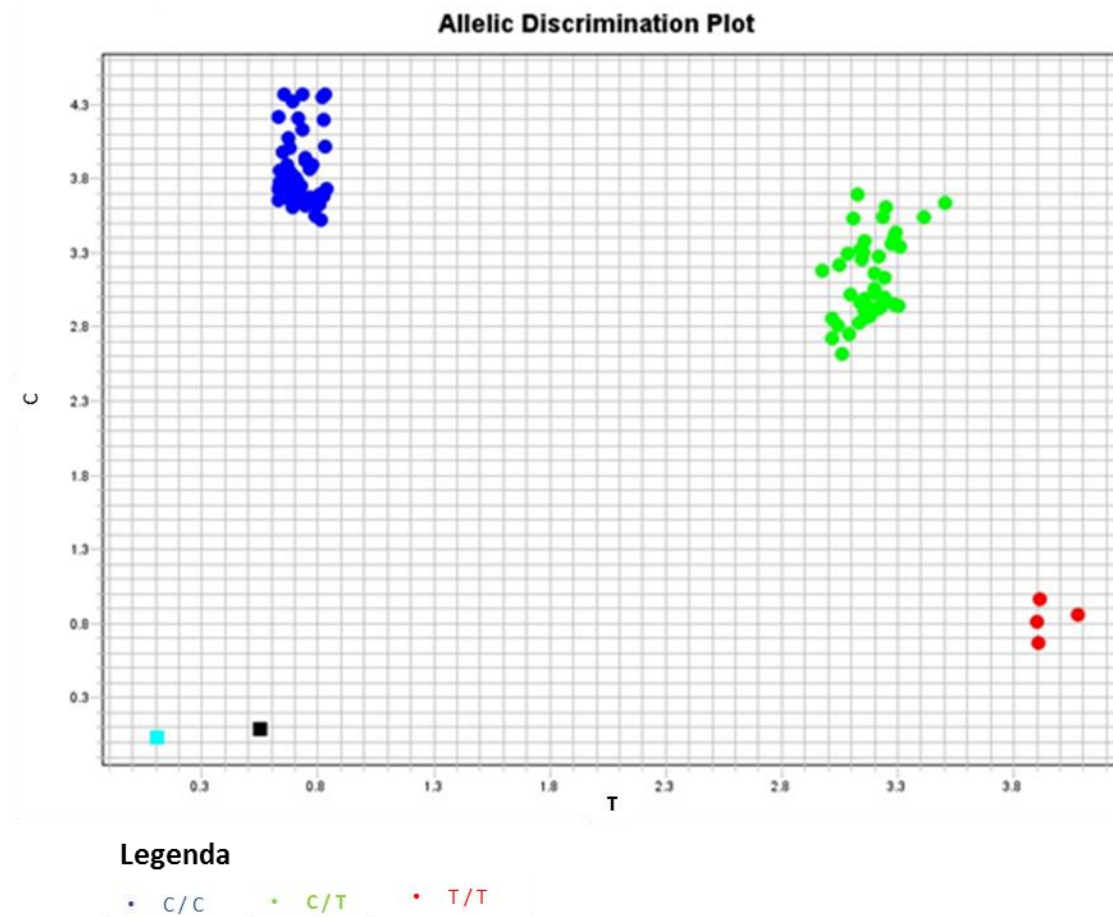


FIGURA 21. Gráfico mostrando o resultado da genotipagem das amostras para o polimorfismo NQO1 609 C>T. Em azul, no eixo X: genótipo homozigoto C/C; em vermelho: genótipo heterozigoto C/T; em verde, no eixo Y: genótipo homozigoto T/T. Os controles negativos são representados pelo círculo preto.

Os resultados da genotipagem são apresentados sob a forma de gráficos. Na interpretação do gráfico, cada amostra é representada por um ponto que se distribui no plano cartesiano e, de acordo com sua localização, é possível identificar os portadores do genótipo homozigoto selvagem, os heterozigotos e os homozigotos do alelo variante.

Os eixos dos gráficos são constituídos pelos alelos selvagem (eixo X) e variante (eixo Y), revelados pelas sondas alelo-específicas VIC (selvagem) e FAM

(variante). No gráfico 18, que apresenta a genotipagem do CYP2E1 -1293 G>C, no eixo X, está o alelo selvagem **C** e no eixo Y, o alelo variante **G**. Enquanto, na genotipagem do NQO1 609 C>T, mostrada no gráfico 19, tem-se o alelo selvagem **C** no eixo X e o variante **T** no eixo Y.

Ao analisar cada amostra individualmente, o gráfico gerado apresenta as curvas das sondas alelo-específicas VIC (verde) e FAM (azul), além da curva ROX (vermelha) que é a linha de Referência passiva e exerce o papel de linha de base indicativa de amplificação dos alelos pesquisados. Quando uma única curva se faz presente acima da ROX, seja VIC ou FAM, o genótipo é homocigoto, como mostrado nos gráficos das FIGURAS 22 e 23. Já quando se observa a presença das duas curvas VIC e FAM, como no gráfico da FIGURA 24, o genótipo é heterocigoto.

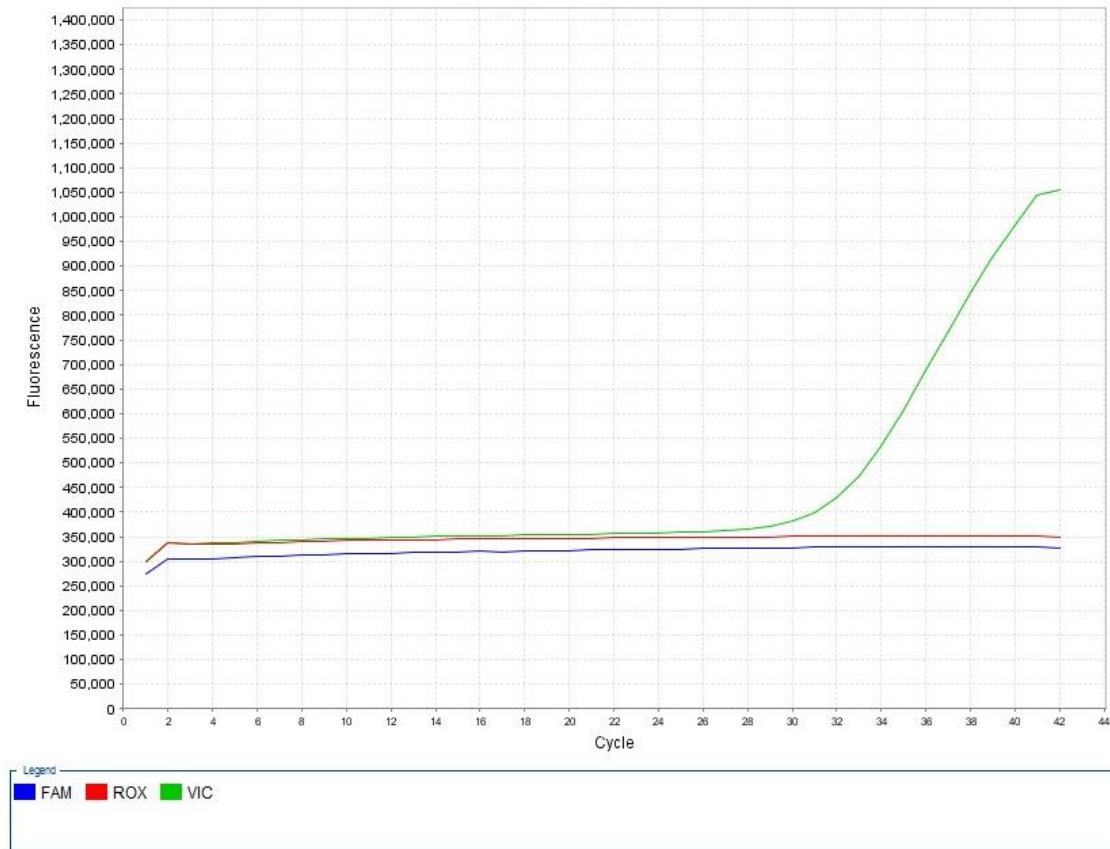


FIGURA 22. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo CYP2E1 - 1293 G>C de uma amostra. Única curva acima da ROX, referente à sonda VIC: genótipo selvagem homozigoto (CC).

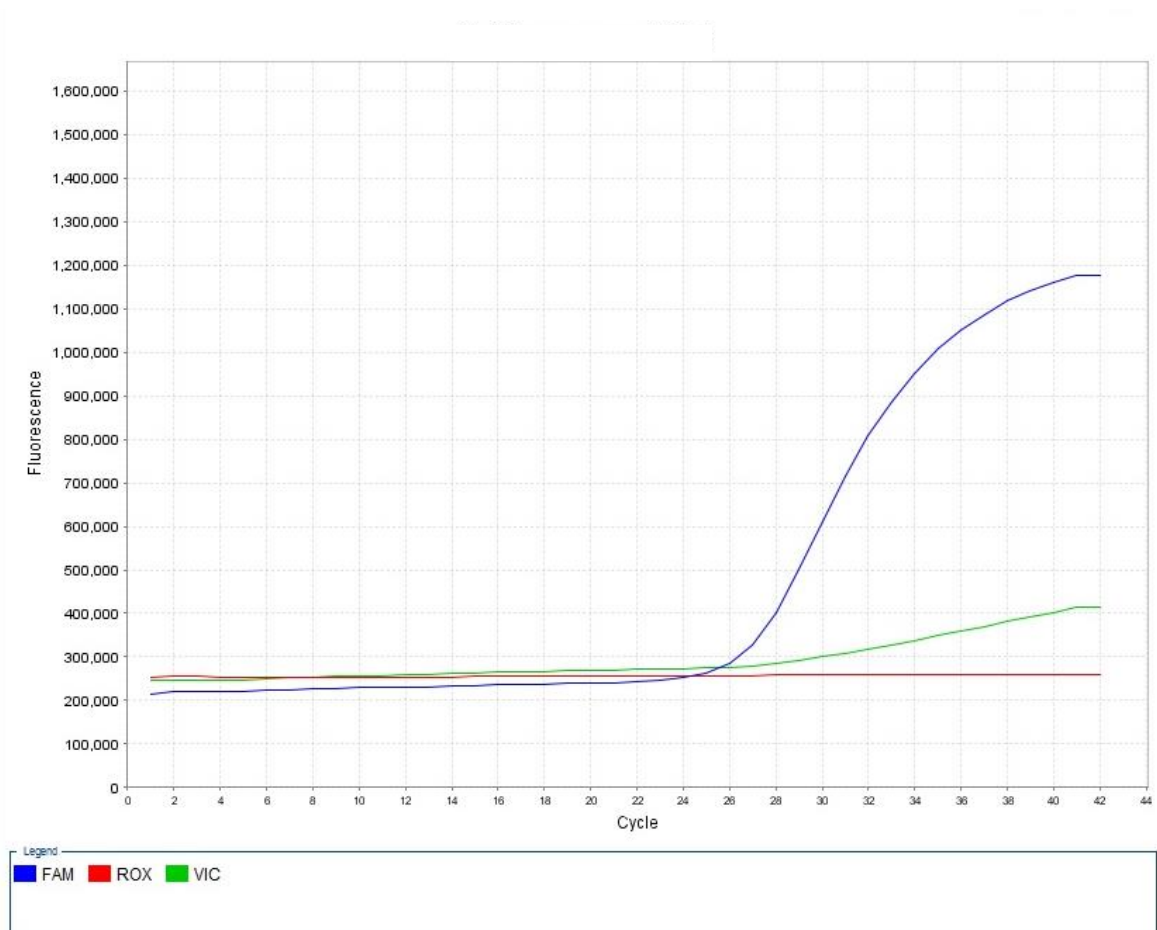


FIGURA 23. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo NQO1 609 C>T de uma amostra. Única curva acima da ROX, referente à sonda FAM: genótipo variante homozigoto (GG).

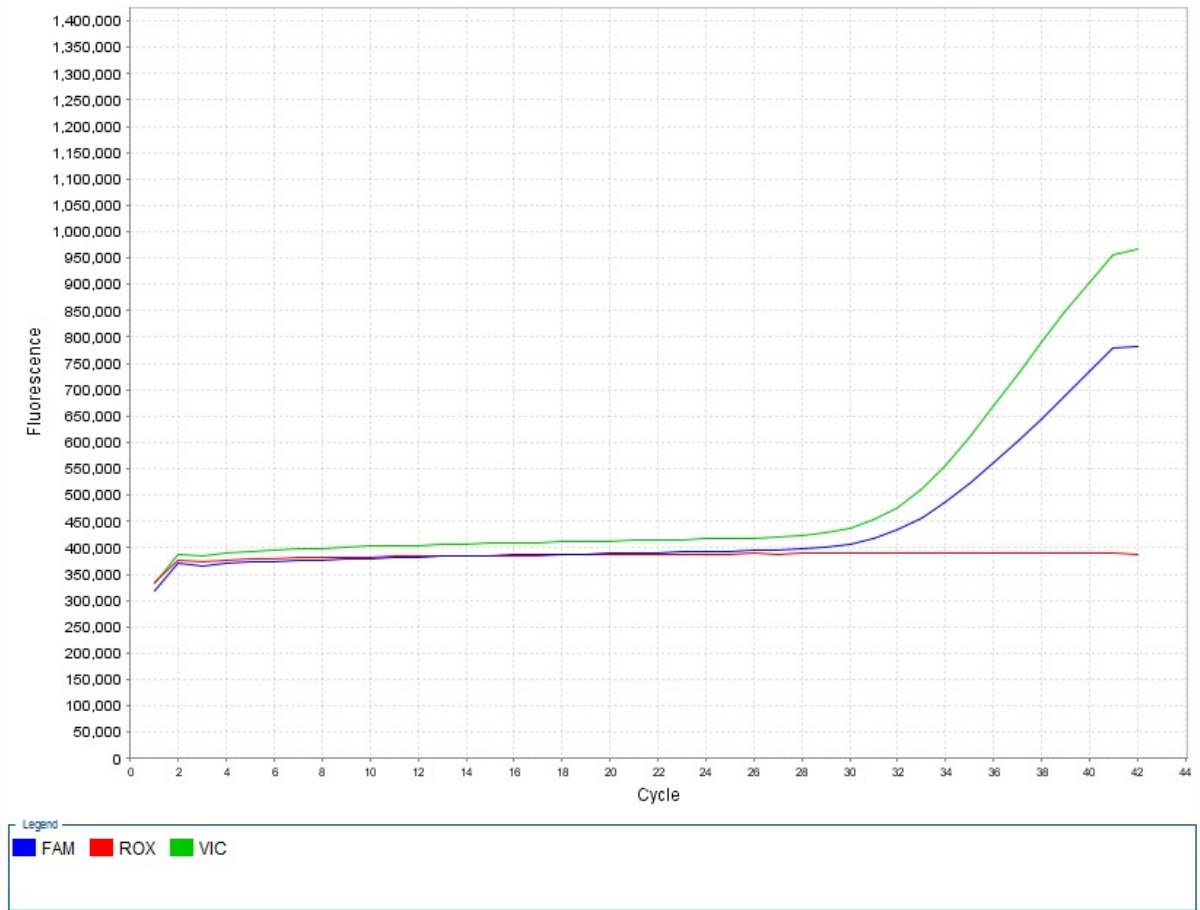


FIGURA 24. Gráfico do resultado da genotipagem do polimorfismo CYP2E1 - 1293 G>C de uma amostra. Duas curvas acima da ROX, referentes às sondas VIC e FAM: genótipo heterozigoto (CG).

IV.1.2.3.2. Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T na população estudada

As frequências genotípicas e alélicas obtidas a partir da genotipagem das amostras da população são apresentadas na TABELA 16.

TABELA 16. Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T na população estudada.

Frequências	CYP2E1 % (n)	NQO1 % (n)
Genotípica	GG 93 (176)	CC 57 (108)
	GC 7 (14)	CT 38 (73)
	CC 0 (0)	TT 5 (9)
Alélica	G 0,96	C 0,76
	C 0,04	T 0,24

A distribuição alélica e genotípica encontrada neste estudo é semelhante a de outros estudos que avaliaram os mesmos polimorfismos em populações submetidas a diversas concentrações de exposição ocupacional e ambiental ao benzeno (WAN et al., 2002; NEBERT et al., 2002; MITRI et al., 2015; GATTÁS et al., 2000; ROSSINI et al., 2002; CANALE et al., 2004; ROSSINI et al., 2006; SILVA et al., 2008; MACIEL et al., 2009; SILVEIRA et al., 2010; PINHEIRO et al., 2013). A distribuição dos genótipos mostrou-se em desvio de Hardy-Weinberg para os genes NQO1 e CYP2E1.

A literatura apresenta diversos trabalhos de investigação de genes codificantes de enzimas metabólicas candidatos à susceptibilidade a substâncias tóxicas e doenças relacionadas (MITRI, 2016; SEATON et al., 1994; DOUGHERTY et al., 2008, WANG et al., 2012; ROSS, 2005; NEBERT et al., 2002). A maior ou menor suscetibilidade para o desenvolvimento de certas patologias, devido a diferenças no metabolismo determinadas por variabilidade genética tem sido tem sido cada vez mais estudada.

A fim de avaliar a relação entre os dados os e os parâmetros hematológicos obtidos neste estudo, foi realizado teste de medidas de associação (razão de risco) Para tanto, foram selecionadas alterações hematológicas reconhecidamente relacionadas ao benzenismo (BRASIL, 2003), sendo estas valores de leucócitos ($<4500/\text{mm}^3$), V.C.M. (Acima 89 fl) e, principalmente neutrófilos ($<3000/\text{mm}^3$). Sendo assim, o teste do Qui-quadrado foi aplicado e a razão de risco calculada, cujos resultados estão descritos na TABELA 17.

TABELA 17. Razão de risco dos genótipos homocigoto e heterocigoto dos alelos variantes do CYP2E1-1293 G>C e NQO1 609 C>T sobre as alterações nos valores de leucócitos, V.C.M. e neutrófilos.

Genótipo	OR (I.C. 95%) Leucócitos	OR (I.C. 95%) V.C.M.	OR (I.C. 95%) Neutrófilos
CYP2E1 1293 G>C			
GG	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)
GC	1,30 (0,27-6,23)	1,76 (0,57-5,46)	0,70 (0,23-2,17)
NQO1 609 C>T			
CC	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)	1,00 (Ref)
CT, TT	1,11 (0,45-2,71)	1,06 (0,60-1,89)	0,71 (0,40-1,28)

Nos resultados apresentados na tabela acima é possível observar que ser portador do alelo variante pode ser um fator de risco para alterações nos valores de leucócitos e V.C.M., apesar de não ter tido significância estatística, provavelmente pelo reduzido tamanho de amostra populacional. Os valores encontrados neste trabalho são semelhantes àqueles obtidos em outros estudos que também observaram o aumento no risco para as mesmas alterações hematológicas na presença do alelo variante (WAN et al., 2002; YANG et al., 2009; LI e YIN, 2006; ZHANG et al., 2014; KIM et al., 2007).

Ao avaliar a associação entre os genótipos de ambos polimorfismos estudados e as diferentes alterações hematológicas de forma agrupada ; 1)Eosinofilia; 2) Plaquetopenia + Anemia; 3)Anemia; 4)Plaquetopenia; 5)Plaquetopenia + Eosinofilia; 6)Leucocitose; 7)Leucocitose e Neutrofilia; 8)Leucopenia; e 9)Leucopenia e Neutropenia) , observa-se que a presença do alelo variante do NQO1 609 C>T pode ser um fator de risco, apesar da inexistência de significância estatística, o que pode ser justificado pelo reduzido tamanho de amostra. O mesmo não foi encontrado para o polimorfismo CYP2E1 -1293 G>C. Os resultados são apresentados na TABELA 18.

TABELA 18. Razão de risco dos genótipos do CYP2E1 -1293 G>C e NQO1 609 C>T sobre as alterações hematológicas.

Genótipo	OR (I.C. 95%) Alterações Hematológicas
CYP2E1 1293 G>C	
GG	1,00 (Ref)
GC	0,79 (0,24-2,64)
NQO1 609 C>T	
CC	1,00 (Ref)
CT, TT	1,19 (0,65-2,19)

Ye e colaboradores (2015) também observaram que a presença do alelo variante confere uma maior suscetibilidade para alterações hematológicas relacionadas ao benzenismo. Ou seja, os participantes que eram portadores do genótipo **CC** apresentaram uma redução na contagem das células brancas. Esse achado corroborou com o trabalho realizado por Wan e colaboradores (2002), no qual foi descrito que para a CYP2E1 -1293, o genótipo **CC** confere maior suscetibilidade em relação à intoxicação por benzeno - benzenismo. Além disso, o mesmo estudo observou a elevação do risco no desenvolvimento da leucemia linfoblástica aguda em indivíduos heterozigotos.

A associação do alelo variante dos dois polimorfismos analisados com o risco para o desenvolvimento da hematotoxicidade do benzeno, frente à exposição, também foi encontrada nos estudos realizado por YANG e colaboradores (2009) e de LI e YIN (2006).

ZHANG e colaboradores (2014), avaliaram a influência dos polimorfismos genéticos sobre a frequência de formação de micronúcleos em trabalhadores da indústria de calçados expostos a benzeno, e encontraram um pequeno aumento do risco para formação de micronúcleo em indivíduos portadores do alelo variante.

Os trabalhos descritos na literatura que objetivaram o estudo do polimorfismo da região promotora do gene CYP2E1 em -1293 (sítio de restrição *RsaI*) justificam que a forma variante está associada ao aumento da atividade enzimática e ao maior risco para o desenvolvimento de leucemia, provavelmente devido à maior produção de intermediários tóxicos (MITRI et al., 2015; SEATON et al., 1994; DOUGHERTY et al., 2008, WANG et al., 2012). Enquanto, a presença do alelo variante do gene NQO1 determina a diminuição da ação protetora da enzima, devido à menor

atividade enzimática e, conseqüente acúmulo de metabólitos tóxicos (ROSS, 2005; NEBERT et al., 2002; ROSS, 2005).

CAPÍTULO V: CONCLUSÃO

V.1. Conclusão

O presente trabalho realizou uma caracterização biológica e sócio econômica desta região, evidenciando a real situação de precariedade dos indivíduos residentes.

Ao analisar a taxa de internação por leucemia, segundo o local de residência, observou-se que a região de Duque de Caxias possuía um alto valor quando comparado com outras regiões. Esse achado permitiu a construção da possível relação da elevada exposição ao benzeno presente naquela região e o aparecimento de leucemia. Porém, esse desfecho tem um período de latência prolongado e tem origem multicausal. Sendo assim, optamos por avaliar alguns biomarcadores que podem ser associados à exposição ambiental ao benzeno.

Os hemogramas obtidos nesse grupo de estudo revelaram que as principais alterações hematológicas encontradas podem estar relacionadas à ocorrência de exposição ao benzeno, uma vez que os endereços dos indivíduos com alterações estavam concentrados em uma área circundada por três complexos petroquímicos. Porém, o protocolo existente para classificação de benzenismo não foi aplicado e tais alterações necessitam de maiores investigações para a confirmação da relação causa e efeito.

O metabólito do benzeno analisado por LC-MS/MS neste trabalho, o ácido S-fenilmercaptúrico, apresentou níveis semelhantes aos de outros estudos que avaliaram população não exposta. De acordo com os resultados encontrados, não há indícios de que a exposição na região de Campos Elíseos leve à formação de níveis maiores de S-PMA quando comparada a outras regiões já estudadas. Porém, quando realizada a medida de associação do S-PMA com outras variáveis,

observou-se que há a presença de risco conforme o aumento nos níveis de S-PMA urinário, ou seja, quanto maior é a presença do benzeno, maior é a ocorrência de alterações hematológicas e patologias a ela associadas. Entretanto, são necessários mais estudos na região de Campos Elíseos, incluindo mensuração de indicadores ambientais.

Quanto a determinação dos polimorfismos metabólicos CYP2E1 -1293 e NQO1 609 C>T foi possível verificar a frequência alélica e genotípica nesta população e também a associação da presença dos alelos variantes com algumas alterações no hemogramas possivelmente relacionadas à exposição ao benzeno

Sendo assim, foi possível estudar a associação da exposição ambiental ao benzeno com alguns biomarcadores em residentes na área do Polo Industrial de Campos Elíseos. Foi evidenciada também a necessidade de realização de novos estudos nesta região e em outras regiões para que haja a possibilidade de comparação entre os níveis desses e outros biomarcadores com os níveis ambientais de benzeno.

CAPÍTULO VI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). Resolução nº 40 de 25/10/2013. Disponível em: http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2013/outubro/ranp%2040%20-%202013.xml Acessado em:27/01/2014
2. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - ATSDR. Toxicological profile for benzene. Atlanta, USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007.
3. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological profile for benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, GA, USA. 2007
4. ALBERTINI R, BIRD M, DOERRER N, NEEDHAM L, ROBISON S, SHELDON L, ZENICK H. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessments. Environmental Health Perspectives. 2006; 114: 1755–62.
5. ALEGRETTI AP, THIESEN FV, MACIEL GP. Analytical method for evaluation of exposure to benzene, toluene, xylene in blood by gas chromatography preceded by solid phase microextraction. Journal of chromatography B. 2004; 809:183-7.
6. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNAMENTAL INDUSTRIAL HYGIENIST (ACGIH). Threshold Limit Values for Chemicals Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH, 2003.
7. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL HYGIENISTS. Benzene CAS number: 71-43-2. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Hygienists (ACGIH). 2001

8. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS (ACGIH). Threshold Limit Values (TLVs) for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices for 2013. ACGIH ,Cincinnati, OH, USA. 2013.
9. AMORIM LCA. O Uso dos Biomarcadores na Avaliação da Exposição Ocupacional a Substâncias Químicas. Revista Brasileira de Medicina do Trabalho. 2003; 1(2): 124- 32.
10. APOSTOLI, P. Application of Reference Values in Occupational Health. International Archives of Occupational and Environmental Health. 1999: 72; 191-4.
11. ARAÚJO AEO. Avaliação da genotoxicidade dos gases derivados do petróleo em trabalhadores expostos ocupacionalmente em ambientes fechados.(Dissertação de Mestrado em Patologia Molecular)- Universidade de Brasília, Brasília, 2008. Disponível em: http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/2880/1/Dissert_AnaElizabethOliveiraAraujo.pdf Acesso em: 28/01/2014
12. ARNOLD SM, ANGERER J, BOOGAARD PJ, HUGHES MF, O'LONE RB, ROBISON SH, SCHNATTER AR. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessment: benzene case study. Critical Reviews in Toxicology. 2013; 43(2): 119– 53.
13. ATKINSON T.J., A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: Summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2009; 212: 1–10.
14. AUGUSTO LGS, FREITAS CM. O Princípio da Precaução no uso de indicadores de riscos químicos ambientais em saúde do trabalhador.Ciência &

Saúde Coletiva. 1998; 3(2): 85-95. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/csc/v3n2/7153.pdf> Acesso em: 28/01/2014

15. AUTRUP, H. Polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation Research*, v. 464, n. 1, p. 65-76, 2000.

16. AYACH LR, GUIMARÃES STL, CAPPI N, AYACH C. Saúde, saneamento e percepção de riscos ambientais urbanos. *Caderno de Geografia*. 2012; 22 (37): 47-64.

17. BAGRYANTSEVA, Y. et al. Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers, and garagemen: Impact air pollution and genetic polymorphisms. *Toxicology Letters*, v. 199, n. 1, p. 60-68, 2010.

18. BAHADAR H, MOSTAFALOU S, ABDOLLAHI M. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: A global concern. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2014.

19. BARATA-SILVA C, PAVESI T, MITRI S, PEDRETE T, LIMA C, MEYER A, MOREIRA JC. Leukaemia incidence in residents of municipalities in the State of Rio de Janeiro between 2006 and 2014. *Journal of Public Health and Epidemiology*. 2016; 8(11); 269-77.

20. BARRY, K. H. et al. Genetic variation in metabolic genes: Occupational solvent exposure, and risk of non-Hodgkin linphoma. *American Journal of Epidemiology*, v. 173, n. 4, p.404-413, 2011.

21. BRANDÃO MM, RÊGO MAV, PUGLIESE L, CLARÊNCIO J, BASTOS CM, FERREIRA J, MEYERE R, NEVESD M, FREIRE SM. Phenotype analysis of lymphocytes of workers with chronic benzene poisoning. *Immunology Letters*. 2005; 101: 65–70.

22. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Risco Químico: Atenção a Saúde dos Trabalhadores expostos ao benzeno, Normais e Manuais Técnicos, Brasília, 2006.
23. BRASIL. MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. Acordo e legislação sobre o BENZENO. São Paulo, 1995.
24. BRASIL. Resolução N° 466. Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. 2012
25. BRASIL. SECRETARIA DE SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO. Portaria n.º 10, de 8 de setembro de 1994.
26. BRASIL. SEGURANÇA E MEDICINA DO TRABALHO. Normas Regulamentadoras do Ministério do Trabalho. Manuais de Legislação. (37° ed.). São Paulo: Editora Atlas. 2010.
27. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Risco Químico: Atenção à Saúde dos Trabalhadores Expostos ao Benzeno. Saúde do trabalhador, Protocolos de Complexidades Diferenciadas, Série A Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2006.
28. BRUGNONE F, PERBELLINI L, ROMEO L, BIANCHIN M, TONELLO A, PINALTO G, ZAMBON D, ZANON G. Benzene in environmental air and human blood. *International Archives of Occupational and Environmental Health*.1998; 71: 554-9.
29. BUTHBUMRUNG N, MAHIDOL C, NAVASUMRIT P, PROMVIJIT J, HUNSONTI P, AUTRUP H, RUCHIRAWAT M. Oxidative DNA damage and

influence of genetic polymorphisms among urban and rural schoolchildren exposed to benzene. *Chemico-Biological Interactions*. 2008; 172: 185- 94.

30. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Norma de Vigilância da Saúde dos Trabalhadores expostos ao Benzeno. Julho de 2003.

31. CAMPAGNA M, SATTÀ G, CAMPO L, FLORE V, IBBA A, MELONI M, TOCCO MG, AVATANEO G, FLORE C, FUSTINONI S, COCCO P. Analysis of potential influence factors on background urinary benzene concentration among a non-smoking, non-occupationally exposed general population sample. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2013.

32. CANALLE, R. et al. Genetic polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. v. 4, p. 100–109. 2004.

33. CARVALHO-OLIVEIRA R, POZO RMK, LOBO DJA, LICHTENFELS AJFC, MARTINS-JUNIOR HA, BUSTILHO JOWV, SAIKI M, SATO IM, SALDIVA PHN. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. *Environmental Research*. 2005; 98: 1–7.

34. CHANEY AM, CARLSON GP. Comparison of rat hepatic and pulmonary microsomal metabolism of benzene and the lack of benzene induced pneumotoxicity and hepatotoxicity. *Toxicology*. 1995; 104: 53–62.

35. COCCO P, TOCCO MG, IBBA A, SCANO L, ENNAS MG, FLORE C, SANNA RANDACCIO F. trans, trans-Muconic acid excretion in relation to environmental exposure to benzene. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2003; 76:456–60.

36. COLVARA, J. G. et al. Avaliação da contaminação de água subterrânea em poços artesianos no sul do Rio Grande do Sul. Braz. J. Food. Technol. Preprint Series, n. 02, 2009.
37. COMISSÃO EUROPÉIA. Council Directive 97/42/EC of 27 June 1997 amending for the first time Directive 90/394/EEC on protecting workers from risks related to exposure to carcinogens at work [Sixth Individual Directive according to Art. 16(1) of Directive 89/391/EEC]. Official Journal of the European Communities No. L179, 08.07.1997. Brussels, Belgium: European Commission; 1997.
38. COSTA DF. Prevenção da exposição ao benzeno no Brasil. 2009. 184 f. (Tese Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <
<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5144/tde-25092009-135349/pt-br.php>> Acesso em: 28/01/ 2014.
39. COSTA MAF, COSTA MFB. Benzeno: Uma questão de Saúde Pública. Interciência APR. 2002; 27(4). Disponível em:
http://www.scielo.org.br/scielo.php?pid=S037818442002000400009&script=sci_ar_text Acesso em: 28/01/ 2014.
40. COSTA MFB. Estudo da aplicabilidade do ácido *trans,trans*-Mucônico urinário como indicador biológico de exposição ao benzeno. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro. Escola Nacional de Saúde Pública, 2001.
41. COSTA, M.F.B.; MACHADO, J.M.H.; MOREIRA, J.; BRICKUS, L.S.R. Aplicabilidade do Ácido *trans,trans*-Mucônico Urinário como Indicador Biológico na Avaliação da Exposição Ocupacional ao Benzeno. Revista Brasileira de Toxicologia, 13: 63-68. 2000.

42. COTTICA D, GRIGNANI E. Evolution of technology and occupational exposures in petrochemical industry and in petroleum refining. *Giornale italiano di medicina del lavoro ed ergonomia's*. 2013; 35(4): 236-43.
43. COURA, R. S. et al. CYP1A1 and CYP2E1 polymorphism frequencies in a large Brazilian population. *Genetic and Molecular Biology*, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2007.
44. COUTO, JMS. ESTUDOS DE TRATABILIDADE DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA PETROQUÍMICA COM VISTAS AO REÚSO. Dissertação. 2014. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.
45. COUTRIM MX, CARVALHO LRF, ARCURI ASA. Avaliação dos métodos analíticos para a determinação de metabólitos do benzeno como potenciais biomarcadores de exposição humana ao benzeno no ar. *Química Nova*. 2000; 23(5): 653-63.
46. D'ALASCIO et al. Sintomas relacionados à exposição ocupacional ao benzeno e hábitos ocupacionais em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis a varejo na região sul de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, v. 12, n. 1, p. 21-29, 2014.
47. DE PALMA G, MUTTI A, SPATARI G, ANDREOLI R, MOZZONI P, CARRIERI M, MANNO M, APOSTOLI P. Biomarkers of effect and susceptibility to low doses of benzene. *Giornale italiano di medicina del lavoro*. 2013; 35(4): 259-62.
48. DIONÍSIO FSA, ROHLFS DB. Benzeno: dinâmica ambiental, efeitos na saúde e regulamentação. Pontifícia Universidade Católica De Goiás Programa De Pós-Graduação Em Biociências Forenses, 2013. Disponível em: <http://www.cpgls.ucg.br/7mostra/Artigos/SAUDE%20E%20BIOLOGICAS/Benzeno>

[_din%C3%A2mica%20ambiental,%20efeitos%20na%20sa%C3%BAde%20.pdf](#)

Acesso em: 28/01/2014.

49. DOUGHERTY D, GARTE S, BARCHOWSKY A, ZMUDA J, TAIOLI E. NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure- A literature review. *Toxicology Letters*. 2008; 182: 7-17.

50. DUCOS P, BERODE M, FRANCIN JM, ARNOUX C, LEFÈVRE C. Biological monitoring of exposure to solvents using the chemical itself in urine: application to toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2008; 81: 273-84.

51. ECO-USA. Toxics. Químicos. Benzeno. Disponível em: <http://www.eco-usa.net/toxics/quimicos-p/benzeno.shtml>. Acessado em: 31/01/2014.

52. EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed - SANTE/11945/2015, 1 jan. 2016.

53. FAN R, WANG D, SHE J. Method development for the simultaneous analysis of trans,trans-muconic acid, 1,2-dihydroxybenzene, S-phenylmercapturic acid and Sbenzylmercapturic acid in human urine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*. 2015; 7(2): 573–80.

54. FONTES T, BARROS N. Avaliação da exposição atmosférica do benzeno na área metropolitana do Porto. *Revista da Faculdade de Ciência e Tecnologia*. 2009;6: 96-109.

55. FUNK WE, WAIDYANATHA S, CHAING SH, RAPPAPORT SM. Hemoglobin adducts of benzene oxide in neonatal and adult dried blood spots. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2008; 17(8):1896-1901.
56. FUSTINONI S, CAMPO L, SATTA G, CAMPAGNA M, IBBA A, TOCCO MG, ATZERI S, AVATANEO G, FLORE C, MELONI M, BERTAZZI PA, COCCO P. Environmental and lifestyle factors affect benzene uptake biomonitoring of residents near a petrochemical plant. *Environment International*. 2012; 39: 2–7.
57. FUSTINONI S, ROSSELLA F, CAMPO L, MERCADANTE R, BERTAZZI PA. Urinary BTEX, MTBE and naphthalene as biomarkers to gain environmental exposure profiles of the general population. *Science Total Environmental*. 2010; 408(14):2840-9.
58. GAGNÉ S. Determination of *trans,trans*-muconic acid in workers' urine through ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. 2012; 27(5): 664-8.
59. GALBRAITH D, GROSS SA, PAUSTENBACH D. Benzene and human health: A historical review and appraisal of associations with various diseases. *Critical Reviews in Toxicology*. 2010; 40(2): 1–46.
60. GATTÁS, G. J.; SOARES-VIEIRA, J. A. Cytochrome P450-2E1 and glutathione Stransferase um polymorphisms among caucasians and mulattoes from Brazil. *Occupational Medicine*, v. 50, p. 508–511, 2000.
61. GODOI RHM, GODOI AFL, JUNIOR SJG, PARALOVO SL, BORILLO GC, BARBOSA CGG, ARANTES MG, CHARELLO RC, FILHO NAR, GRASSI MT, YAMAMOTO CI, POTGIETER-VERMAAK S, ROTONDO GG, DE WAEL K, GRIEKEN RV. Healthy environment — indoor air quality of Brazilian elementar

schools nearby petrochemical industry. *Science of the Total Environment*. 2013; 463–464:639–46.

62. GOMES RP. Métodos de extração com partição a baixa temperatura para a determinação de marcadores biológicos de exposição ao benzeno, em urina, por UHPLC-MS/MS. Dissertação. 2016. Universidade Federal de Ouro Preto. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

63. HARTWIG A. The role of DNA repair in benzene- induced carcinogenesis. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 184: 269-72.

64. HATAGIMA, A. Genetic polymorphism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. *Caderno de Saúde Pública*, v. 18, n. 2, p. 357-377, 2002.

65. HAYES, J. D.; PULFORD, D. J. The glutathione S-transferase supergene Family Regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, v. 30, p. 445–600, 1995.

66. HELLEBERG H, TÖRNQVIST M. A new approach for measuring protein adducts from benzo[a]pyrene dilepoxide by high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*. 2000; 14: 1644-53.

67. HOET P, DE SMEDT E, FERRARI M, IMBRIANI M, MAESTRI L, NEGRI S, DE WILDE P, LISON D, HAUFROID V. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2009; 82: 985–95.

68. HOPF NB, KIRKELEIT J, BRATVEIT M, SUCCOP P, TALASKA G, MOEN BE. Evaluation of exposure biomarkers in offshore workers exposed to low benzene

and toluene concentrations. International Archives of Occupational and Environmental Health. 2012; 85: 261-71.

69. http://populacao.net.br/populacao-campos-eliseos_duque-de-caxias_rj.html.

Acessado em 02/12/13 às 14:34.

70. <http://portal.baixadaon.com.br/duque-de-caxias/historia-de-duque-de-caxias-rj>.

Acessado em 03/12/13 às 09:45.

71. http://www.apellce.com.br/mapa_area_vulneravel.php. Acessado em 10/11/14 às 11:23.

72. http://www.apellce.com.br/mapa_de_acesso.php. Acessado em 10/11/14 às 11:23.

73. HU J, MA H, ZHANG W, YU Z, SHENG G, FU J. Effects of Benzene and Its Metabolites on Global DNA Methylation in Human Normal Hepatic L02 Cells. Environmental Toxicology. 2011; 1-9.

74. IBGE, 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/familias_e_domicilios/familias_e_domicilios_tab_munic_xls.shtm). Acessado em: 10/03/2017.

75. INFANTE PF. Benzene exposure and multiple myeloma: A detailed metaanalysis of benzene cohort studies. Annals of the New York Academy of Sciences. 2006; 1076:90–109.

76. INFANTE PF. The IARC October 2009 Evaluation of Benzene Carcinogenicity Was Incomplete and Needs to Be Reconsidered. American Journal of Industrial Medicine. 2011; 54: 157–64.

77. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Benzene. Monograph Evaluation Carcinogenic Risk Chemical Human. 1989; 45: 159-218.

78. JOHNSON ES, LANGARD S, LIN YU-S. A critique of benzene exposure in the general population. *Science of the Total Environment*. 2007; 374: 183- 98.
79. JOHNSON ES, LUCIER G. Perspectives on risk assessment impact of recent reports on benzene. *American Journal of Industrial Medicine*. 1992; 21: 749-57.
80. KATUKAM V, KULAKARNI M, SYED R, ALHARBI K, NAIK J. Effect of benzene exposure on fertility of male workers employed in bulk drug industries. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2012; 16(6): 592-7.
81. KIM S, LAN Q, WAIDYANATHA S, CHANOCK S, JOHNSON BA, VERMEULEN R, SMITH MT, ZHANG L, LI G, SHEN M, YIN S, ROTHMAN N, RAPPAPORT SM. Genetic polymorphisms and benzene metabolism in humans exposed to a wide range of air concentrations. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2007; 17(10): 789- 801.
82. KIM S. Benzene Metabolism in Humans: Dose-dependent Metabolism and Interindividual Variability [tese de doutorado]. Philosophy: University of North Carolina, 2006.
83. KOVISTO P, PELTONEN K. Analytical methods in DNA and protein adduct analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010; 398:2563-72.
84. LAN Q, ZHANG L, LI G, VERMEULEN R, WEINBERG RS, DOSEMECI M, RAPPAPORT SM, SHEN M, ALTER BP, WU Y, KOPP W, WAIDYANATHA S, RABKIN C, GUO W, CHANOCK S, HAYES RB, LINET M, KIM S, YIN S, ROTHMAN N, SMITH MT. Hematotoxicity in Workers Exposed to Low Levels of Benzene. *Science*. 2004; 306: 1774- 6.
85. LANDRIGAN P.J. The worldwide problem of lead in petrol. *Bulletin of World Health Organization*. 2002.

86. LAU SS, KUHLMAN C, BRATTON SB, MONKS TJ. Role of Hydroquinone-Thiol Conjugates in Benzene-Mediated Toxicity. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 184(1-2): 212–17.
87. LIMA CSP, LOURENÇO GJ, LORAND-METZE I, NASCIMENTO H, SAAD STO, COSTA FF. No contribution of GSTM1 and GSTT1 null genotypes to the risk of neutropenia due to benzene exposure in Southeastern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*. 2009; 32(4): 709-11.
88. LIN YU-S, VERMEULEN R, TSAI CH, WAIDYANATHA S, LAN Q, ROTHMAN N, SMITH MT, ZHANG L, LI G, YIN S, KIM S, RAPPAPORT SM. Albumin Adducts of Electrophilic Benzene Metabolites in Benzene- Exposed and Control Workers. *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115 (1): 28-34.
89. LOUREIRO APM, MASCIO PD, MEDEIROS MHG. Formação de adutosexocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagênese e carcinogênese. *Quimica Nova*. 2002; 25(5): 777-93.
90. LOVREGGIO P, BARBIERI A, CARRIERI M, SABATINI L, FRACASSO ME, DORIA D, DRAGO I, BASSO A, D'ERRICO MN, BARTOLUCCI GB, VIOLANTE FS, SOLEO L. 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 Health*. 2010; 83:341-56.
91. LOVREGGIO P, D'ERRICO MN, FUSTINONI S, DRAGO I, BARBIERI A, SABATINI L, CARRIERI M, APOSTOLI P, SOLEO L. Biomarkers of internal dose for the assessment of environmental exposure to benzene. *Journal of Environmental Monitoring*. 2011; 13: 2921-8.

92. MACDONALD KDD. Investigating The Role Of Reactive Oxygen Species In Benzoquinone-Mediated Dna Damage And Recombination In Fetal Hematopoietic Cells (dissertação) Department of Pharmacology and Toxicology. Queen's University Kingston, Ontario, Canada. 2010.
93. MACHADO JMH, COSTA DF, CARDOSO LM, ARCURI A. Alternativas e processos de vigilância em saúde do trabalhador relacionados à exposição ao benzeno no Brasil. *Ciência e Saúde Coletiva*. 2003; 8(4): 913-21.
94. MACIEL, M. E. et al. Population analysis of xenobiotic metabolizing genes in south brazilian euro and afro-descendants. *Genetics and Molecular Biology*, v. 32, p. 723–728, 2009.
95. MALUF E, HAMERSCHLAK N, CAVALCANTI AB, JÚNIOR AA, ELUF-NETO J, FALCÃO RP, LORAND-METZE IG, GOLDENBERG D, SANTANA CL, RODRIGUES DOW, PASSOS LNM, ROSENFELD LGM, PITTA M, LOGGETTO S, RIBEIRO AAF, VELLOSO ED, KONDO AT, COELHO EOM, PINTÃO MCT, SOUZA HM, BORBOLLA JR, PASQUINI R. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin American countries: the LATIN case-control study. *Haematologica*. 2009; 94(9): 1220-6.
96. MANDANI P, DESAI K, HIGHLAND H. Cytotoxic effects of benzene metabolites on human sperm function: An *in vitro* study. *ISRN Toxicology*. 2013; Article ID 397524.
97. MANUELA, C. et al. Environmental and biological monitoring of benzene in traffic policemen, police drivers and rural outdoor male workers. *Journal of Environmental Monitoring*, v. 14, n. 6, p. 1542-1550, 2012.

98. MARTINS I, SIQUEIRA MEPB. Determinação do ácido trans,trans-mucônico em urina: validação de um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2002; 38(2): 205-13.
99. MARTINS I, SIQUEIRA MEPB. Trans,trans-muconic acid in urine samples collected in three periods from benzene handling workers in a Brazilian refinery. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2004; 40(2): 197- 202.
100. MCHALE CM, ZHANG L, SMITH MT. Current understanding of the mechanism of benzene- induced leukemia in humans: implications for risk assessment. *Carcinogenesis*. 2012; 33(2):240-52.
101. MENEZES M, BALBÃO MS, SIQUEIRA MEPB, MARTINS I. Influência do hábito de fumar na excreção urinária do ácido trans, trans-mucônico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2008; 44(3): 459-64.
102. MIELKE HW, LAIDLAW MAS, GONZALES C. Lead (Pb) legacy from vehicle traffic in eight California urbanized areas: Continuing influence of lead dust on children's health. *Science of the Total Environmental*. 2010; 408: 3965–75.
103. Ministério da Educação, 2017. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/component/tags/tag/34167>. Acessado em: 04/03/2017.
104. MITRI, S. et al. Metabolic polymorphisms and clinical findings related to benzenepoisoning detected in exposed Brazilian gas-station workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 12, n.7, p. 8434-8447, 2015.
105. MONKS TJ, BUTTERWORTH M, LAU SS. The fate of benzene-oxide. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 184: 201–6.
106. MORO AM, CHARÃO MF, BRUCKER N, DURGANTE J, BAIERLE M, BUBOLS G, GOETHEL G, FRACASSO R, NASCIMENTO S, BULCÃO R, GAUER

B, BARTH A, BOCHI G, MORESCO R, GIODA A, SALVADOR M, FARSKY S, GARCIA SC. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. *Mutation Research*. 2013; 754:63-70.

107. NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH). *Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition*. NIOSH 1501. 2003.

108. NEBERT D.W., ROE A.L., VANDALE S.E., BINGHAM E., OAKLEY G.G., NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) polymorphism, exposure to benzene, and predisposition to disease: A HuGE review. *Genetics in Medicine*. 2002; 4(2).

109. NEBERT, D. W. et al. NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) polymorphism, exposure to benzene, and predisposition to disease: A HuGE review. *Genetics in Medicine*, v. 4, n.2, p. 62-70, 2002.

110. NORTH M, TANDON VJ, THOMAS R, LOGUINOV A, GERLOVINA I, HUBBARD AE, ZHANG L, SMITH MT, VULPE CD. Genome-Wide Functional Profiling Reveals Genes Required for Tolerance to Benzene Metabolites in Yeast. *PLOS ONE*. 2011; 6(8).

111. O'CONNELL KY, SMITH MT, DOSEMECI M, HAYES RB, ZHANG L, LI G, YIN S, ROTHMAN N, RAPPAPORT SM. Non-linear production of benzene oxide-albumin adducts with human exposure to benzene *Journal of Chromatography B*. 2002; 778: 367-74.

112. OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo. Ed. Atheneu 3ª Edição, 2005.

113. PANKO JM, GAFFNEY SH, BURNS AM, UNICE KM, KREIDER ML, BOOHER LE, GELATT RH, MARSHALL JR, PAUSTENBACH DJ. *Occupational*

exposure to benzene at the ExxonMobil refinery at Baton Rouge, Louisiana (1977–2005). *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2009; 6: 517–29.

114. PARREIRA FV, CARVALHO CR, CARDEAL ZL. Evaluation of Indoor Exposition to Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylene, and Styrene by Passive Sampling with a Solid-Phase Microextraction Device. *Journal of Chromatographic Science*. 2002; 40: 122-6.

115. PAULA FCS, SILVEIRA JN, JUNQUEIRA RG, LEITE EMA. Avaliação do ácido trans, trans-mucônico urinário como biomarcador de exposição ao benzeno. *Revista Saúde Pública*. 2003;37(6):780-5.

116. PAVANELLO, S.; CLONFERO, E. et al. Biological indicator of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. *Mutation Research*, v. 463, n. 3, p. 285-308, 2000.

117. PELALLO-MARTÍNEZ NA, BATRES-ESQUIVEL L, CARRIZALES-YÁÑEZ L, DÍAZ-BARRIGA FM. Genotoxic and Hematological Effects in Children Exposed to a Chemical Mixture in a Petrochemical Area in Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2014.

118. PHILLIPS DH. DNA adducts as markers of exposure and risk. *Mutation Research*. 2005; 577: 284-92.

119. PICCOLI, P. et al. In vitro CYP2E1 phenotyping as a new potential biomarker of occupational and experimental exposure to benzene. *Toxicology Letters*, v. 192, n. 1, p.29-33, 2010.

120. PINHEIRO, D. S. et al. Evaluation of glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 deletion polymorphisms on type-2 diabetes mellitus risk. *PLoS ONE*, v. 8, p. e76262, 2013.

121. POIRIER MC. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. 2004; 4. Disponível em: [www.nature.com/reviews/cancer. 630-7](http://www.nature.com/reviews/cancer.630-7)
122. PROTANO C, ANDREOLI R, MANINI P, VITALI M. Urinary *trans,trans*-muconic acid and S-phenylmercapturic acid are indicative of exposure to urban benzene pollution during childhood. *Science of the Total Environment*. 2012; 435-436: 115-23.
123. PYATT DW, AYLWARD LL, HAYS SM. Is age an independent risk factor for chemically induced acute myelogenous leukemia in children? *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2007; 10: 379–400.
124. RAPPAPORT SM, KIM S, LAN Q, VERMEULEN R, WAIDYANATHA S, ZHANG LP, LI GL, YIN SN, HAYES RB, ROTHMAN N, SMITH MT. Evidence that humans metabolize benzene via two pathways. *Environmental Health Perspectives*. 2009; 117(6): 946–52.
125. RAPPAPORT SM, KIM S, THOMAS R, JOHNSON BA, BOIS FY, KUPPER LL. Low-dose metabolism of benzene in humans: science and obfuscation. *Carcinogenesis*. 2013; 34(1): 2- 9.
126. RAPPAPORT SM, WAIDYANATHA S, QU Q, SHORE R, JIN X, COHEN B, CHEN LC, MELIKIAN AA, LI G, YIN S, YAN H, XU B, MU R, LI Y, ZHANG X, LI K. Albumin adducts of benzene oxide and 1,4-benzoquinone as measures of human benzene metabolism. *Cancer Research*. 2002; 62(5):1330– 7.
127. RASERA IM. Toxicidade do Benzeno, fontes de contaminação e análises laboratoriais. 2009. 28 f. (Especialização em Toxicologia Forense) – Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde. Novo Hamburgo, 2009. Disponível em:

<<http://ged.feevale.br/bibvirtual/Monografia/MonografiaIvanaRasera.pdf>> Acesso em: 28/01/ 2014.

128. REBBECK, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotype GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology Biomarker Prevention*, v. 6, p. 733–743, 1997.

129. REKHADEVI PV, MAHBOOB M, RAHMAN MF, GROVER P. Determination of genetic damage and urinary metabolites in fuel filling station attendants. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2011; 52(4):310-8.

130. RIBEIRO, HCDN. DESVENDANDO A RESPOSTA DOS EOSINÓFILOS, DOS NEUTRÓFILOS E DOS MONÓCITOS NAS PARASITOSES INTESTINAIS, NA ASMA E NA ASSOCIAÇÃO DE AMBAS EM CRIANÇAS. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. 2015.

131. RIOS NT. Educação ambiental em escolas próximas ao Pólo Industrial de Campos Elíseos: a influência do contexto industrial e do risco. (Dissertação de Mestrado em Educação). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: http://www.educacao.ufrj.br/ppge/dissertacoes/dissertacao_natalia_rios.pdf.

Acesso em: 10/11/14.

132. ROSA JCF, FIEGENBAUM M, SOLEDAR AL, CLAUS MS, NUNES ADS, CARDOSO VV. Cytogenetic evaluation and the association with polymorphisms of the *CPY1A1* and *NR1I3* genes in individuals exposed to BTEX. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2013; 185: 5883-90.

133. ROSA ACS. Avaliação dos níveis basais de metabólitos de agrotóxicos piretroides na população adulta da cidade do Rio de Janeiro: Contribuição para a

vigilância em saúde no país Tese de doutorado. 2017. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz. Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente

134. ROSS D, ZHOU H. Relationships between metabolic and non-metabolic susceptibility factors in benzene toxicity. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 184: 222– 8.

135. ROSS D. Metabolic basis of benzene toxicity. *European Journal of Haematology*. 1996; 57(60):111– 8.

136. ROSS D. The role of metabolism and specific metabolites in benzene-induced toxicity: evidence and issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2000; 61: 357-72.

137. ROSS, D. Function and distribution of NQO1 in human bone marrow: potential clues to benzene toxicity. *Chemico-Biology Interaction*, v. 30, n. 153-154, p. 137-146, 2005.

138. ROSSINI, A. et al. CYP2A6 and CYP2E1 polymorphisms in a Brazilian population living in Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*, v. 39, p. 195–201, 2006.

139. ROSSINI, A. et al. Frequencies of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms in a Brazilian population. *Genetics and Molecular Research*, v. 3, p. 233–240, 2002.

140. ROTHMAN N. et al. Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQO1 609C/T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Research*, v. 57, n. 14, p. 2839–2842, 1997.

141. RUIZ, M. A. Alterações hematológicas do benzenismo. *Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 9, p. 129–134, 1987.

142. RUIZ, M. A. et al. Bone marrow morphology in patients with neutropenia due to chronic exposure to organic solvents (benzene): Early lesions. *Pathology Research and Practice*, v. 190, n. 2, p. 151-54, 1994.
143. RUIZ, M. A.; VASSALLO, J.; SOUZA, C. A. Alterações hematológicas em pacientes expostos cronicamente ao benzeno. *Revista de Saúde Pública*, v. 27, p. 145–151, 1993.
144. SABATINI L, BARBIERI A, INDIVERI P, MATTIOLI S, VIOLANTE FS. Validation of an HPLC–MS/MS method for the simultaneous determination of phenylmercapturic acid, benzylmercapturic acid and o-methylbenzyl mercapturic acid in urine as biomarkers of exposure to benzene, toluene and xylenes. *Journal of Chromatography B*. 2008; 863: 115-22.
145. SAHMEL J, DEVLIN K, BURNS A, FERRACINI T, GROUND M, PAUSTENBACH D. An Analysis of Workplace Exposures to Benzene Over Four Decades at a Petrochemical Processing and Manufacturing Facility (1962–1999). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2013; 76: 723–46.
146. SANTIAGO F, ALVES G, OTERO UB, TABALIPA MM, SCHERRER LR, KOSYAKOVA N, ORNELLAS MH, LIEHR T. Monitoring of gas station attendants exposure to benzene, toluene, xylene (BTX) using three-color chromosome painting. *Molecular Cytogenetics*. 2014; 7:15.
147. SANTOS MA, TÁVORA BE, KOIDE S, CALDAS ED. Human risk assessment of benzene after a gasoline station fuel leak. *Revista Saúde Pública*. 2013;47(2):335-44.
148. SAVITZ DA, ANDREWS KW. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. *American Journal of Industrial Medicine*. 1997; 31:287–95.

149. SCHERER G, RUPPERT T, DAUBE H, KOSSIEN I, RIEDEL K, TRICKER AR, ADLKOFER F. Contribution of tobacco smoke to environmental benzene exposure in Germany. *Environmental International*.1995; 21: 779-89.
150. SCHNATTER A.R., ROSAMILIA K., WOJCIK N.C. Review of the literature on benzene exposure and leukemia subtypes. *Chemico-Biological Interactions*. 2005; 153–154: 9–21.
151. SEATON, M. J. et al. Benzene metabolism by human liver microsomes in relation to cytochrome P4502E1 activity. *Carcinogenesis*, v. 15, n. 9, p. 1799-1806, 1994.
152. SILVA, J. et al. Evaluation of genetic damage in a brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. *Mutagenesis*, v. 23, p. 415–422, 2008.
153. SILVEIRA, V. S. et al. Role of the CYP2D6, EPHX1, MPO, and NQO1 genes in the susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in Brazilian children. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 51, p. 48–56, 2010.
154. SMITH MT, JONES RM, SMITH AH. Benzene exposure and risk of non- Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2007; 16: 385–91.
155. SNYDER R, HEDLI CC. An overview of benzene metabolism. *Environmental Health Perspectives Supplements*.1996; 104: 1165–71.
156. SNYDER, R. Benzene and leukemia. *Critical Reviews in Toxicology*. 2002; 32: 155-210.
157. SNYDER, R.; WITZ, G.; GOLDSTEIN, B. D. The Toxicology of Benzene. *Environmental Health Perspectives*, v. 100, p. 293-306, 1993.

158. SORENSEN M, SKOV H, AUTRUP H, HERTEL O, LOFT S. Urban benzene exposure and oxidative DNA damage: influence of genetic polymorphisms in metabolism genes. *The Science of the Total Environment*. 2003; 309: 69–80.
159. STEFFEN C, AUCLERC MF, AUVRIGNON A, BARUCHEL A, KEBAILI K, LAMBILLIOTTE A, LEVERGER G, SOMMELET D, VILMER E, HÉMON D, CLAVEL J. Acute childhood leukaemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons; a case-control study. *Occupational and Environmental Medicine*. 2004; 61: 773–8.
160. STEINMAUS C, SMITH AH, JONES RM, SMITH MT. Meta-analysis of benzene exposure and non-Hodgkin lymphoma: biases could mask an important association. *Occupational and Environmental Medicine*. 2008; 65: 371–378.
161. TANG, K. et al. Genetic polymorphism analysis of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in Chinese Han populations from four different geographic areas of mainland china. *Genomics*, v. 95, n. 4, p. 224-229, 2010.
162. TORNQVIST M, FRED C, HAGLUND J, HELLEBERG H, PAULSSON B, RYDBERG P. Protein adducts: quantitative and qualitative aspects of their formation, analysis and applications. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2002; 778: 279–308.
163. TOVALIN-AHUMADA H, WHITEHEAD L. Personal exposures to volatile organic compounds among outdoor and indoor workers in two Mexican cities. *Sci Total Environ*. 2007; 376: 60–71.
164. TREVISAN P, SILVA JN, SILVA AP, ROSA RFM, PASKULIN GA, THIESEN FV, OLIVEIRA CAV, ZEN PRG. Evaluation of genotoxic effects of

benzene and its derivatives in workers of gas stations. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2014; 186:2195–2204.

165. TUAKUILA J. S-phenylmercapturic acid (S-PMA) levels in urine as an indicator of exposure to benzene in the Kinshasa population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013; 216(4): 494–8.

166. TUNSARINGKARN T, SOOGARUN S, PALASUWAN A. Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary *trans,trans*-muconic acid. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2013; 4: 45-9.

167. US EPA. The Total Exposure Assessment Methodology (TEAM) Study. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency; 1987.

168. VAZ, A.J., Distribuição desigual de riscos: observações sobre desigualdades ambientais no entorno da refinaria REDUC. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: www.agb.org.br/evento/download.php?idTrabalho=1924. Acessado em: 26/10/2013.

169. VIEIRA AC, ZAMPIERI RA, SIQUEIRA MEPB, MARTINS I, FIGUEIREDO EC. Molecularly imprinted solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of urinary *trans,trans*-muconic acid: a comparison with ionic exchange extraction. *Analyst*. 2012; 137: 2462-9.

170. WALLACE L. Environmental exposure to benzene: an update. *Environmental Health Perspectives*. 1996; 104(6): 1129-36.

171. WAN J, SHI J, HUI L, WU D, JIN X, ZHAO N, HUANG W, XIA Z, HU G. Association of genetic polymorphisms in CYP2E1, MPO, NQO1, GSTM1, and

GSTT1 genes with benzene poisoning. Environ Health Perspect. 2002;110:1213–8.)

172. WAN, J. et al. Association of genetic polymorphisms in CYP2E1, MPO, NQO1, GSTM1, and GSTT1 genes with benzene poisoning. Environmental Health Perspectives, v. 110, n. 12, p. 1213-1218, 2002.

173. WANG, L. et al. Stem cell and benzene-induced malignancy and hematotoxicity. Chemical Research Toxicology, v. 25, n. 7, p. 1303-1315, 2012.

174. WEAVER VM, BUCKLEY T, GROOPMAN JD. Lack of specificity of *trans,trans*- muconic acid as a benzene biomarker after ingestion of sorbic acid-preserved foods. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 2000; 9: 749-55.

175. WEISEL CP. Benzene exposure: An overview of monitoring methods and their findings. Chemico-Biological Interactions. 2010; 184: 58–66.

176. XING C, MARCHETTI F, LI G, WELDON RH, KURTOVICH E, YOUNG S, SCHMID TE, ZHANG L, RAPPAPORT S, WAIDYANATHA S, WYROBEK AJ, ESKENAZI B. Benzene exposure near the U.S. permissible limit is associated with sperm aneuploidy. Environmental Health Perspectives. 2010; 118(6): 833-9.

177. YE L, ZHANG G, HUANG J, LI Y, ZHENG G, ZHANG D, ZHOU L, TAO X, ZHANG J, YE Y, SUN P, FRANK A, XIA Z. Are polymorphisms in metabolism protective or a risk for reduced white blood cell counts in a Chinese population with low occupational benzene exposures? International Journal of Occupational and Environmental Health. 2015; 21(3).

178. ZARTH A, CHENG G, ZHANG Z, WANG M, VILLALTA PW, BALBO S, HECHT SS. Analysis of the benzene oxide-DNA adduct 7-phenylguanine by liquid chromatography-nanoelectrospray ionization-high resolution tandem mass

spectrometry-parallel reaction monitoring: Application to DNA from exposed mice and humans. *Chemico-Biological Interactions*. 2014: 1-6.

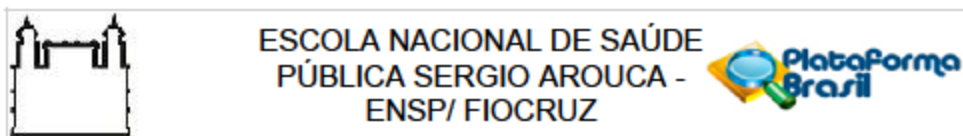
179. ZHANG JJ, LIOY PJ. Human Exposure Assessment in Air Pollution Systems. *The Scientific World JOURNAL*. 2002; 2: 497–513.

180. ZHANG, G. H. et al. Effect of polymorphic metabolizing genes on micronucleus frequencies among benzene-exposed shoe workers in China. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 217, n. 7, p. 726-732, 2014.

181. ZUCCHI TD, ZUCCHI FD, POLI P, MELO IS, ZUCCHI TMAD. A short-term test adapted to detect the genotoxic effects of environmental volatile pollutants (benzene fumes) using the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Journal Environmental Monitoring*. 2005; 7: 598-602.

ANEXOS

ANEXO A: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP/FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da área sob influência do Pólo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense

Pesquisador: Cristiane Barata Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 40514415.0.0000.5240

Instituição Proponente: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 945.151

Data da Relatoria: 03/02/2015

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa da aluna de doutorado Cristiane Barata Silva, do programa de Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP), sob a orientação do Prof. Josino Costa Moreira. O projeto foi qualificado em 17/12/2014 e a pesquisa será realizada com financiamento próprio, com um orçamento previsto de R\$ 11.000,00. O cronograma está atualizado e o nome do orientadora foi incluído na equipe de pesquisa.

Resumo: O uso indiscriminado de um número cada vez maior de substâncias químicas vem aumentando e a contaminação ambiental associada tem trazido sérias conseqüências para o Sistema Público de Saúde devido à elevação de danos para a saúde humana. Uma das substâncias que tem despertado grande interesse devido à contaminação contemporânea é o benzeno, composto aromático classificado pelo IARC como reconhecidamente carcinogênico para humanos. É uma das substâncias mais produzidas em termos de quantidade e diversidade, além de fazer parte da composição de óleos naturais e da gasolina, esta inclusive presente na fumaça de cigarros. Sua ação carcinogênica faz com que o controle sobre o uso dessa substância seja feito com maior rigor e precaução, visto que admite-se que para substâncias carcinogênicas e genotóxicas não há limite seguro de exposição. Em geral a população está exposta a essa substância por meio da inalação de ar contaminado. A concentração atmosférica desse

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: 945.151

contaminante varia conforme a localização de suas potenciais fontes emissoras, ou seja, locais próximos ou com aglomeração de várias fontes, tanto as pontuais como as difusas, apresentam concentrações mais elevadas podendo ser superiores a 10 ppm. Sendo assim, os moradores que residem ou trabalham no entorno destes ambientes, como os das indústrias químicas, de postos de gasolinas, oficinas mecânicas e de exploração petrolífera estarão sujeitos a uma exposição ambiental com concentrações mais elevadas deste xenobiótico do que as recomendadas pelos órgãos regulamentadores.

Metodologia: O desenho utilizado para o estudo é o observacional do tipo descritivo exploratório, com a descrição da população residente na proximidade das indústrias petroquímicas. O tipo de amostragem adotada para a realização deste trabalho será a amostragem por conveniência. O estudo tentará promover a associação da exposição ambiental com os diferentes biomarcadores mensurados, como o ácido S-fenilmercaptúrico, aduto de proteína e polimorfismo das enzimas responsáveis por seu metabolismo e excreção. O tamanho da amostra será de 200 indivíduos.

Critério de Inclusão: O grupo de estudo será formado por indivíduos que residam até 1000 metros de distância do pólo petroquímico na região de Campos Elíseos. Este será composto por adultos (idade 18 anos) do sexo masculino e feminino, de diferentes faixas etárias e raças e que residam em Campos Elíseos a pelo menos 3 meses.

Critério de Exclusão: Serão excluídos deste estudo residentes que estejam expostos ocupacionalmente ao benzeno, como operários de indústrias petroquímica, frentistas de posto de gasolina, mecânicos e guardas de trânsito. Além desses, indivíduos que possuem histórico de neoplasias malignas, distúrbios cardiovasculares e que sejam mentalmente incapazes de responder o questionário.

Objetivo da Pesquisa:

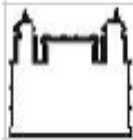
OBJETIVO PRIMÁRIO:

Avaliar os níveis de contaminação de residentes da área sob influência do Polo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense expostos ambientalmente ao benzeno.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS:

Caracterizar, por meio do uso de questionários, a população em estudo; Determinar a concentração do ácido fenilmercaptúrico urinário nos indivíduos de estudo; Estabelecer valores de referência do ácido fenilmercaptúrico urinário neste segmento populacional do Rio de Janeiro; Determinar as concentrações atmosféricas de benzeno nas áreas geográficas estudadas;

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



Continuação do Parecer: 945.151

Determinar as concentrações de adutos de albumina dos indivíduos do estudo; Estudar os polimorfismos enzimáticos mais importantes (CYP2E1, NQO1, GSTT e GSTM) neste grupo; Investigar as possíveis correlações entre os dados oriundos dos questionários, como idade, ocupação, sexo e hábitos de vida, e os resultados analíticos obtidos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo a aluna "É possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos: um ligeiro desconforto na coleta de sangue (semelhante à picada de um inseto), com pequena ardência no lugar onde este foi coletado. Na aplicação do questionário, caso haja desconforto ou constrangimento, o pesquisado pode retirar da pesquisa sem nenhuma penalidade". Considerando que toda pesquisa envolve riscos, de acordo com a Resolução CNS 466/2012, deve-se analisar a possibilidade de danos imediatos ou posteriores no plano individual ou coletivo, decorrentes da possível divulgação pela mídia e exposição dos residentes. A coleta de sangue deve ser realizada por profissional treinado e pode oferecer riscos além do desconforto, devendo-se garantir o atendimento imediato. Não foi informado como serão abordados os participantes e qual a estratégia para obter os Termos de Consentimento.

Benefícios:

O benefício relacionado com a participação neste estudo é o de colaborar com a pesquisa científica a partir do aprofundamento do conhecimento do ambiente em que o indivíduo da área estudada habita e os possíveis efeitos que este exerce sobre a saúde, o que pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias públicas de saúde mais eficientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

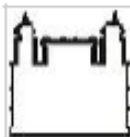
O projeto é relevante e apresenta os elementos necessários à apreciação ética do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

- Projeto na íntegra:
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O Termo necessita de adequações.
- Questionário

Endereço: Rua Leopoldo Buihães, 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: 945.151

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Reelaborar a declaração de riscos no Pb_Informações_Básicas_do_Projeto;
2. Informar onde serão realizadas as análises laboratoriais e apresentar termo de anuência do responsável pelo setor ou departamento;
3. No TCLE:
 - a) De acordo com o item V da Resolução CNS 466/2012, Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e graduações variados. Maiores ou menores, de acordo com o objeto de pesquisa, seus objetivos e a metodologia escolhida. O pesquisador deverá identificar os riscos, esclarecer e justificá-los aos participantes da pesquisa, bem como as medidas para minimizá-los. O risco relacionado à coleta de sangue não está completamente informado e nem como será garantido o atendimento caso seja necessário.
 - b) Explicitar quais as análises que serão realizadas nas amostras de sangue e urina coletadas e que será feita a extração do DNA para estudos de polimorfismos e, caso haja intenção de utilizar o material coletado em pesquisas futuras, informar que este será armazenado e incluir um campo específico para a autorização do participante;
 - c) incluir a informação sobre o descarte das amostras, de acordo com as normas previstas na Resolução CNS Nº 441/2011(alínea C, do Inciso II, Art. 12);
 - d) Informar que o TCLE será redigido em duas vias, uma para o participante da pesquisa e a outra para o pesquisador responsável, de acordo com o modelo recomendado na página eletrônica do CEP/ENSP.
 - e) Esclarecer se o projeto será submetido a algum órgão, devido aos custos declarados pela pesquisadora (11 mil reais).

Situação do Parecer:

Pendente

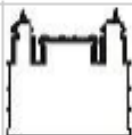
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

As pendências deverão ser respondidas no "formulário de respostas às pendências", disponível na página eletrônica do CEP. Documentos alterados a serem anexados após o parecer do CEP deverão ser nomeados com a palavra "modificado".

Endereço: Rua Leopoldo Buihães, 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: 945.151

As pendências deverão ser atendidas no prazo máximo de trinta (30) dias a contar da data de emissão do parecer na Plataforma Brasil. O

projeto será arquivado quando o pesquisador descumprir o prazo para enviar as respostas às pendências apontadas ou para recorrer (CNS nº 001/2013 - Res.CNS 466/2012).

Ressalta-se que o pesquisador deve aguardar Parecer da Aprovação do CEP/ENSP, após a revisão das pendências, para dar início à pesquisa.

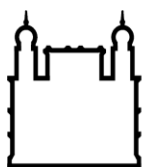
RIO DE JANEIRO, 04 de Fevereiro de 2015

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

Página 05 de 05

ANEXO B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa “**Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da área sob influência do Pólo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense**”, desenvolvida por Cristiane Barata Silva, discente de Doutorado em Saúde Pública e Meio ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/FIOCRUZ), sob orientação do Professor Dr. Josino Costa Moreira.

Sobre o objetivo central

O objetivo central do estudo é: **medir a exposição ambiental ao benzeno e os possíveis efeitos gerados.**

Por que o participante está sendo convidado (critério de inclusão)

O convite a sua participação se deve ao fato de morar em Campos Elíseos/ Duque de Caxias-RJ.

Sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória, e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como retirar sua participação a qualquer momento. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas.

Mecanismos para garantir a confidencialidade e a privacidade

Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será armazenado em local seguro. Os investigadores se obrigam a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante deste estudo. Os resultados das análises realizadas neste estudo serão fornecidos aos indivíduos participantes, ficando terminantemente vetada a liberação das informações confidenciais a terceiros.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

Procedimentos detalhados que serão utilizados na pesquisa

A sua participação consistirá em responder perguntas de um roteiro de questionário aos pesquisadores do projeto. Além disso, você usará um amostrador passivo durante o período de 24 horas e fará exames de sangue, onde será coletado 10 mL de sangue em tubos de vidro com agulhas descartáveis, e de urina.

Tempo de duração da entrevista/procedimento/experimento

O tempo de duração da entrevista é de aproximadamente 30 minutos, e da coleta de sangue de aproximadamente 5 minutos e urina será coleta por você.

Guarda dos dados e material coletados na pesquisa

Os questionários serão armazenados, em arquivos digitais, mas somente terão acesso às mesmas a equipe de pesquisa.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução 466/12 e orientações do CEP/ENSP.

Explicitar benefícios diretos (individuais ou coletivos) ou indiretos aos participantes da pesquisa

O benefício relacionado com a sua colaboração neste estudo é o de colaborar com a pesquisa científica a partir do aprofundamento do conhecimento do ambiente em que você habita e os possíveis efeitos que este exerce sobre a sua saúde, o que pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias públicas de saúde mais eficientes.

Previsão de riscos ou desconfortos

É possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos: um ligeiro desconforto na coleta de sangue (semelhante à picada de um inseto), com pequena ardência no lugar onde este foi coletado. Na aplicação do questionário, caso haja desconforto ou constrangimento, o senhor pode retirar-se da pesquisa sem nenhuma penalidade.

Sobre divulgação dos resultados da pesquisa

Os resultados desta pesquisa serão divulgados relatórios individuais para os entrevistados, artigos científicos e em dissertação/tese.

Este termo é redigido em duas vias (não será fornecida cópia ao sujeito, mas sim outra via), sendo uma para o participante e outra para o pesquisador. Todas as páginas deverão ser rubricadas pelo participante da pesquisa e pelo pesquisador responsável (ou pessoa por ele delegada e sob sua responsabilidade), com ambas as assinaturas apostas na última página.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Tel e Fax - (0XX) 21- 25982863

E-Mail: cep@ensp.fiocruz.br

<http://www.ensp.fiocruz.br/etica>

Endereço: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/ FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões, 1480 –Térreo - Manguinhos - Rio de Janeiro – RJ - CEP: 21041-210

Nome e Assinatura do Pesquisador – Cristiane Barata Silva

Contato com o pesquisador responsável:

Tel: (21)2598-2967

e-mail: cristianebarata@hotmail.com

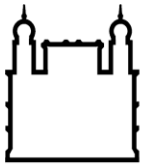
Rio de Janeiro, ____ de _____ de _____

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Assinatura do participante da pesquisa

Nome do participante:

ANEXO C: Questionário



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO BENZENO EM MORADORES DA ÁREA SOB INFLUÊNCIA DO PÓLO INDUSTRIAL NA REGIÃO DE CAMPOS ELÍSEOS, BAIXADA FLUMINENSE

- 1-Identificação: _____ 2-Data: __/__/__
- 3-Nome: _____
- 4-Data de nascimento: __/__/__ 5-Idade: ____ 6-Sexo: 1-feminino 2-masculino
- 7-Endereço: _____
- 8-Cidade: _____ 9-Estado: _____ 10-CEP: _____
- 11-Telefone: _____ 12-Telefone para contato: _____
- 13-Há quanto tempo mora na localidade? _____
- 13.1- Onde morava antes? _____
- 14-Naturalidade (cidade onde nasceu): _____
- 15-Raça/Etnia:
- 1-Branco 2-Negro 3-Mestiço 4-Asiático 5-Índio
- 16- Estado Conjugal:
- 1-Solteiro 2-Casado 3-Separado 4-Divorciado 5-Viúvo
- 17- Escolaridade:
- 1- 1ª à 4ª série 2- 5ª à 8ª série 3-2º grau 4-Superior
- 18- O Sr.(a) tem algum problema de saúde atualmente?
- 1- Sim 2- Não
- 18.1- Se SIM, qual?
- 1- Problemas cardiovasculares 2- Neoplasias malignas (câncer)
- 3- Alteração no exame de sangue. Quais? _____
- 4- Outros: _____

19- O Sr.(a) teve algum problema de saúde no último ano?

1- Sim 2- Não

19.1- Se SIM, qual?

1- Problemas cardiovasculares 2- Neoplasias malignas (câncer)

3- Outros: _____

20-Sr.(a) trabalha?

1- Sim 2- Não

20.1-Que tipo de trabalho? _____

20.2- Local do trabalho:

1-Dentro de casa 2-Fora de casa. Onde: _____

21-Você já trabalhou antes?

1- Sim 2- Não

21.1-Que tipo de trabalho Sr.(a) fazia? _____

22- Normalmente, nas horas de folga, onde Sr.(a) passa a maior parte do seu tempo?

1- no interior de sua residência 2- no quintal 3- na rua de sua residência 4- em seu bairro 5- fora do município de sua residência 6- outros

23- Quantas horas por dia, em média, Sr.(a) fica em sua residência nos dias da semana? _____

24-Sr.(a) faz algum trabalho extra durante as horas de folga?

1- Sim 2- Não

24.1-Que tipo de trabalho? _____

25-Idade que começou a trabalhar: _____ anos

26- Manipulou que tipo de substâncias químicas (antes e/ou durante a jornada de trabalho)?

1- vernizes e tintas 2-colas 3-produtos limpeza 4-gasolina 5- outros solventes _____

27- Fumo:

1- Sim 2- Não

27.1- Se SIM:

Número de cigarros fumados durante o dia:

1- 10 ou menos 2- 11 a 20 3- 21 a 30 4- 31 ou mais

27.2- Se NÃO:

Já fumou? _____ Por quanto tempo? _____ Quanto tempo parou? _____

27.3- Alguém da sua residência fuma? 1- Não 2- Sim Em que local? _____

28- Faz uso de alguma substância entorpecente ilícita?

1- Sim 2- Não

29- Bebida Alcoólica:

1- Sim 2- Não

29.1- Se SIM, que tipo de bebidas alcoólicas Sr.(a) costuma beber?

1- cerveja 2- vinho 3- destilados 4- outros

29.2- Se SIM, com que frequência?

1- 1x/semana 2- 3x/semana 3- Mais vezes/ semana

30- Consome qual tipo de alimento?

1- refrigerante 2- biscoito 3- linguiça 4- enlatados

5- outros industrializados: _____

30.1- Com que frequência?

1- 1x/semana 2- 3x/semana 3- Mais vezes/ semana

31- Como realiza o cozimento de seus alimentos?

1- fogão a gás de rua 2- fogão a gás de botijão 3- fogão à lenha

4- outra: _____

32-

	Pessoas que moram na residência	Sexo	Profissão	Idade	Escolaridade	Fuma
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

33- Forma de moradia:

1- alugada 2- cedida 3- própria 4- outra: _____

34- Tipo de casa:

1- alvenaria 2- madeira 3- mista 4- outra: _____

35- Número de cômodos na moradia:

1- até 5 2- de 6 a 10 3- acima de 10

36- Quantas janelas e portas tem na moradia:

1- até 3 2- de 4 a 10 3- acima de 10

36.1- Estas são abertas com qual frequência?

1- todo dia 2- 3x/semana 3- 1x/semana 4- Menos

36.2- Por quanto tempo estas ficam abertas?

1- 0 a 4 horas 2- 5 a 9 horas 3- 10 a 14 horas 4- 15 a 19 horas 4- 20 a 24 horas

37- Qual a renda familiar total:

1- menor que 2 salários mínimos 2- De 3 a 5 salários mínimos 3- De 5 a 10 salários mínimos

4- Mais de 10 salários mínimos

38- Tem energia elétrica ligada na casa?

1- Sim 2- Não

38.1- Se NÃO, como ilumina sua residência? _____

39- A residência está ligada à rede de abastecimento de água?

1- Sim 2- Não

40- Existe coleta pública domiciliar do lixo na região?

1- Sim 2- Não

40.1- Se NÃO, o que/como faz com o lixo:

1- compostagem 2- deixa ao redor da casa 3- enterra 4-joga no rio 5-queima 6- recicla 7-outros: _____

41- Usa em sua residência produtos químicos que pode fazer mal à saúde da sua família?

1- Sim 2- Não

42- Alguém em sua casa já passou mal por usar algum produto químico?

1- Sim 2- Não

43- Na sua cidade existe problema de poluição?

1- Sim 2- Não

44- O Sr.(a) sente algum mal estar relacionado a odor desagradável?

1- Sim 2- Não 3- Não Sabe

44.1- Se SIM, o odor relatado é similar a:

1- Gases 2- Lixo 3- esgoto 4- Não Sabe identificar que cheiro é

45- Em alguma situação específica? Quando?

1- Chove 2- Está muito seco 3- Em mais de uma situação 4- Faz frio 5- Faz calor 6- Constantemente

46- Localização da fonte de emissão do odor relatado:

1- Dentro do domicílio 2- Fora do domicílio 3- Não sabe relatar

Amostrador passivo: Tempo inicial.....horas

Tempo final.....horas

OBSERVAÇÃO: _____

Entrevistador:

ANEXO D: Cartilha distribuída à população



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa **“Avaliação da exposição ambiental ao benzeno em moradores da área sob influência do Pólo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense”**, desenvolvida por Cristiane Barata Silva e Josino Costa Moreira da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/FIOCRUZ).

Este projeto vai medir se cada um dos participantes está contaminado pelo benzeno, substância capaz de provocar vários problemas de saúde e inclusive o câncer. Serão feitos exames de sangue e de urina para determinar se está ocorrendo ou se pode vir a ocorrer efeitos sobre a saúde dos participantes, e possivelmente de todos os moradores da região.

Você está sendo convidado por morar em Campos Elíseos/ Duque de Caxias-RJ, próximo à refinaria Duque de Caxias e a outras indústrias químicas. A participação é totalmente voluntária e você pode desistir a qualquer momento. O benefício a ser obtido com este projeto está relacionado com o conhecimento do seu estado de saúde e, em caso de identificado algum problema orientá-lo e encaminhá-lo para tratamento.

Contato com o pesquisador responsável:

Cristiane Barata/ Josino Moreira

Tel: (21)2598-2967/2598-2968

e-mail: cristianebarata@hotmail.com

josinocm@fiocruz.br

ANEXO E: Resultado dos níveis de S-PMA dos participantes deste estudo

Identificação do CESTEHE	Concentração de S-PMA ng mL ⁻¹	Creatinina mg dL ⁻¹	Concentração de S-PMA/ Creatinina (ng mg ⁻¹ de creatinina)
2016/0596	3,59	281,99	1,272
2016/0607	2,88	150,85	1,908
2016/0630	2,02	196,05	1,029
2016/0636	5,02	153,75	3,263
2016/0645	3,20	204,83	1,564
2016/0659	2,12	238,97	0,887
2016/0712	15,14	189,17	8,005
2016/0722	1,91	76,08	2,517
2016/0801	2,08	86,92	2,387
2016/0804	2,04	102,35	1,990
2016/0805	1,91	166,72	1,148
2016/0811	1,92	69,25	2,772
2016/0843	1,89	139,50	1,356
2016/0848	1,91	95,15	2,009
2016/0870	1,91	111,19	1,717
2016/0917	2,22	225,14	0,986
2016/0918	1,95	184,14	1,058
2016/0920	1,97	223,15	0,883
2016/0923	1,92	241,93	0,796
2016/0925	2,34	243,06	0,964
2016/0926	2,27	172,16	1,317

ANEXO F: Artigos Relacionados a Tese

Benzeno: reflexos sobre a saúde pública, presença ambiental e indicadores biológicos utilizados para a determinação da exposição

Benzene: reflections on public health, environmental presence and biological indicators used for the determination of exposure

Cristiane Barata-Silva¹, Simone Mitri², Thelma Pavese³, Enrico Saggiore⁴,
Josino Costa Moreira⁵

Resumo

O uso indiscriminado de um número cada vez maior de substâncias químicas vem aumentando e a contaminação ambiental associada tem trazido sérias consequências para o sistema público de saúde devido à elevação de danos para a saúde humana. Uma das substâncias que desperta grande interesse devido à contaminação contemporânea é o benzeno, composto aromático classificado pela *International Agency for Research on Cancer* como reconhecidamente carcinogênico para humanos. O objetivo do presente estudo foi elaborar e discutir um panorama sobre a contaminação por benzeno, seu metabolismo, consequências para a saúde e sua determinação ambiental e biológica a partir de informações existentes na literatura científica. O levantamento de dados possibilitou o acesso a mais de 200 artigos científicos tanto do âmbito nacional quanto internacional, demonstrando a atualidade do tema e a necessidade da minimização da exposição humana a essa substância. A maioria preocupa-se em explorar o metabolismo e investigar indicadores de exposição, muitos já amplamente estudados e com sérias limitações. Contudo, um crescente número de pesquisadores estão empenhados em elucidar fatores relacionados à suscetibilidade e à interferência da exposição no material genético e proteico. Indicadores de exposição inovadores têm sido propostos com o objetivo de complementar as lacunas de informações anteriormente obtidas, contribuindo para o delineamento da estrutura da biologia de sistemas orgânicos frente à exposição ao benzeno.

Palavras-chave: benzeno; exposição ambiental; toxicidade; indicadores biológicos.

Abstract

The indiscriminate use of an increasing number of chemicals is growing and associated environmental contamination has brought serious consequences for the public health system due to rising damage to human health. One of the substances that have attracted great interest due to contemporary contamination is benzene, aromatic compound classified by *International Agency for Research on Cancer* as a carcinogen known. The aim of this study was develop and discuss an overview of the

Trabalho realizado no Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/FIOCRUZ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

¹Doutoranda em Saúde Pública e Meio Ambiente na ENSP/FIOCRUZ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Mestre em Ciências da Saúde pela ENSP/FIOCRUZ; Tecnologista do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Mestre em Química pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); Tecnologista do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁴Doutor em Ciências da Saúde pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz, Professor de Toxicologia Clínica da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵Doutor em Química pela Loughborough University; Pesquisador do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Endereço para correspondência: Cristiane Barata-Silva – Avenida Leopoldo Bulhões, 1480 – Manguinhos – CEP: 21401-210 – Rio de Janeiro (RJ), Brasil – E-mail: cristianebarata@hotmail.com

Fonte de financiamento: nenhuma.

Conflito de interesse: nada a declarar.

contamination by benzene, its metabolism, health endings and their environmental and biological determination based on literature data existing. The survey provided access to more than 200 scientific papers, both nationally and internationally, demonstrating the relevance of the topic and the need to minimize human exposure to this substance. The majority is concerned with exploring the metabolism and investigates indicators of exposure, many already widely studied and with serious limitations. However, a growing number of researchers are committed to elucidate factors related to interference susceptibility and exposure on protein and genetic material. Indicators of innovative exhibition has been proposed with the aim of complementing gaps of information previously obtained, contributing to the design of the structure of the organ biology systems upon exposure to benzene.

Keywords: benzene; environmental exposure; toxicity; biological indicators.

INTRODUÇÃO

O número de substâncias químicas (xenobióticos) utilizadas em atividades domésticas e industriais, com as quais temos contato por meio das mais variadas vias, cresce continuamente, e o comprometimento da qualidade da saúde de uma população está diretamente relacionado com as relações sociais e o ambiente. Atualmente, pode-se afirmar que estes são delimitados pelos processos produtivos adotados que distribuem possibilidades diferenciadas de exposição a agentes, cargas e riscos¹. O avanço na frequência dessa exposição é um dos responsáveis pelo aumento de registros de patologias humanas atualmente observadas, ocupando posição de destaque na saúde pública, com consequentes reflexos sobre sistemas públicos de saúde².

A contaminação dos diversos segmentos ambientais por esses xenobióticos consiste na principal via de exposição da população em geral, dada a sua presença no ar, alimentos, solo e água^{3,4}. Desta forma, são necessários estudos específicos que proporcionem conhecimento das variáveis existentes em cada situação e permitam realizar avaliação completa dos riscos e prevenção dos agravos à saúde advindos dos ambientes contaminados^{5,6}.

Uma das substâncias que requerem atenção dos pesquisadores devido à toxicidade e ampla presença é o benzeno, um hidrocarboneto aromático largamente utilizado como matéria-prima para diversos produtos, como detergentes, gasolina e plásticos⁷⁻¹³.

O objetivo deste trabalho foi avaliar abordagens dos diversos estudos cujo tema principal foi a exposição ao benzeno e seus diversos danos à saúde humana. Realizou-se compilação dos biomarcadores utilizados para a determinação da exposição e principais técnicas analíticas atualmente empregadas.

METODOLOGIA

Foram consultadas as bases de dados eletrônicas Medline, PubMed e Scielo, as quais têm ampla abrangência, possibilitando a inclusão de todos os artigos originais indexados retrospectivamente até o ano 1989, quando foram datados registros

oficiais sobre o benzeno. Utilizou-se o termo de busca "benzeno" com exposição, metabolismo, câncer, DNA, suscetibilidade, leucemia, revisão, toxicidade, biomarcadores e legislação, além de suas versões em inglês. Contemplaram-se artigos tanto em inglês quanto em português, desde que disponibilizados eletronicamente na íntegra no portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Ao fim das pesquisas em cada base, as referências duplicadas foram excluídas.

O processo de pesquisa foi realizado entre os anos 2013 e 2014. Foram selecionados 224 artigos, qualificados, de acordo com os resumos, como possíveis candidatos a fornecer embasamentos técnico-científicos, segundo o conteúdo de caráter inédito, por meio de estudos observacionais (estudos de caso-controle e de coorte) ou que compilavam informações relevantes sobre o assunto em forma de revisões. Os trabalhos que não apresentavam a metodologia adotada para a obtenção dos resultados de forma clara e que não estava disponível na íntegra foram excluídos.

Os resumos foram compilados, analisados e classificados separadamente por dois pesquisadores como "fora do escopo" ou "dentro no escopo", de acordo com critérios de inclusão e exclusão estabelecidos e citados. Após a leitura completa de cada resumo, cerca de 150 artigos foram selecionados e utilizados como base teórica para a elaboração do presente trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Benzeno e sua presença no ambiente

O benzeno é uma das substâncias mais produzidas em quantidade e diversidade, presente na composição de óleos naturais, gasolina e fumaça de cigarros^{14,15}. Por sua ação carcinogênica, exige maior controle e precaução, admitindo-se que para substâncias carcinogênicas e genotóxicas não há limite seguro de exposição¹⁶⁻¹⁸.

No passado, o benzeno teve ampla utilização, inclusive como loção pós-barba por seu aroma adocicado¹⁹. Foi adicionado

à gasolina como aditivo, temporariamente substituído pelo chumbo tetraetila²⁰ e retomado até agora^{21,22}. No Brasil, a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), por meio da resolução nº 40, de 25/10/2013, determina o máximo de benzeno de 1% em volume, na gasolina do tipo C ou Premium tipo C²³.

Em geral, a população está exposta ao benzeno pela inalação de ar contaminado. A sua presença na atmosfera vem sendo registrada em áreas industriais, ambientes urbanos e rurais, sendo ele considerado contaminante global²⁴⁻²⁷.

Os efeitos tóxicos sobre o organismo fizeram com que o benzeno tivesse sua concentração no ar de ambientes de trabalho, ou mesmo na atmosfera, regulada em diversos países, minimizando a exposição crônica. A União Europeia²⁸ definiu como limite para a exposição ocupacional o valor de 1 mg/dm³ e a American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) estabeleceu que o limite de *Threshold limit value - Time weighted average* (TLV-TWA) era 0,5 mg/dm³ (média ponderada por 8 horas de exposição)²⁹.

A concentração atmosférica desse contaminante varia conforme a localização das fontes emissoras. Assim, locais próximos ou com aglomeração de várias fontes, tanto pontuais quanto difusas, apresentam concentrações mais elevadas³⁰⁻³², superiores a 10 mg/dm³. Moradores que residem ou trabalham no entorno de indústrias químicas, postos de gasolinas, oficinas mecânicas e de exploração petrolífera estarão sujeitos à exposição ambiental mais elevada deste xenotóxico do que a recomendada pelos órgãos regulamentadores^{33,35}.

Além da contaminação atmosférica, há estudos que descrevem a existência da contaminação de outros compartimentos ambientais, como água e solo, por vazamentos oriundos de tanques das indústrias petroquímicas e de postos de armazenamento e distribuição de combustíveis. Brito et al. relataram que em 2005 o Brasil havia registrado cerca de 30.000 postos de combustíveis, dos quais 20 a 30% possuíam pequenos e contínuos vazamentos em virtude do envelhecimento dos tanques de estocagem. Essa falha atinge principalmente a população que reside próximo a eles e muitas vezes consome água proveniente de poços artesanais^{34,37}.

Essa fonte de contaminação é preocupante devido ao benzeno ser um hidrocarboneto monoaromático, possuindo ligeira solubilidade em água, o que possibilita a chegada deste xenotóxico com maior facilidade ao lençol freático³⁶. O contato com o benzeno por via oral pode ocorrer de forma direta, pela ingestão de água contaminada, consumo de alimentos irrigados por ela ou que a utilizaram no preparo.

Contudo, a Agência de Proteção Ambiental Norte-americana (EPA) estabelece os limites máximos para a concentração de benzeno em 5 µg/L para água potável³⁸. No Brasil, a portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011, segue o mesmo valor para os

limites máximos permitidos em água classificada como potável³⁹. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), na resolução nº 396, de 3 de abril de 2008⁴⁰, estabelece que o valor máximo de benzeno permitido em água subterrânea para consumo é 5 µg/L e para recreação, 10 µg/L. Estes limites máximos de valores de concentração permitem que os riscos potenciais de exposição ao benzeno sejam minimizados.

Exposição ao benzeno no Brasil

No Brasil, a preocupação com exposição de grupos populacionais ao benzeno teve início com denúncias pelo Sindicato dos Metalúrgicos de Santos (SP), na década de 1980, de casos de leucopenia em trabalhadores da Companhia Siderúrgica Paulista (COSIPA), em Cubatão⁴¹.

As principais fontes produtivas de benzeno no Brasil estão concentradas nos centros de produção petroquímica e refino de petróleo, responsáveis por aproximadamente 95% da produção nacional⁴².

Em 1993 foi realizado, em Belo Horizonte, o "Seminário Nacional sobre Exposição ao Benzeno e outros Mielotóxicos", que posteriormente resultou na revisão da Norma Regulamentadora do Trabalho (NR) nº 15, em seu tópico relativo ao benzeno⁴³.

No ano seguinte, uma Comissão Tripartite (portaria 10 de 8 de setembro de 1994) da qual participavam representantes dos Ministérios do Trabalho, Saúde e Previdência Social, dos Empregadores e dos Trabalhadores criou a Comissão Nacional Permanente do Benzeno, e em 28 de setembro de 1995 foi pactuado o Acordo sobre o Benzeno^{44,45}. Também ficou definido que a Valor de Referência Tecnológico ponderada pelo tempo (VRT-MTP), que é calculado pela concentração média ponderada pelo tempo, medida na zona respiratória, para Jornada de 8 horas, fosse estabelecida em 2,5 ppm para siderúrgicas e 1,0 ppm para outras indústrias.

De acordo com Norma Técnica do Ministério da Saúde de 2006, a análise dos riscos relacionados a agentes químicos é atividade prioritária para qualificar intervenção na vigilância em saúde, e reconhece que a complexidade desta atividade não deve se restringir meramente a uma determinação da concentração ambiental à qual a população está exposta⁴⁶.

Estudos científicos relacionados ao benzeno, desenvolvidos em âmbito nacional a partir do ano 2000, evidenciam a crescente preocupação com exposição e possíveis consequências para a população em geral. Esta coletânea de trabalhos compreende desde a avaliação ambiental utilizando como matriz o ar⁴⁷⁻⁴⁹, ou a água e alimentos²³, à avaliação biológica dos biomarcadores em urina^{16,50-54} e sangue⁵⁵. Outros trabalhos foram direcionados para a verificação da suscetibilidade da população por meio de um estudo de polimorfismo^{56,57} e avaliação dos efeitos genotóxicos associados à exposição ao benzeno⁵⁸⁻⁶¹ e os demais desfechos^{62,63}.

Vias de exposição, metabolização e efeitos sobre a saúde

As principais formas de introdução do benzeno no organismo são as vias respiratória (vapores) e oral (alimentos e água). A via cutânea é mais rara, sendo necessário contato dérmico com essa substância na forma líquida, porém, quando ocorre, possui alto índice de absorção³³. Em termos de saúde pública, a via de contaminação com maior relevância é a respiratória e a maior parte do benzeno inalado é eliminada pela exspiração, ficando a parte que é absorvida acumulada principalmente em tecidos com alto teor lipídico⁶⁴. Após a absorção, a metabolização do benzeno ocorre preferencialmente no fígado, conforme representado nas Figuras 1 e 2. No processo de excreção dos metabólitos gerados, o rim é o principal responsável por tal função²⁶.

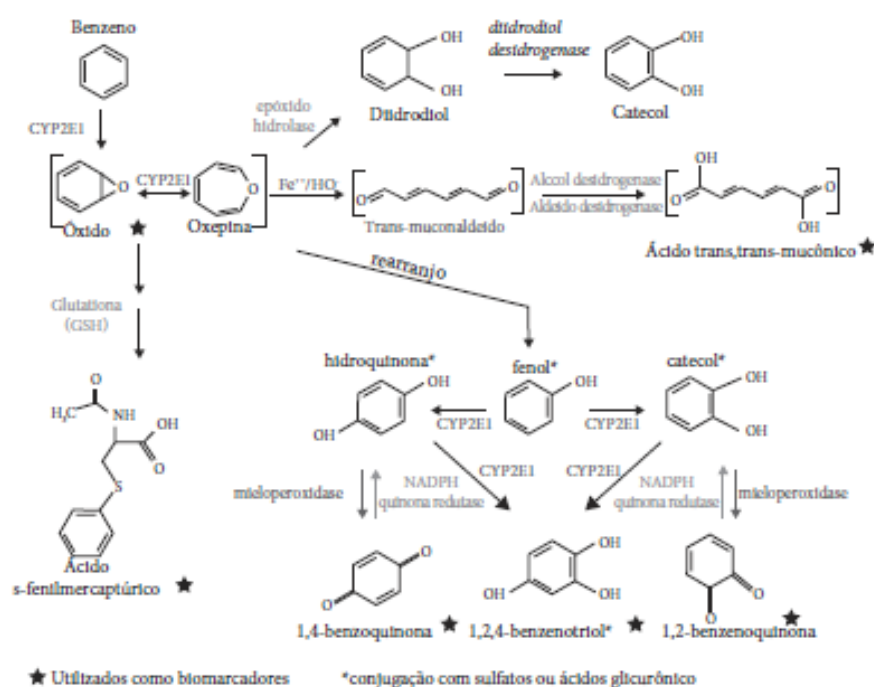
A primeira etapa do metabolismo envolve participação de enzimas da família do citocromo P450 2E1 (CYP2E1), levando à formação de um intermediário eletrofílico reativo⁶⁵⁻⁶⁸, o óxido de benzeno (BO), que possui tempo de meta-vida *in vivo* estimado em 7,9 minutos^{53,69}. Esse metabólito tem a capacidade de se ligar covalentemente com sítios nucleofílicos de proteínas e DNA⁶⁷ e pode sofrer nova metabolização, gerando novos metabólitos reativos (muconaldeídos e benzoquinonas), que ainda detêm a capacidade de ligação ao DNA e às proteínas⁶⁷.

Também promove aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que comprometem o sistema antioxidante, gerando estresse oxidativo⁶⁹⁻⁷². Os adutos formados nas reações entre óxido de benzeno e macromoléculas (proteínas ou DNA)^{15,73,74} são considerados pré-cancerígenos⁷⁵⁻⁷⁷.

O óxido de benzeno espontaneamente se transforma em fenol *in vivo*, metabolizado posteriormente com participação da CYP2E1, à hidroquinona considerada precursora de metabólitos mielotóxicos⁷⁸. As benzoquinonas também são capazes de formar adutos de DNA em sistemas celulares e humanos¹³. Esses adutos podem gerar desde mutações proto-oncogenes ou formação de genes supressores de tumor à iniciação de processos de carcinogênese química⁷⁹, como exemplificado na Figura 3.

Suspeita-se que na presença concomitante do fenol e hidroquinona no organismo ocorra interação farmacocinética, resultando em aumento na toxicidade dos metabólitos e diminuição das células da medula óssea de camundongos⁸⁰. A presença da hidroquinona no organismo pode promover a inibição da ribonucleotídeo redutase, uma enzima essencial para a síntese de DNA⁸¹.

Os adutos produzidos por reações desses metabólitos reativos com albumina, hemoglobina ou com DNA têm sido utilizados



Adaptação de Rossi⁸²

Figura 1. Representação do metabolismo do benzeno em humanos e de seus metabólitos capazes de reagir com macromoléculas, formando adutos

para avaliação da exposição e relacionados com efeitos tardios à saúde, como o desenvolvimento da leucemia^{15,23,41-45}.

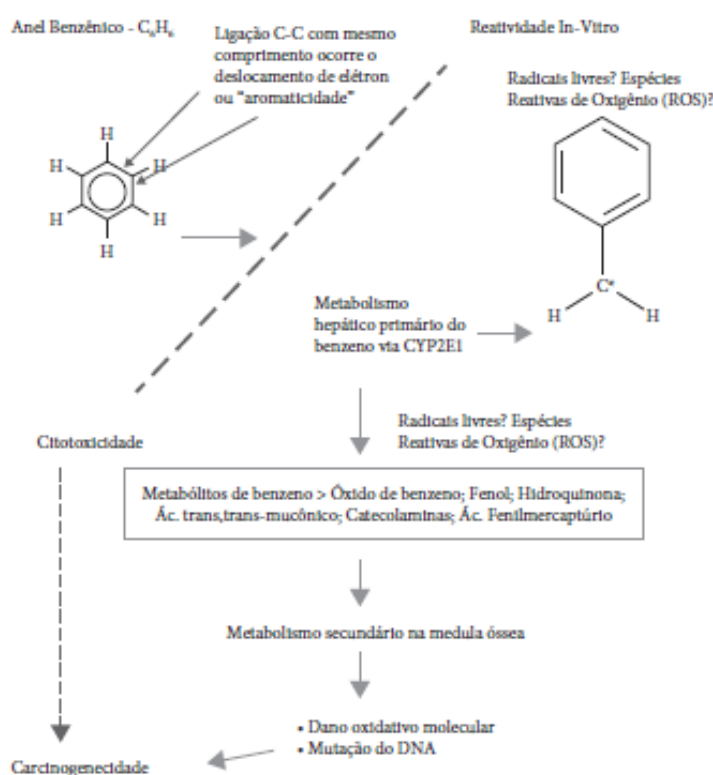
O aduto S-(2-hidroxiciclohexa-3,5-dien-1-ila) cisteína da albumina, por exemplo, pode ser detectado no sangue até um mês após a sua formação, e quando a proteína é a hemoglobina, até quatro meses. Apesar de menor estabilidade *in vivo*, o aduto formado com albumina é geralmente preferido como biomarcador quando a exposição é curta, visto ser mais abundante que aquele formado com hemoglobina⁴⁴, e se acumula ao longo de três a quatro semanas⁷³. O aduto produzido na ligação do óxido de benzeno à albumina (BO-Alb), outro potencial biomarcador, tem tempo de meia-vida de 21 dias, limitando a sua utilização como aqueles formados pelas benzoquinonas¹⁵.

Devido à participação de várias enzimas nas rotas metabólicas do benzeno, diferenças genéticas podem alterar sua

eficiência, com consequente aumento ou diminuição da concentração de metabólitos toxicologicamente relevantes. Estudos indicam que os polimorfismos das glutatona S-transferase (GSTT1, GSTM1) e citocromos P450 (CYP2E1) têm grande importância neste processo^{16,46-48} e, sendo características individuais, estas variações devem ser consideradas nas avaliações dos impactos potenciais sobre a saúde de grupos populacionais.

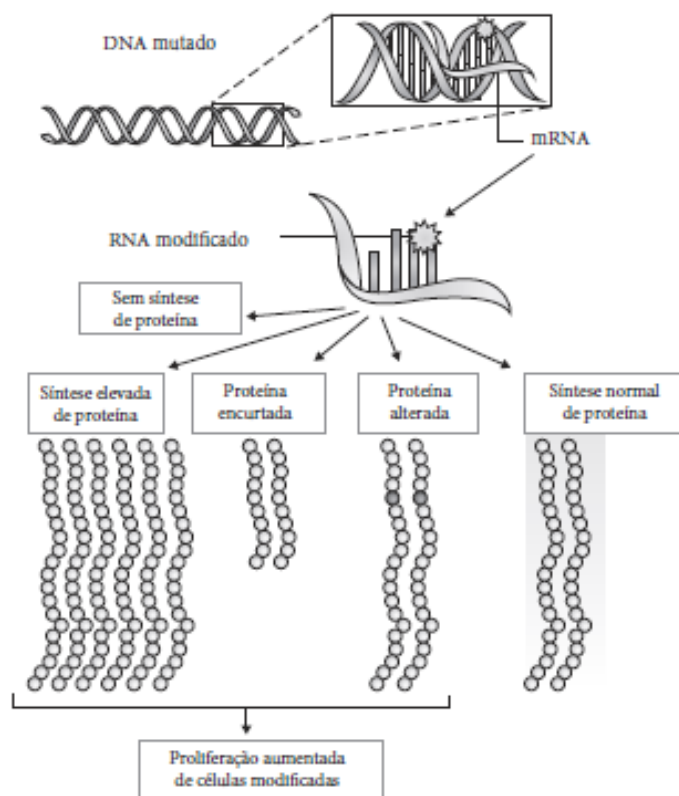
Além da determinação dos adutos, outros indicadores utilizados na avaliação da exposição, como o ácido *trans,trans*-mucônico (ttAM) e o ácido S-fenilmercaptúrico (S-PMA), metabólitos alifáticos eliminados pela urina¹⁵. A avaliação biológica em diferentes matrizes usualmente utiliza biomarcadores distintos, como o próprio benzeno no ar expirado, o ttAM ou o S-PMA na urina e adutos de DNA ou de proteína no sangue⁴⁶⁻⁴⁹.

Os fatores limitantes para a determinação da escolha do biotransformador a ser utilizado na avaliação biológica são o tempo



Adaptação de Atkinson⁷⁸

Figura 2. Representação simplificada do metabolismo e dano do benzeno no organismo



Adaptado de Buthumrung et al.⁷³

Figura 3. Representação esquemática da síntese de proteína a partir do DNA ligado a um carcinógeno (estrola vermelha). A mutação ocorrida no DNA gera um RNA modificado, que posteriormente é traduzido em proteína modificada. Essa pode resultar em uma expressão aumentada ou diminuída da proteína ou em uma síntese de proteína modificada, com a possibilidade de levar a uma proliferação exacerbada de células modificadas e, conseqüentemente, ao desenvolvimento do tumor

de permanência no organismo após a exposição, a sensibilidade de cada um frente à exposição a baixas concentrações^{51,92,93} e disponibilidade instrumental. A avaliação biológica deve considerar informações a respeito da coleta do material a ser analisado, como o momento da coleta⁶.

Rappaport et al.²⁵ apresentaram o conceito de que o metabolismo do benzeno ocorre por duas vias, ainda sem a clareza de todo o mecanismo envolvido. Outros estudos observaram que a curva da dose específica relacionada à formação dos metabólitos totais frente à exposição de altas concentrações de benzeno (>1 ppm) atinge um platô justificado por saturação no metabolismo, o que inviabiliza a relação direta da formação de metabólitos com a dose de benzeno que o indivíduo está exposto^{13,94}.

A exposição crônica a baixas concentrações de benzeno está associada a enfermidades como anemia aplástica e leucemia^{95,96-97}. Há também estudos que sugerem que tal exposição em diferentes concentrações podem aumentar o risco de desenvolver linfoma não-Hodgkin^{149,98-100}, mieloma múltiplo^{95,98,101} e várias outras desordens hematopoiéticas. Encontram-se relatos de que a exposição média de oito a nove horas por dia por um longo período induz a alterações de cromossomos anormais que levam à má formação do feto ou até mesmo à infertilidade do homem¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Outros efeitos resultantes da exposição aguda são dor de cabeça, fadiga, tontura, irritação das mucosas, convulsões, excitação, depressão e, eventualmente, morte por falência respiratória^{105,106}. A medula óssea é o principal órgão alvo de sua toxicidade^{41,97}.

Avaliação ambiental

Rejeitos contendo benzeno, bem como os responsáveis por sua remoção e/ou biodegradação, são responsáveis pelas concentrações encontradas nos diversos tipos de ambientes (urbano, rural e *indoor*). Sua permanência na atmosfera é limitada por reações com radicais hidroxilas (OH), que fazem com que esse tempo seja de apenas algumas horas ou dias¹⁰⁸. Entretanto, habitações situadas na vizinhança de indústrias ou outros locais onde se utiliza o benzeno sob a forma pura ou não, constituem situações preocupantes para a contaminação da população residente. O solo e as águas também podem ser contaminados por rejeitos industriais e vazamento de tanques de gasolina¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Para controle de benzeno na atmosfera, a ACGIH adota como controle para exposição os seguintes parâmetros e valores: média ponderada pelo tempo para 40 horas de exposição (*time-weighted average* — TWA) de 0,5 ppm; e concentração máxima (*short-term exposure level* — STEL/Teto) de 2,5 ppm²⁸.

Avaliação biológica

A avaliação biológica é um instrumento importante na determinação da seriedade ou não da contaminação. Para isto se usa a comparação com o Valor de Referência da Normalidade, que no Brasil é definido pela NR-7 do Ministério do Trabalho e Emprego, como o valor do agente químico ou de seus metabólitos possíveis de serem encontrados em populações não ocupacionalmente expostas¹¹².

A Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais ratifica os valores de referência adotados pela ACGIH, que prescreve como indicadores da exposição ocupacional ao benzeno a determinação dos ácidos S-PMA e t,t-mucônico, ambos a partir de amostra de urina coletada ao final da jornada de trabalho, e estabelece como Indicador Biológico de Exposição (BEI) os valores 25 µg/g de creatinina e 500 µg/g de creatinina respectivamente²⁸.

Em linhas gerais, a avaliação biológica permite o diagnóstico dos desvios das condições padrões do ambiente; a avaliação dos hábitos próprios de cada indivíduo; a estimativa da dose absorvida, evidenciando melhor os efeitos sobre a saúde do que a concentração ambiental; a identificação de outras vias de absorção, como a cutânea; e o acompanhamento das diferenças individuais que tornam algumas pessoas mais vulneráveis a determinados compostos químicos, seja devido a fatores endógenos (constituição genética, antropométricos, estado de saúde) e/ou exógenos (hábito de fumar, dieta alimentar, coexposição)⁸⁵.

Ácido *trans,trans*-mucônico

Por meio da Portaria n° 34, de 20 de dezembro de 2001, do Ministério do Trabalho e Emprego¹¹³ ficou estabelecido que

a monitorização da exposição ao benzeno deve ser realizada através da determinação da concentração do *ttAM* presente na urina^{114,115} e tem valor limite urinário de 500 µg/g de creatinina²⁸. Segundo o estudo realizado por Coutrim et al.¹⁶, a concentração máxima deste metabólito no organismo ocorre 5,1 horas após uma jornada de trabalho (6 a 8 horas), sendo apenas 3,9% do benzeno absorvido excretado sob tal forma na urina¹⁶.

O *ttAM* é um indicador sensível à exposição mesmo às baixas concentrações ambientais. No entanto, a utilização deste ácido como indicador biológico apresenta certa fragilidade, uma vez que já é conhecido uma série de interferentes que fazem os valores destes aumentar¹¹⁶⁻¹¹⁸, como a ingestão de ácido sórbico e seus sais, muito utilizados na indústria alimentícia^{119,120}, e de bebida alcoólica¹²¹, o tabagismo^{6,122}, ou a exposição simultânea ao tolueno^{123,124} e aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)^{16,125}.

Existem diversas técnicas preconizadas para a determinação do *ttAM*, como a cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-MS) ou por ionização em chama (CG-FID), a eletroforese capilar e a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por absorção no UV (HPLC-UV) ou espectrometria de massas (HPLC-MS) ou espectrometria de massas sequencial (HPLC-MS/MS)¹¹⁵⁻¹²⁷. As duas primeiras técnicas supracitadas têm como desvantagem a necessidade de uma etapa de derivatização, que é um procedimento dispendioso, demorado e com rendimento variável¹¹⁵.

Entretanto, uma grande limitação ao uso do *ttAM* como indicador biológico de exposição se deve ao fato de que exposições a baixa concentração de benzeno podem gerar variação no nível deste metabólito na urina por conta de diferenças individuais no metabolismo do benzeno que fazem com que a curva dose/resposta não seja linear¹⁶.

Ácido *S*-fenilmercaptúrico

Assim como o *ttAM*, o ácido S-PMA é um metabólito alifático excretado pela urina, sendo que apenas 0,11% do benzeno absorvido é biotransformado neste produto. O tempo de meia-vida de eliminação é de aproximadamente 10 horas, o que o torna um forte candidato a biomarcador de exposição devido ao fato de ter permanência maior quando comparado ao *ttAM* no organismo. O seu nível na urina não sofre interferência da dieta, porém, assim como o *ttAM*, o hábito de fumar atua como fator de confundimento nas análises do S-PMA, cujo valor limite urinário é de 25 µg/g de creatinina²⁸.

O método empregado para a determinação do S-PMA deve ter eficiência o suficiente para detectar pequenas variações nos níveis urinários, uma vez que este metabólito encontra-se em baixas concentrações.

As técnicas descritas para a sua determinação são o *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), a cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-MS) ou por captura de elétron (GC-ECD) ou por fluorescência, e a cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por espectroscopia de absorção UV (HPLC-UV) ou por fluorescência, ou espectrometria de massas (HPLC-MS) ou espectrometria de massas sequencial (HPLC-MS/MS)^{6,16,28-31}. Assim como na análise de *ffAM*, a técnica que emprega a cromatografia gasosa necessita que haja uma etapa prévia de derivatização, que, como já citado anteriormente, é um procedimento dispendioso e com rendimento variável. Além disso, há a necessidade de uso do diazometano, classificado como substância carcinogênica^{115,128}.

É importante ressaltar que os indicadores descritos nas distintas matrizes devem ser entendidos como um valor útil para a prevenção de possíveis enfermidades, porém não expressam a certeza da ocorrência de um desfecho mesmo com o indivíduo exposto a altas concentrações de benzeno. Tal acontecimento se justifica pela complexidade e variabilidade orgânicas de cada indivíduo e pelo tipo de exposição ao qual está submetido.

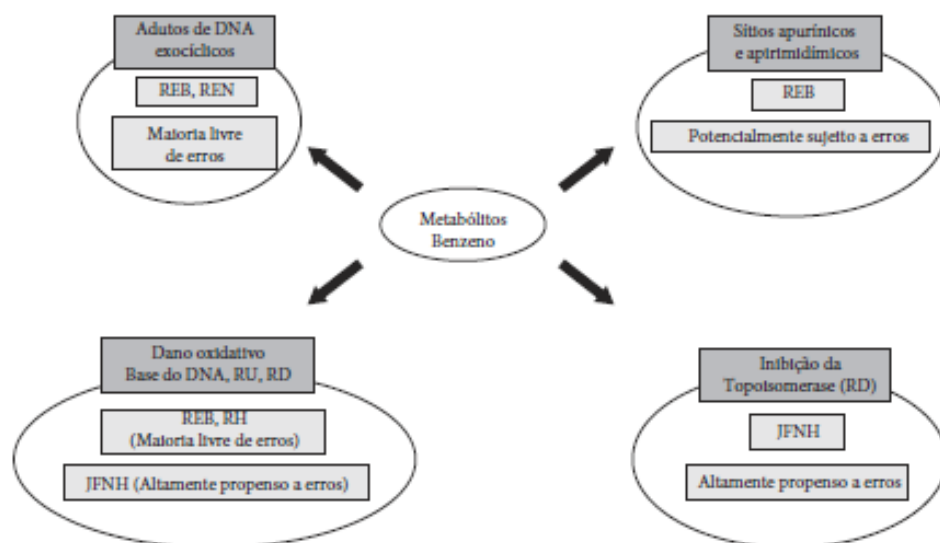
Entretanto, a relação entre os dados obtidos pelas medidas desses indicadores de dose interna e os efeitos sobre a saúde

não é direta, uma vez que vários fatores genéticos e ambientais interferem nesse processo. Alguns deles, como o polimorfismo enzimático, já foram discutidos anteriormente.

Os adutos formados com DNA, hemoglobina ou albumina têm sido utilizados atualmente como biomarcadores da dose efetiva^{69,121,132}. Dentre estes, os adutos de proteínas podem ser considerados os que expressam mais fidedignamente a relação entre a exposição e o dano por ela causado, devido ao fato do organismo não ter capacidade de reparar esta alteração (dano irreversível). Ao contrário, para o aduto de DNA o organismo possui sistemas de reparação que restauram a estrutura do DNA, como representado na Figura 4. Além disso, os adutos formados com proteínas são muito mais abundantes do que os formados com o DNA, isto é, cada 1 mL de sangue contém cerca de 150 mg de hemoglobina, 30 mg de albumina, que está presente no soro, e 0,003 a 0,008 mg de DNA⁷⁴.

Adutos de DNA

Na detecção e quantificação dos adutos de DNA, as técnicas atualmente utilizadas são os imunossaios, a marcação com fósforo radioativo (³²P- *Postlabelling*) e a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detectores de massa sequenciais (HPLC/MS/MS)⁸¹.



Adaptado de Hartwig⁷⁷

REB: reparo por excisão de bases; REN: reparo por excisão de nucleotídeos; RU: ruptura de filamento único de DNA; RD: ruptura de duplofilamento de DNA; RH: recombinação homóloga; JFNH: junção dos não homólogos

Figura 4. Sistemas de reparação do DNA envolvidos na remoção das alterações induzidas por metabólitos do benzeno

Os imunoenzaios utilizam anticorpos retidos em uma placa capazes de reconhecer e se ligar aos adutos de DNA ou ao DNA modificado presentes em fluidos biológicos. Dependendo do tipo de ligante utilizado, quando ocorre a ligação, alguns emitem luminescência e outros promovem a mudança na coloração, que pode ser visualizada pela observação da absorvância da luz emitida por um espectrofotômetro. Porém, a ligação que deveria ser específica para cada estrutura de aduto pode ocorrer com estruturas semelhantes, levando a interpretações equivocadas dos resultados, sendo esta uma das principais limitações dessa técnica²⁶.

Outra técnica utilizada é a imuno-histoquímica, que permite a visualização de danos no DNA em amostras de tecidos parafinados, caso os adutos formados sejam quimicamente estáveis. Os adutos são semiquantificados por sistemas computacionais acoplados à microscopia eletrônica²⁶.

Tais técnicas têm como vantagens: ótima sensibilidade; quantificação por curva de calibração; permitem a "localização" dos adutos e o uso de amostras de tecido humano; e possibilitam analisar elevado número de amostras com boa relação custo-benefício. Como desvantagens é possível descrever: a reação cruzada dos anticorpos com adutos similares; baixa especificidade; necessidade de número elevado de controles; e o fato de ser uma análise semiquantitativa²⁶. Os imunoenzaios são capazes de detectar 1 aduto a cada 10^8 nucleotídeos analisados em uma alíquota de 1 a 100 µg de DNA²³.

A técnica da marcação com fósforo radioativo (³²P-*Postlabelling*) é uma análise qualitativa que consiste na hidrólise enzimática do DNA com a nuclease micrococcalfosfotesterase, uma endo-exonuclease que digere preferencialmente ácidos nucleicos de cadeia simples. Em seguida, essa mistura passa pelo processo de separação pela cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e a fração de interesse é identificada e recolhida. Esta fração na presença da nuclease P1 ou butanol promove a formação dos 3'-nucleosídeos monofosfatos, que, em contato com a [γ -³²P]-ATP, geram o produto denominado 5'-³²P-desoxirribonucleosídeos-3',5'-bifosfato, identificado pela cromatografia em camada delgada. Esta técnica possui alta sensibilidade e não requer equipamento de elevado custo. Porém, a estrutura molecular do aduto não é identificada, além de utilizar material radioativo durante o processo, que é relativamente dispendioso²⁴. A técnica de ³²P-*Postlabelling* permite a detecção de 1 aduto a cada 10^8 a 10^{10} nucleotídeos analisados em uma alíquota de 1 a 10 µg de DNA, sendo considerada de excelente sensibilidade²³.

A MS, em conjunto com a separação cromatográfica, seja líquida ou gasosa (LC ou GC), é uma técnica analítica de grande importância para a identificação e quantificação de adutos de DNA presentes em uma amostra. Ela fornece o tempo de

retenção, a relação massa/carga (m/z) e informações sobre a abundância dos íons da fragmentação das substâncias que são comparados com uma coleção de informações contidas na biblioteca do software ou com o padrão isotópico, que é um conjunto das abundâncias relativas dos diferentes isótopos de um elemento químico adicionado durante o preparo da amostra¹³⁶. Esta técnica possui ótima sensibilidade, porém requer equipamento de alto custo e técnicos com habilidades para o seu manuseio e interpretação dos resultados gerados²⁶.

A MS sequencial com ionização do tipo *electrospray* e detector do tipo triplo quadrupolo tem capacidade de detectar 1 aduto a cada 10^7 a 10^8 nucleotídeos analisados em uma alíquota de 10 a 100 µg de DNA, o mesmo observado pela análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção eletroquímica ou fluorescência²³.

Adutos de proteína

Para a detecção e quantificação dos adutos de proteína, a técnica mais comumente empregada é a cromatografia gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massa, sendo o princípio o mesmo descrito para o aduto de DNA, no qual o tempo de retenção, a relação massa/carga (m/z) e informações sobre a abundância dos íons da fragmentação das substâncias são comparados a uma coleção de informações contida na biblioteca do software ou com o padrão isotópico adicionado durante o preparo da amostra para a elucidação do aduto presente na amostra¹³⁶.

As técnicas cromatográficas, principalmente a HPLC/MS/MS, têm sido atualmente as que têm demonstrado maior avanço, ampliando consideravelmente as suas aplicabilidades na determinação de adutos.

CONCLUSÃO

As legislações atuais mostram grande preocupação com a exposição ambiental ou ocupacional ao benzeno e apresentam tendência de restringir cada vez mais os níveis permitidos de exposição, sendo um consenso a necessidade de substituir a utilização do benzeno a fim de erradicar a sua presença maciça nos aglomerados urbanos e rurais. Porém, a atual demanda de petróleo e de seus derivados dificulta essa tarefa.

Estudos desenvolvidos recentemente têm agregado novos achados e indicadores de suscetibilidade resultantes do maior conhecimento da toxicocinética e da toxicodinâmica do benzeno. Uma busca simplificada feita em uma única base de pesquisa, o PUBMED, utilizando como descritores os termos *benzene exposure*, *benzene metabolism*, *benzene cancer*, *benzene DNA* e *benzene susceptibility* resultou em cerca de 800, 2.000, 500, 300 e 100 artigos publicados nos últimos cinco anos,

respectivamente, sendo que cerca da metade deles reportam estudos em humanos.

Os dados demonstram a atualidade do tema, visto que ainda há muito a ser esclarecido tanto sob o ponto de vista clínico, quanto genético ou analítico. Por isso, as ações do benzeno sobre o organismo humano e seu controle têm sido explorados por um amplo número de pesquisadores voltados para a elucidação de cada etapa do metabolismo e, principalmente, para a suscetibilidade individual ao benzenismo. Em todos esses casos a necessidade de se conhecer mecanismos de advertência e de controle é fundamental.

Assim, a perspectiva futura das pesquisas científicas é desenvolver metodologias que utilizem indicadores ainda mais específicos ou que permitam identificar populações mais vulneráveis

para, assim, minimizar a carga de exposição, prevenir e evitar os possíveis danos em saúde. Novos indicadores devem ser implementados com o objetivo de complementar as lacunas de informações existentes e contribuir para o entendimento mais aprofundado da biologia de sistemas do ser humano.

■ AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio financeiro da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) através do Programa "Brasil sem Miséria", do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

■ REFERÊNCIAS

1. Tambellini AT, Camara MV. A temática saúde e ambiente no processo de desenvolvimento do campo da saúde coletiva: aspectos históricos, conceituais e metodológicos. *Ciênc Saúde Coletiva*. 1998;3(2):47-59.
2. Araújo AEO. Avaliação da genotoxicidade dos gases derivados do petróleo em trabalhadores expostos ocupacionalmente em ambiente fechado [dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília. Faculdade de Medicina; 2008.
3. Arnold SM, Angerer J, Boogaard PJ, Hughes MF, O'Lone RB, Robertson SH, et al. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessment: benzene case study. *Crit Rev Toxicol*. 2013;43(2):119-53.
4. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for benzene. Atlanta, USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2007.
5. Oga S. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Ed. Atheneu; 2005.
6. Wetsel CP. Benzene exposure: an overview of monitoring methods and their findings. *Chem Biol Interact*. 2010;184(1-2):58-66.
7. Albertini R, Bird M, Doerr N, Needham L, Robertson S, Sheldon L, et al. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessments. *Environ Health Perspect*. 2006;114(11):1755-62.
8. Zhang JJ, Lloy PJ. Human exposure assessment in air pollution systems. *Scientific World Journal*. 2002;2:497-513.
9. Cottica D, Grignani E. Evolution of technology and occupational exposures in petrochemical industry and in petroleum refining. *G Ital Med Lav Ergon*. 2013;35(4):236-43.
10. Sahmel J, Devlin K, Burns A, Ferracini T, Ground M, Paustenbach D. An analysis of workplace exposures to benzene over four decades at a petrochemical processing and manufacturing facility (1962-1999). *J Toxicol Environ Health A*. 2013;76(12):723-46.
11. Panko JM, Gaffney SH, Burns AM, Utice KM, Kreider ML, Booher LE, et al. Occupational exposure to benzene at the ExxonMobil refinery at Baton Rouge, Louisiana (1977-2005). *J Occup Environ Hyg*. 2009;6(9):517-29.
12. ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. TLV for benzene: CAS number: 71-43-2. Cincinnati, USA: American Conference of Governmental Industrial Hygienists; 2001.
13. Kim S. Benzene metabolism in humans: dose-dependent metabolism and interindividual variability [tese]. North Carolina, USA: University of North Carolina; 2006.
14. Steinmaus C, Smith AH, Jones RM, Smith MT. Meta-analysis of benzene exposure and non-Hodgkin lymphoma: biases could mask an important association. *Occup Environ Med*. 2008;65(6):371-8.
15. Lin YS, Vermeulen R, Tsai CH, Waidyanatha S, Lan Q, Rothman N, et al. Albumin adducts of electrophilic benzene metabolites in benzene-exposed and control workers. *Environ Health Perspect*. 2007;115(1):28-34.
16. Coutinho MX, Carvalho LRF, Arcuri ASA. Avaliação dos métodos analíticos para a determinação de metabólitos do benzeno como potenciais biomarcadores de exposição humana ao benzeno no ar. *Quim Nova*. 2000;23(5):653-63.
17. Scherer G, Ruppert T, Daube H, Kosten I, Riedel K, Tricker AR, Adlkofer F. Contribution of tobacco smoke to environmental benzene exposure in Germany. *Environment International*. 1995;21(6):779-89.
18. Johnson ES, Lucier G. Perspectives on risk assessment impact of recent reports on benzene. *Am J Ind Med*. 1992;21(5):749-57.
19. ECO-USA. Toxics. Químicos. Benzene [Internet]. [cited 2014 Jan 31] Available from: <http://www.eco-usa.net/toxics/quimicos-p/benzene.shtml>
20. Landrigan PJ. The worldwide problem of lead in petrol. *Bull World Health Organ*. 2002;80(10):768.
21. Santos MA, Tivora BE, Kotde S, Caldas ED. Human risk assessment of benzene after a gasoline station fuel leak. *Rev Saúde Pública*. 2013;47(2):335-44.
22. Mielke HW, Ladlow MA, Gonzales C. Lead (Pb) legacy from vehicle traffic in eight California urbanized areas: continuing influence of lead dust on children's health. *Sci Total Environ*. 2010;408(19):3965-75.

23. ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 40, de 25.10.2013. Diário Oficial da União 2013; 25 out.
24. Hu J, Ma H, Zhang W, Yu Z, Sheng G, Fu J. Effects of benzene and its metabolites on global DNA methylation in human normal hepatic L02 cells. *Environ Toxicol.* 2014;29(1):108-16.
25. Rappaport SM, Kim S, Lan Q, Vermeulen R, Waidyanatha S, Zhang L, et al. Evidence that humans metabolize benzene via two pathways. *Environ Health Perspect.* 2009;117(6):946-52.
26. Dougherty D, Garie S, Barchowsky A, Zmuda J, Tatoli E. NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure – a literature review. *Toxicol Lett.* 2008;182(1-3):7-17.
27. Costa MAF, Costa MFB. Benzeno: uma questão de saúde pública. *Interiencia.* 2002;27(4):201-4.
28. Comissão Europeia. Council Directive 97/42/EC of 27 June 1997 amending for the first time Directive 90/394/EEC on protecting workers from risks related to exposure to carcinogens at work [Sixth Individual Directive according to Art. 16(1) of Directive 89/391/EEC]. Official Journal of the European Communities No. L179, 08.07.1997. Brussels, Belgium: European Commission; 1997.
29. ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Threshold Limit Values (TLVs) for chemical substances and physical agents biological exposure indices for 2013. Cincinnati, USA: ACGIH; 2013.
30. Tovaitin-Ahumada H, Whitehead L. Personal exposures to volatile organic compounds among outdoor and indoor workers in two Mexican cities. *Sci Total Environ.* 2007;376(1-3):60-71.
31. Wallace L. Environmental exposure to benzene: an update. *Environ Health Perspect.* 1996;104(Suppl 6):1129-36.
32. IARC. International Agency for Research on Cancer. Benzene. Monograph Evaluation Carcinogenic Risk Chemical Human. 1989;45:159-218.
33. Johnson ES, Langard S, Lin YS. A critique of benzene exposure in the general population. *Sci Total Environ.* 2007;374(2-3):183-98.
34. Brito FV, Oliveira AS, Neves HC, Azevedo JAT, Bhering DL, Reis SM, et al. Estudo da contaminação de águas subterrâneas por BTEX oriundas de postos de distribuição no Brasil. In: 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás; 2005; Brasil.
35. Anjos RB. Avaliação de HPA e BTEX no solo e água subterrânea, em postos de revenda de combustíveis: estudo de caso na cidade de Natal-RN [dissertação]. Natal (RN): Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2012.
36. Landon MK, Beltz K. Geogenic sources of benzene in aquifers used for Public Supply, California. *Environ Sci Technol.* 2012; 46(16):8689-97.
37. Tiburtius ERL, Peralta-Zamora P, Emmel A, Leal ES. Degradação de BTEXs via processos oxidativos avançados. *Química Nova.* 2005;28(1):61-4.
38. Environmental Protection Agency (EPA). Ambient water quality criteria for benzene [Internet]. 1980 [cited 2014 Dec 2]. Available from: http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/upload/2001_10_12_criteria_ambientwqc_benzene80.pdf
39. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União 2011; 12 dez.
40. Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 396, de 3 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Diário Oficial da União 2008; 3 abr.
41. Machado JMH, Costa DE, Cardoso LM, Arcuri A. Alternativas e processos de vigilância em saúde do trabalhador relacionados à exposição ao benzeno no Brasil. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2003;8(4):913-21.
42. Costa DE. Prevenção da exposição ao benzeno no Brasil [tese]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina; 2009.
43. Brasil. Ministério do Trabalho. Norma regulamentadora nº 15. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. São Paulo: Editora Atlas; 2010.
44. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 10, de 8 de Setembro de 1994. Diário Oficial da União 1994; 12 set.
45. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Acordo e legislação sobre o benzeno. São Paulo: Fundacentro; 1995.
46. Brasil. Ministério da Saúde. Risco químico: atenção à saúde dos trabalhadores expostos ao benzeno. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
47. Godot RHM, Godot AFL, Gonçalves Junior SJ, Paralovo SL, Borillo GC, Barbosa CGG, et al. Healthy environment – indoor air quality of Brazilian elementary schools nearby petrochemical industry. *Science of the Total Environment.* 2013;463-464:639-46.
48. Carvalho-Oliveira R, Pozo RM, Lobo DJ, Lichtenfels AJ, Martins-Junior HA, Bustilho JO, Salki M, Sato IM, Saldiva PH. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. *Environ Res.* 2005;98(1):1-7.
49. Parreira FV, Carvalho CR, Cardeal ZL. Evaluation of indoor exposition to benzene, toluene, ethylbenzene, xylene, and styrene by passive sampling with a solid-phase microextraction device. *J Chromatogr Sci.* 2002;40(3):122-6.
50. Vieira AC, Zamperli RA, de Siqueira ME, Martins I, Hguetredo EC. Molecularly imprinted solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of urinary trans,trans-muconic acid: a comparison with ionic exchange extraction. *Analyst.* 2012;137(10):2462-9.
51. Menezes M, Balbôa MS, Siqueira ME, Martins I. Influência do hábito de fumar na excreção urinária do ácido trans, trans-muconico. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2008;44(3):459-64.
52. Martins I, Siqueira MEPB. Trans,trans-muconic acid in urine samples collected in three periods from benzene handling workers in a Brazilian refinery. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2004; 40(2):197-201.
53. Paula PCS, Siqueira JN, Junqueira RG, Loffe EMA. Avaliação do ácido trans, trans-muconico urinário como biomarcador de exposição ao benzeno. *Rev Saúde Pública.* 2003;37(6):780-5.
54. Martins I, Siqueira MEB. Determinação do ácido trans, trans-muconico em urina: validação de um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2002;38(2):205-13.
55. Alegretti AP, Thiesen FV, Maciel GP. Analytical method for evaluation of exposure to benzene, toluene, xylene in blood by gas chromatography preceded by solid phase microextraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;809(1):183-7.

56. Da Rosa JC, Fleggenbaum M, Soledad AI, Claus MS, Nunes ADS, Cardoso VV. Cytogenetic evaluation and the association with polymorphisms of the CPY1A1 and NRI13 genes in individuals exposed to BTEX. *Environ Monit Assess.* 2013;185(7):5883-90.
57. Lima CSP, Lourenço GJ, Lorand-Metze I, Nascimento H, Saad STO, Costa FE. No contribution of GSTM1 and GSTT1 null genotypes to the risk of neutropenia due to benzene exposure in Southeastern Brazil. *Genet Mol Biol.* 2009;32(4):709-11.
58. Santiago E, Alves G, Otero UB, Tabalpa MM, Scherrer LR, Kosyakova N, et al. Monitoring of gas station attendants exposure to benzene, toluene, xylene (BTX) using three-color chromosome painting. *Mol Cytogenet.* 2014;7(1):15.
59. Trevisan P, da Silva JN, da Silva AP, Rosa RE, Paskulin GA, Thiesen FV, et al. Evaluation of genotoxic effects of benzene and its derivatives in workers of gas stations. *Environ Monit Assess.* 2014;186(4):2195-204.
60. Moro AM, Charlo ME, Bracker N, Durgante J, Balerio M, Bubols G, et al. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. *Mutat Res.* 2013;754(1-2):63-70.
61. Zucchi TD, Zucchi FD, Poli P, Melo IS, Zucchi TM. A short-term test adapted to detect the genotoxic effects of environmental volatile pollutants (benzene fumes) using the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *J Environ Monit.* 2005;7(6):598-602.
62. Maluf E, Hamerschlag N, Cavalcanti AB, Azevum Júnior A, Eluf-Neto J, Falco RP, Lorand-Metze IG, et al. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin American countries: the LATIN case-control study. *Haematologica.* 2009;94(9):1220-6.
63. Brandão MM, Rêgo MAV, Pugliese L, Clarêncio J, Bastos CM, Ferreira J, et al. Phenotype analysis of lymphocytes of workers with chronic benzene poisoning. *Immunol Lett.* 2005;101(1):65-70.
64. Basera IM. Toxicidade do benzeno, fontes de contaminação e análises laboratoriais [monografia]. Novo Hamburgo (SC): Centro Universitário Feevale. Instituto de Ciências da Saúde; 2009.
65. Monks TJ, Butterworth M, Lau SS. The fate of benzene-oxide. *Chem Biol Interact.* 2010;184(1-2):201-6.
66. Snyder R, Hedli CC. An overview of benzene metabolism. *Environ Health Perspect.* 1996;104(Suppl 6):1165-71.
67. Ross D. Metabolic basis of benzene toxicity. *Eur J Haematol Suppl.* 1996;60:111-8.
68. Chaney AM, Carlson GP. Comparison of rat hepatic and pulmonary microsomal metabolism of benzene and the lack of benzene induced pneumotoxicity and hepatotoxicity. *Toxicology.* 1995;104(1-3):53-62.
69. Ross D. The role of metabolism and specific metabolites in benzene-induced toxicity: evidence and issues. *J Toxicol Environ Health.* 2000;61(5-6):357-72.
70. North M, Tandon VI, Thomas R, Logutnov A, Gerlovtina I, Hubbard AE, et al. Genome-wide functional profiling reveals genes required for tolerance to benzene metabolites in yeast. *PLoS One.* 2011;6(8):e24205.
71. MacDonald KDD. Investigating the role of reactive oxygen species in benzoquinone-mediated dna damage and recombination in fetal hematopoietic cells [dissertação]. Ontario (Canada): Queen's University Kingston. Department of Pharmacology and Toxicology; 2010.
72. Buthumrung N, Mahidol C, Navasumrit P, Promvijit J, Hansont P, Aitrap H, et al. Oxidative DNA damage and influence of genetic polymorphisms among urban and rural schoolchildren exposed to benzene. *Chem Biol Interact.* 2008;172(3):185-94.
73. Rappaport SM, Waidyanatha S, Qu Q, Shore R, Jin X, Cohen B, et al. Albumin adducts of benzene oxide and 1,4-benzoquinone as measures of human benzene metabolism. *Cancer Res.* 2002;62(5):1330-7.
74. Tornqvist M, Fred C, Haglund J, Helleberg H, Paulsson B, Rydberg P. Protein adducts: quantitative and qualitative aspects of their formation, analysis and applications. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002;778(1-2):279-308.
75. Hartwig A. The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis. *Chem Biol Interact.* 2010;184(1-2):269-72.
76. Potrier MC. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(8):630-7.
77. Snyder R. Benzene and leukemia. *Int J Environ Res Public Health.* 2012;9(8):2875-93.
78. McHale CM, Zhang L, Smith MT. Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: implications for risk assessment. *Carcinogenesis.* 2012;33(2):240-52.
79. Loureiro APM, Mascio PD, Medeiros MHG. Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagenese e carcinogenese. *Quim Nova.* 2002;25(5):777-93.
80. Lau SS, Kuhlman C, Bratton SB, Monks TJ. Role of hydroquinone-thiol conjugates in benzene-mediated toxicity. *Chem Biol Interact.* 2010;184(1-2):212-7.
81. Kolvisto P, Peltonen K. Analytical methods in DNA and protein adduct analysis. *Anal Bioanal Chem.* 2010;398(6):2563-72.
82. Funk WE, Waidyanatha S, Chang SH, Rappaport SM. Hemoglobin adducts of benzene oxide in neonatal and adult dried blood spots. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(8):1896-901.
83. Phillips DH. DNA adducts as markers of exposure and risk. *Mut Res.* 2005;577(1-2):284-92.
84. O'Connell KY, Smith MT, Dosemeci M, Hayes RB, Zhang L, Li G, et al. Non-linear production of benzene oxide-albumin adducts with human exposure to benzene. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002;778(1-2):367-74.
85. De Palma G, Mutti A, Spataro G, Andreoli R, Mozzoni P, Carrieri M, et al. Biomarkers of effect and susceptibility to low doses of benzene. *G Ital Med Lav Ergon.* 2013;35(4):259-62.
86. Ross D, Zhou H. Relationships between metabolic and non-metabolic susceptibility factors in benzene toxicity. *Chem Biol Interact.* 2010;184(1-2):222-8.
87. Kim S, Lan Q, Waidyanatha S, Chanock S, Johnson BA, Vermeulen R, et al. Genetic polymorphisms and benzene metabolism in humans exposed to a wide range of air concentrations. *Pharmacogenet Genomics.* 2007;17(10):789-801.
88. Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, et al. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science.* 2004;306(5702):1774-6.
89. Wallace LA. The Total Exposure Assessment Methodology (TEAM) Study. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency; 1987.
90. Weaver VM, Buckley T, Groopman JD. Lack of specificity of trans,trans- muconic acid as a benzene biomarker after ingestion of sorbic acid-preserved foods. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9(7):749-55.

91. Brugnone F, Perbellini L, Romeo L, Bianchini M, Tonello A, Pinalo G, et al. Benzene in environmental air and human blood. *Int Arch Occup Environ Health*. 1998;71(8):554-9.
92. Augusto LGS, Freitas CM. O princípio da precaução no uso de indicadores de riscos químicos ambientais em saúde do trabalhador. *Ciênc Saúde Coletiva*. 1998;3(2):85-95.
93. Amorim LCA. O uso dos biomarcadores na avaliação da exposição ocupacional a substâncias químicas. *Rev Bras Med Trab*. 2003;1(2):124-32.
94. Rappaport SM, Kim S, Thomas R, Johnson BA, Bois FY, Kupper LL. Low-dose metabolism of benzene in humans: science and obfuscation. *Carcinogenesis*. 2013;34(1):2-9.
95. Infante PF. The IARC October 2009 evaluation of benzene carcinogenicity was incomplete and needs to be reconsidered. *Am J Ind Med*. 2011;54(2):157-64.
96. Pyatt DW, Aylward LL, Hays SM. Is age an independent risk factor for chemically induced acute myelogenous leukemia in children? *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2007;10(5):379-400.
97. Schnatter AR, Rosamilia K, Wojcik NC. Review of the literature on benzene exposure and leukemia subtypes. *Chem Biol Interact*. 2005;153-154:9-21.
98. Galbraith D, Gross SA, Paustenbach D. Benzene and human health: a historical review and appraisal of associations with various diseases. *Crit Rev Toxicol*. 2010;40(Suppl 2):1-46.
99. Smith MT, Jones RM, Smith AH. Benzene exposure and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(3):385-91.
100. Savitz DA, Andrews KW. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. *Am J Ind Med*. 1997;31(3):287-95.
101. Infante PF. Benzene exposure and multiple myeloma: a detailed meta-analysis of benzene cohort studies. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1076:90-109.
102. Mandant P, Desai K, Highland H. Cytotoxic effects of benzene metabolites on human sperm function: an in vitro study. *ISRN Toxicology*. 2013;article ID 397524.
103. Katukam V, Kulakarni M, Syed R, Alharbi K, Nalk J. Effect of benzene exposure on fertility of male workers employed in bulk drug industries. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16(6):592-7.
104. Xing C, Marchetti F, Li G, Weldon RH, Kurtovich E, Young S, et al. Benzene exposure near the U.S. permissible limit is associated with sperm aneuploidy. *Environ Health Perspect*. 2010;118(6):833-9.
105. Thansaringkarn T, Soogarun S, Palaswan A. Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary trans,trans-muconic acid. *Int J Occup Environ Med*. 2013;4(1):45-9.
106. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). *Threshold Limit Values for Chemicals Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices*. Cincinnati, OH: ACGIH; 2003.
107. Sorensen M, Skow H, Astrup H, Hertel O, Loft S. Urban benzene exposure and oxidative DNA damage: influence of genetic polymorphisms in metabolism genes. *Sci Total Environ*. 2003;309(1-3):69-80.
108. Dionísio FSA, Rohlfis DB. Benzene: dinâmica ambiental, efeitos na saúde e regulamentação [monografia]. Goiás: Pontifícia Universidade Católica de Goiás; 2013.
109. Pelallo-Martínez NA, Batres-Esquivel I, Carrizales-Yáñez I, Diaz-Barriga FM. Genotoxic and hematological effects in children exposed to a chemical mixture in a petrochemical area in Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2014;67(1):1-8.
110. Fustinoni S, Campo I, Satta G, Campagna M, Ibba A, Tocco MG, et al. Environmental and lifestyle factors affect benzene uptake biomonitoring of residents near a petrochemical plant. *Environ Int*. 2012;39(1):2-7.
111. Steffen C, Auclerc ME, Auvrignon A, Barachel A, Kebali K, Lambilliotte A, et al. Acute childhood leukaemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons: a case-control study. *Occup Environ Med*. 2004;61(9):773-8.
112. Brasil. Ministério do Trabalho. Norma regulamentadora nº 7 – Segurança e medicina do trabalho. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. São Paulo: Editora Atlas; 2010.
113. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 34, de 20 de dezembro de 2001. *Diário Oficial da União* 2001; 20 dez.
114. Costa MFB, Machado JMH, Moreira J, Brickus LSR. Aplicabilidade do ácido trans,trans-muconico urinário como indicador biológico na avaliação da exposição ocupacional ao benzene. *Revista Brasileira de Toxicologia*. 2000;13:63-8.
115. Costa MFB. Estudo da aplicabilidade do ácido trans,trans-muconico urinário como indicador biológico de exposição ao benzene [tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2001.
116. Campagna M, Satta G, Campo I, Flore V, Ibba A, Meloni M, et al. Analysis of potential influence factors on background urinary benzene concentration among a non-smoking, non-occupationally exposed general population sample. *Int Arch Occup Environ Health*. 2014;87(7):793-9.
117. Hoet P, De Smedt E, Ferrari M, Imbriani M, Maestri L, Negri S, et al. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009;82(8):985-95.
118. Cocco P, Tocco MG, Ibba A, Scano L, Ennas MG, Flore C, Bandaccio FS. trans,trans-muconic acid excretion in relation to environmental exposure to benzene. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003;76(6):456-60.
119. Protano C, Andreoli R, Mantini P, Vitali M. Urinary trans,trans-muconic acid and S-phenylmercapturic acid are indicative of exposure to urban benzene pollution during childhood. *Sci Total Environ*. 2012;435-6:115-23.
120. Gagné S. Determination of trans,trans-muconic acid in workers' urine through ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2012;27(5):664-8.
121. Rekhadevi PV, Mahboob M, Rahman ME, Grover P. Determination of genetic damage and urinary metabolites in fuel filling station attendants. *Environ Mol Mutagen*. 2011;52(4):310-8.
122. Lovreglio P, D'Errico MN, Fustinoni S, Drago I, Barbieri A, Sabatini L, et al. Biomarkers of internal dose for the assessment of environmental exposure to benzene. *J Environ Monit*. 2011;13(10):2921-8.
123. Lovreglio P, Barbieri A, Carrieri M, Sabatini L, Fracasso ME, Dorta D, 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. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010;83(3):341-56.
124. Ducos F, Berode M, Francin JM, Arnoux C, Lefèvre C. Biological monitoring of exposure to solvents using the chemical itself in urine: application to toluene. *Int Arch Occup Environ Health*. 2008;81(3):273-84.

125. Hopf NH, Kirkeleit J, Bratvett M, Saccop P, Talaska G, Moen BE. Evaluation of exposure biomarkers in offshore workers exposed to low benzene and toluene concentrations. *Int Arch Occup Environ Health*. 2012;85(3):261-71.
126. Protano C, Guidotti M, Mantini P, Petyx M, La Torre G, Vitali M. Benzene exposure in childhood: role of living environments and assessment of available tools. *Environ Int*. 2010;36(7):779-87.
127. Mantini P, De Palma G, Andreoli R, Mozzoni F, Poli D, Goldoni M, et al. Occupational exposure to low levels of benzene: biomarkers of exposure and nucleic acid oxidation and their modulation by polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes. *Toxicol Lett*. 2010;193(3):229-35.
128. Schettgen T, Mustil A, Alt A, Kraus T. Fast determination of urinary S-phenylmercapturic acid (S-PMA) and S-benzylmercapturic acid (S-BMA) by column-switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2008;863(2):283-92.
129. Pieri M, Miraglia N, Acampora A, Genovese G, Soleo L, Sannolo N. Determination of urinary S-phenylmercapturic acid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003;795(2):347-54.
130. Farmer PB, Kaur B, Roach J, Levy I, Consonni D, Bertazzi PA, Pesatori A, et al. The use of S-phenylmercapturic acid as a biomarker in molecular epidemiology studies of benzene. *Chem Biol Interact*. 2005;153-4:97-102.
131. Melkian AA, Qu Q, Shore R, Li G, Li H, Jin X, et al. Personal exposure to different levels of benzene and its relationships to the urinary metabolites S-phenylmercapturic acid and trans,trans-muconic acid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002;778(1-2):211-21.
132. Ayl-Fanou I, Avogbe PH, Fayomi B, Keith G, Hountondji C, Croppy EE, et al. DNA-adducts in subjects exposed to urban air pollution by benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Cotonou, Benin. *Environ Toxicol*. 2011;26(1):93-102.
133. Phillips DH, Farmer PB, Beland FA, Nath RG, Potrier MC, Reddy MV, et al. Methods of DNA adduct determination and their application to testing compounds for genotoxicity. *Environ Mol Mutagen*. 2000;35(3):222-33.
134. Phillips DH. On the origins and development of the ³²P-postlabelling assay for carcinogen-DNA adducts. *Cancer Letters*. 2013;334(1):5-9.
135. Gouvêa AV, Cardoso MHW, Bastos LHP, Barata-Silva C, Ortiz ND, Nóbrega AW, et al. Avaliação da contaminação de resíduos de agrotóxicos em amostras de soja utilizando o método quenchers-acetato com a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 2014;73.
136. Adkinson TJ. A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types. *Int J Hyg Environ Health*. 2009;212(1):1-10.
137. Hartwig A. The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis. *Chem Biol Interact*. 2010;184(1-2):269-72.

Recibido em: 01/10/2014

Aprovado em: 12/12/2014

Full Length Research Paper

Leukaemia incidence in residents of municipalities in the State of Rio de Janeiro between 2006 and 2014

Cristiane Barata-Silva^{1*}, Thelma Pavesi¹, Simone Mitri¹, Thais Pedrete¹, Caroline Lima¹, Armando Meyer² and Josino Costa Moreira¹

¹Fundação Oswaldo Cruz, Brazil.

²Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.

Received 5 September, 2016; Accepted 29 September, 2016

This research aims to study incidence of acute leukaemia in adults living under potential environmental exposure to industrial emissions in selected cities in the state of Rio de Janeiro, Brazil. It evaluates the incidence of hospitalizations for leukaemia among residents of 19 metropolitan areas of the State of Rio de Janeiro registered in the Brazilian Health Care System (SUS) between January 2006 and March 2014, according to their residence area. Here, a comparison among the studied cities was performed taking as estimated morbidity indicator the hospitalization rate for leukaemia by residence area. Nineteen of a total of 92 municipalities in the State of Rio de Janeiro were selected for the present study. The adopted selection criteria were distance of each municipality to the City of Rio de Janeiro of less than 180 km, similar health policies, number of public health facilities, urban and rural population distribution and the amount of industries in each municipality. Thus, the selected municipalities were: Belford Roxo, Duque de Caxias, Itaboraí, Itaguaí, Japeri, Macaé, Mage, Marica, Mesquita, Nilópolis, Niterói, Nova Iguaçu, Queimados, Rio Bonito, Rio de Janeiro, São Gonçalo, São João de Meriti, Seropédica and Tanguá. The study thus revealed that among these municipalities, Macaé, Itaboraí, Queimados and Duque de Caxias showed the highest hospitalization rates for leukemia in adults (≥20 years old) for both sexes. Additionally, morbidity was about 6 times higher than the average of the reference municipalities. A common feature of these municipalities is the massive presence of potentially polluting industries, especially oil refining activities. The results presented herein strongly suggest a correlation between environmental pollution by industrial emissions and acute leukaemia in adults. It is important to note that, even in this situation, the causality can only be determined categorically through individual studies.

Key words: Leukemia, environmental contamination, epidemiology, cancer risk.

INTRODUCTION

Industrialization is a process that, over the years, have become a synonym of obtaining power and respect from

those who presented technological delay. For many, it is synonym of development, In fact, development is the aim

*Corresponding author E-mail: cristianebarata@hotmail.com.

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

of every country, especially economic development, measured through the Gross Domestic Product (GDP) of each country (Maluf, 2000).

Currently, the Southeastern region of Brazil (comprising the States of São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais and Espírito Santo) generates 55.4% of the Brazilian GDP, with Rio de Janeiro State contributing with 11.2% of this total, ranked as the second contributor for the Brazilian GDP in 2011 (IBGE, 2011).

This is due to the allocation of several large investments in this area, namely automotive manufacturers in the Médio Paraíba; the Rio Polymers industry, in Duque de Caxias, aiming at the creation of a chemical-gas complex in that area; the reactivation of the naval industry; the enlargement of investments through Petrobrás and oil industries in several municipal districts such as Macaé; the installation of new oil companies in Rio de Janeiro; the creation of an oil and gas complex in Itaboraí (COMPERJ); the installation of a metallurgical plant in the industrial district of Santa Cruz and, the development of a container port, in Itaguaí, whose project was meant to be the largest port in Latin America (Osorio and Versiani, 2013).

Alongside this exacerbated growth, harmful consequences have been linked to the environment and the human health, due to increased emissions of pollutant gases inherent to these productive processes, the inadequate discard of waste and the lack of public policies that demand manufacturer responsibility for the life cycle of their respective product (Reis et al., 2012). Proof of this environment and health relationship are the countless reports on the increasing incidence of pathologies, such as cancer, in areas of high exposure leading to chemical substances (Snyder, 2014; Koh et al., 2014; Yong et al., 2014; Loeb and Harris, 2008).

One of the most thoroughly studied cancer types in relation to exposure to carcinogenic substances alongside genetic predisposition is leukaemia (Glass et al., 2014; Boothe et al., 2014; Hoek et al., 2014). Characterized as a clonal proliferation of hematopoietic cells present in the bone marrow, leukaemia can be classified in four subtypes: acute lymphoblastic, acute myeloid, chronic lymphoid and chronic myeloid, with the former occurring more frequently in children, while the other subtypes are more common in adults (Klepin et al., 2014; Couto, 2015).

The relationship between environmental exposure to chemicals and leukaemia has been studied. Steffen et al (2004) reported an association between acute childhood leukaemia and benzene emitting sources, while Raaschou-Nielsen et al (2016) studied the relationship between traffic-related air pollution and the risk of leukaemia in adults and found an association with the acute myeloid type but not for other subtypes. Fillipini et al. (2015) reported an association between risks for leukaemia and environmental exposure to traffic pollution, particularly benzene. Parodi et al. (2015) found

a possible aetiological role of air pollution from an industrial area and the risk of leukaemia in adults in Italy. Garcia-Perez et al. (2015) reported similar results for childhood leukaemia and the proximity of industrial and urban sites. Very few scientific works have been published involving Brazilian environmental exposure and none, to the best of our knowledge have focused on exposure to industrial emissions and leukaemia in residents from surrounding regions of industrial areas.

Therefore, the purpose of the present study was to evaluate the situation of hospitalizations due to leukaemia in residents of the metropolitan area of Rio de Janeiro State registered by the Unified Health System, according to residence area from January 2008 to March 2014.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This work refers to an epidemiological study with ecological delineation, comprehending the period between January 2008 to March 2014, using secondary data available from the Unified Health System (DATASUS) and of Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) electronic websites regarding selected municipalities in the State of Rio de Janeiro. The morbidity indicator selected was the interment rate due to leukaemia. Taking into consideration the residence areas it was possible to compare the situation in each studied district through ratio rates.

Study area

Nineteen of a total of 92 municipalities in the State of Rio de Janeiro were selected for the present study. The adopted selection criteria were distance of each municipality to the City of Rio de Janeiro of less than 180 km; similar health policies; number of public health facilities; urban and rural population distribution and; the amount of industries in each municipality. Therefore, the selected municipalities were: Belford Roxo, Duque de Caxias, Itaboraí, Itaguaí, Japeri, Macaé, Magé, Maricá, Mesquita, Nilópolis, Niterói, Nova Iguaçu, Queimados, Rio Bonito, Rio de Janeiro, São Gonçalo, São João de Meriti, Seropédica and Tanguá. The location of each study area is displayed in Figure 1.

Study groups

The studied cities were classified into two different groups: reference and cases. More than 18% of residents living in rural areas characterized the reference group. In the case group, the number of people involved in industrial activities is larger and they are, consequently, more exposed to chemical substances coming from those sources. Through these criteria, the cities of Rio Bonito and Seropédica comprised the reference group, in accordance to the data displayed in Table 1.

Morbidity Indicators

The morbidity indicators were built considering the hospitalization rate due to leukaemia and the average rate of the ones classified as references, allowing for comparisons of the situations present in each evaluated municipality. Therefore, hospitalizations due to

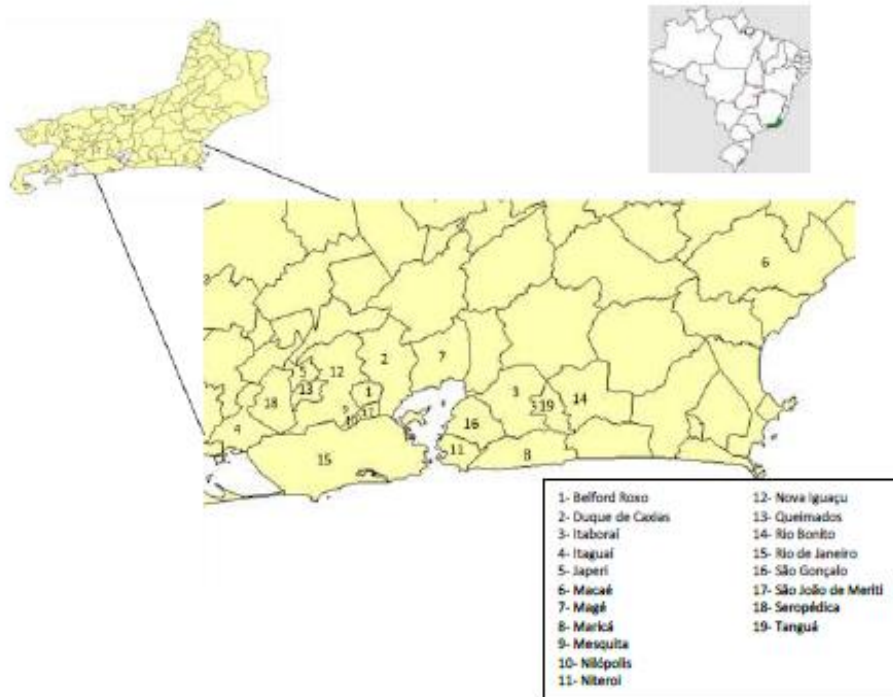


Figure 1. Representative map of Brazil and the State of Rio de Janeiro, highlighting the 19 municipalities selected for this study.

leukaemia selected in Chapter II (Neoplasms (tumours)) and the List of Morbidity (Leukaemia) of the International Classification of Diseases (ICD-10) were included in the numerators. The population at risk was used in the denominators, in other words, the population in which the cases in half of the interval of the studied period arose. Hospitalization data due to leukaemia were obtained from the Health Information: Epidemiology and Morbidity (TABNET) database found at the electronic portal of the Unified Health System database, DATASUS. The estimates of the resident population in the studied cities were obtained from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2010).

In order to minimize interference promoted by the different age distributions, since the groups were not homogeneous, the standardization of the hospitalization rates due to leukaemia was calculated by the direct method (Pagano and Gauvreau, 2004).

The association of the measures was accomplished through the rate ratio of each municipality, obtained by dividing the rate of each one by the average of the rate of the reference group (Rio Bonito and Seropédica). The rate ratios and 95% Confidence Interval (IC95%) were calculated using the WINPEPI® version 9.3 software package.

Since this study refers to an epidemiological study with ecological delineation, using public population data applied for planning governmental actions without individual identification, there is no need of appreciation by any ethical committee.

RESULTS

The relevant information collected from the different, freely accessible, electronics databases from the selected municipalities in the State of Rio de Janeiro were compiled and are presented in Table 1.

Rio de Janeiro City has the largest population and practically its entirety lives in the urban area, followed by São Gonçalo and Duque de Caxias. Rio Bonito and Seropédica possess about 20% of their total population living in rural areas. Regarding the registration of public health facilities, the municipal districts of Rio de Janeiro and São Gonçalo lead the list, following by the population of each area.

The Human Development Index (HDI), also displayed in Table 1, is an indicator calculated from information obtained on the three basic dimensions of human development (income, education and health) of a certain population and allows for the evaluation of how the public managers of a certain area use financial resources to promote improvements in life quality of its inhabitants.

Table 1. Municipalities selected for herein and relevant information used in this study (IBGE, 2010). HDI - Human Development Index, GDP - Gross Domestic Product.

Municipalities	Total Urban population	Total Rural population	Public Health establishments	HDI	GDP (In thousands – R\$)		
					Agricultural	Industrial	Services
Belford Roxo	469261	0	58	0.684	2357	996248	3184746
Duque de Caxias	852131	2915	82	0.711	7923	8403779	14918652
Itaboraí	215503	2587	62	0.693	10718	345855	1672230
Itaguaí	104292	4871	27	0.715	15332	272759	2369806
Japeri	95391	0	15	0.659	2585	86396	769042
Macaé	202873	3875	83	0.764	25649	4297335	5472995
Magé	215941	12209	78	0.709	28087	242540	1677570
Maricá	125532	1987	26	0.765	7614	498272	1073956
Mesquita	168403	0	19	0.737	365	187332	1261123
Nilópolis	157483	0	21	0.753	0	192215	1398300
Niterói	487327	0	87	0.837	15696	1800542	7936680
Nova Iguaçu	786536	8676	104	0.713	8321	1291340	7324182
Queimados	137938	0	15	0.680	2967	466375	1049380
Rio Bonito	41267	14319	35	0.710	6312	126071	654087
Rio de Janeiro	6323037	0	257	0.799	59037	22332352	125151001
São Gonçalo	999161	740	194	0.739	28491	1655305	8200147
São João de Meriti	459356	0	48	0.719	908	477505	4017426
Seropédica	64297	13886	23	0.713	11729	195298	572979
Tanguá	27426	3305	10	0.654	3864	41234	226425

The HDI has the purpose of offering development information under a different perspective from the Gross Domestic Product (GDP) per capita, another routinely applied indicator, which only considers the economical dimension of the municipal district development (PNUD, 2012).

The calculation of the internment rate was made by leukaemia adjusted by age with the data compiled on leukaemia hospitalization according to resident area registered by the Brazilian health care system (SUS) from January 2006 to March 2014 and the census data obtained from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) for each municipality evaluated in this study, the calculation of the internment rate was performed by leukaemia adjusted by age, as represented in Figure 2. First, the standardization of the rate was accomplished including all of population age groups, categorized only by gender, as displayed in Figure 2(a). Subsequently, only information regarding the adults (≥ 20 years old) were considered, in order to obtain data from the subtypes that occur preferentially in this age group, such as acute myeloid leukaemia, that show positive association with exposure to chemical substances, such as benzene (Keplin et al., 2014; Couto, 2015; Viacava and Bahia, 1999; Barata-Silva et al., 2014; Sahmel et al., 2013). The results obtained for this population stratum are presented in Figure 2(b).

When evaluating the rate ratio of hospitalizations due to

leukaemia in adults from each city and the average rate of the reference municipalities (Rio Bonito and Seropédica - Table 2), data demonstrated that, regarding men, Macaé city presents a morbidity force by leukaemia about 6 times higher than the references, followed by Queimados (RR = 5.18; 95% CI: 2.55-10.67) and Itaboraí (RR = 4.50; 95% CI: 2.28-9.19). On the other hand, for women, Queimados presents the highest magnitude, about 7 times higher than the reference average, followed by Itaboraí (RR = 5.53; 95% CI: 2.53-12.02) and Duque de Caxias (RR = 5.27; 95% CI: 2.53-11.36). These results are summarised in Figure 3.

DISCUSSION

The classification of the studied municipalities when evaluating the indicators Human Development Index (HDI) and Gross Domestic Product (GDP) per capita lead to different interpretations, indicating disparity between the economic and the human development of each area such as Duque de Caxias, which is classified as the second in the GDP rank and occupies the 12th HDI position among the 19 appraised municipalities, indicating that the revenue generated in this area is not distributed equally nor is invested in the same degree in education and health in this municipality.

An evidence of the welfare rendered by the government on behalf of the population health is the construction of

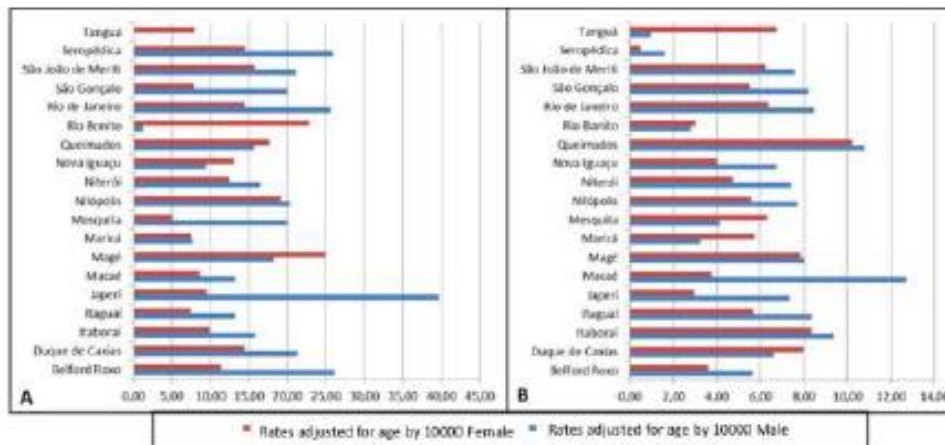


Figure 2. Age-adjusted hospitalization rates for leukaemia observed in 19 municipalities of in the State of Rio de Janeiro. (a) All ages. (b) Adults (≥ 20 years old).

Table 2. Rate ratio due to leukaemia hospitalization in adults registered in the municipalities of the metropolitan region of the State of Rio de Janeiro.

Municipalities	Rate Ratio (CI: 95%)	
	Male	Female
Belford Roxo	2.70 (1.39-5.50)	2.39 (1.10-5.27)
Duque de Caxias	3.18 (1.64-6.27)	5.27 (2.53-11.36)
Itaboraí	4.50 (2.28-9.19)	5.53 (2.53-12.02)
Itaguaí	4.01 (1.87-8.33)	3.74 (1.58-8.76)
Japeri	3.53 (1.62-7.65)	1.94 (0.72-5.16)
Macaé	6.12 (3.03-11.98)	2.49 (1.12-5.85)
Magé	3.85 (1.90-7.77)	5.16 (2.37-11.30)
Maricá	1.55 (0.67-3.58)	3.77 (1.63-8.60)
Mesquita	1.98 (0.94-4.41)	4.15 (1.92-9.55)
Nilópolis	3.70 (1.87-7.93)	3.69 (1.65-8.38)
Niterói	3.57 (1.78-6.90)	3.12 (1.47-6.82)
Nova Iguaçu	3.25 (1.68-6.43)	2.66 (1.27-5.84)
Quelimados	5.18 (2.55-10.67)	6.77 (3.12-15.19)
Rio de Janeiro	4.07 (2.10-7.80)	4.20 (2.04-9.00)
São Gonçalo	3.93 (2.07-7.82)	3.62 (1.72-7.76)
São João de Meriti	3.64 (1.79-6.99)	4.11 (1.95-8.97)
Tanguá	0.47 (0.06-3.77)	4.46 (1.53-12.47)

Public Health Facilities, which should be geographically instituted to include the largest number of inhabitants, in other words, cities with high population density, such as Rio de Janeiro, should have a larger number of these facilities, which was confirmed herein, followed by São Gonçalo and Nova Iguaçu, respectively. However, the existence of public health facilities is not a guarantee of a general preventive and/or health promotion practice,

since there is an unequal distribution of the health centres and hospitals with specialized services, privileging the central and the more developed parts of each city when compared to the suburbs, where health care is still very underdeveloped (Viacava and Bahia, 1999).

According to Figure 2a, regarding men, the city of Japeri, considered as a dormitory city, showed the

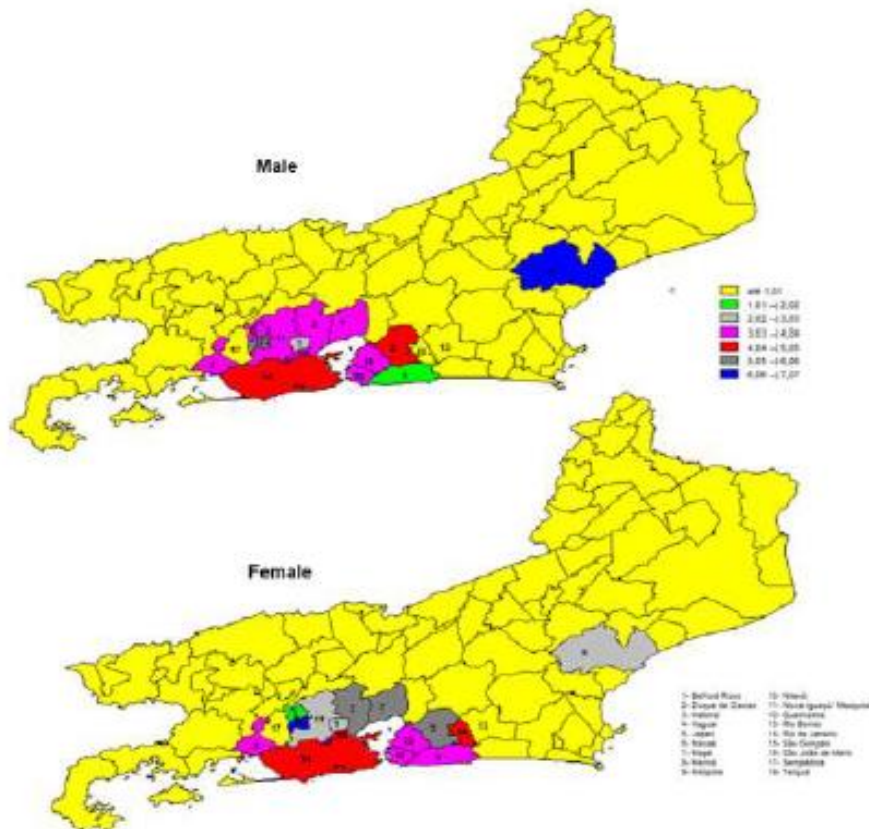


Figure 3. Map representing the leukaemia hospitalization rate ratio adjusted for age in adults of the 19 evaluated cities in the State of Rio de Janeiro, considering the Rio Bonito and Seropédica municipalities as references.

highest hospitalization rate for all types of leukaemia, followed by Rio de Janeiro and Macaé. For women, the city of Magé presented the highest rate, followed by Queimados and Duque de Caxias.

In spite of Japeri and Magé not having any significant industrial complexes, they are registered as comprising extensive agricultural areas, which consequently increases the possibility of population exposure to various pesticides (Araujo-Pinto et al., 2012). The use of pesticides has also been associated to increases in leukemia incidence, mainly Non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma, in workers exposed during the preparation and application of these substances (Alavanja et al., 2014; Jones et al., 2014). In addition to the workers, their relatives and neighbours are also

environmentally exposed to those xenobiotics, whether by dermal or oral or respiratory contamination (Peres et al., 2004).

The standardization of the rates considering only the adult group (≥ 20 years old) revealed a different situation. In this case, the city of Macaé showed the highest hospitalization rate standardized by age, followed by Queimados and Itaboraí, for men, while for women this occurred for the cities of Queimados, followed by Itaboraí and Duque de Caxias.

Macaé city is located in the Northern region of the state of Rio de Janeiro, known as the National Capital of Oil Production, since it holds more than 4 thousand companies linked to oil extraction activities and the production of oil and natural gas in the Campos Basin. Its

urban and economic development is linked to the installation and operation of such industries. This city receives royalties linked to oil production, resulting in significant increases in its Gross Domestic Product (GDP) in the last 15 years, leading to the highest GDP among the neighbouring cities (Neto et al., 2007).

This city currently has about 220,000 inhabitants, predominantly adults (≥ 20 years old), and great part develops occupational activities linked to the oil industry, either direct or indirectly. Intense population migration, responsible for population increases in the order of about 5% a year between 2000 and 2010, as a result of its high GDP, led to fast urban growth without any appropriate urban planning. Consequently, lack of basic sanitation or sewer collection is common. At the same time, increases in the occupational informality inside the productive process was observed, leading to increased occupational health risks due to lack of control of the work conditions that workers in these conditions are submitted to. In general, work opportunities are easier in places with high exposure risks to chemical substances, making the use of protection equipment necessary, which is not the main concern of any informal occupation (Carmo, 2012).

Similarly to Macaé, Duque de Caxias has its main economic activity structured around the oil industry, encompassing a complex of 26 petrochemical, processing and thermo-electrical companies. This is the second largest industrial complex in the state of Rio de Janeiro, with industries such as the Caxias Refinery (REDUC), considered the largest industrial unit of the Rio de Janeiro area, producing fuels, naphtha, and LPG (Liquefied Petroleum Gas). A series of chemical industries were built in its vicinity, some of them large-scale industries associated with oil processing, such as PETROFLEX, and NITRIFLEX, among others. In addition, a group of small and medium companies that produce resins, paints, candles, paraffin and other chemical products are also located in the area (Irigaray et al., 2013).

Recent increases in other industrial sectors, such as the manufacturing, furniture and food industries are observed in the area, in such a way, except for the REDUC complex, the industrial complex of Duque de Caxias can be considered as formed by several small and medium companies (Irigaray et al., 2013).

Queimados has a 4,000,000 m² industrial complex comprising about 40 companies with different activities, ranging from paint factories to recycling industries. This industrial park is located alongside the Camboatá River, which receives great part of the residual residence spilling and industrial waste (Ferreira, 2007). Additionally, environmental impacts are also generated by the Technological Centre of Dangerous Residues (CENTRES), operating since 1988 and responsible for the final destination of the toxic industrial residues of large chemical companies occupying a 70,000 m² area. In full operation, about 30,000 m³ of poisonous residues

stored in unidentified iron drums which were buried afterwards were registered. In 1998, the Rio de Janeiro Environment Engineering Foundation (FEEMA) suspended CENTRES activities and determined the removal of all material stocked on that area. However, the environmental liability left at the place could be detected in the soil and in groundwater even 10 years after its closure (Chagas, 2013). The adjacent district, Santo Expedito, with 2 000 inhabitants at that time, registered 21 deaths by cancer up to 2007 (Santos, 2011).

Itaboraí is a 430.374 km² municipality located in the metropolitan area of the state of Rio de Janeiro with 225,263 inhabitants. Its main economic activities are agriculture, livestock and mineral extractivism, with the Rio de Janeiro Petrochemical Complex (COMPERJ) currently being built. The construction of complex began in 2008 and foresees the operation of its first refinery in 2016. It is considered the largest Brazilian and international industrial enterprise of the last decades in the petrochemical sector, aiming at refining 165.00 barrels of oil daily (Ferreira et al., 2007).

One of the main observed impacts in this is the intense workforce migration towards participating in the construction of this Complex, occupying areas that were previously used for agricultural activities, such as fruit crops (Sanchez et al., 2009). In addition, other environmental impacts are expected to occur after this Complex begins operations, such as contamination of underground waters and soil, decreases in air quality, physiochemical and biological alterations of the local terrestrial and aquatic webs, significant increases in the population, lack of essential services for the municipal district due to high demands, irregular use and occupation of the soil ("slumization"), real estate speculation and increases in local income values (Pandeff, 2009).

In fact, the municipalities that presented higher hospitalization rates due to leukaemia during the evaluated period share in common the fact of predominantly industrial activities linked to high pollutant loads released into the environment, such as oil activities, processing and recycling of materials, production of paints and plastic and production of several industrial inputs (Koh et al., 2014; Terazaki et al., 2008; Thompson et al., 2009). In addition, a significant increase in records of other activities that use high amounts of chemical substances, such as agriculture, has also been observed (Pignati et al., 2014).

The scientific literature reports several studies that demonstrate a positive association of the xenobiotics originating from these activities with a series of environmental consequences, such as contamination of air, soil and water by volatile organic compounds, such as benzene, as well as human health concerns, like increasing incidence of several pathologies, such as cancer, alterations of abnormal chromosomes that lead to

foetus malformations and even male infertility (Koh et al., 2014; Schinatter et al., 2012; Mandani et al., 2013; Xing et al., 2010). However, the inference that environmental exposure is the main driving factor of human diseases is still fragile, since individual susceptibility is considered decisive for these events (Ross and Zhou, 2010; Norppa, 2003; Nebert et al., 2013). Therefore, the evidence should not be discarded, but instead evaluated in parallel to the identification and quantification of the environmental pollutants for a full understanding of this complex cause-effect relationship.

The results obtained herein should be cautiously analysed, since data included in information systems may somehow present typing or data aggregation flaws (inclinations of information). In addition, ecological studies, allow only for the evaluation of data obtained collectively and not from individual reports, which does not allow for the accomplishment of causal inferences.

Therefore, considering only the findings of the present study, the establishment of a cause-effect relationship between exposure to chemical substances and leukaemia occurrence is not possible due to the absence of important information at the individual level, such as exposure load, family health histories, age, previous diseases or conditions and the occupation. However, studies using the ecological methodology are still relevant in generating information on population dynamics, identifying the need for new studies.

Conclusions

The construction of the concept of economic development based on the implementation of industrial technologies that modify the scenario of certain areas may cause serious damage both to the environment and to human beings, due to the unsustainable use of natural resources and high load of contamination, which can become increasingly diversified.

Corroborating this affirmative, the present study verified that cities with higher numbers of potentially pollutant industries in the state of Rio de Janeiro registered the highest hospitalization rates due to leukaemia, for both genders, such as Macaé, Queimados and Itaboraí. However, it is not possible to only attribute exposure to chemical substances as the main factor driving the occurrence of cancer, since this is the result of the sum of several causalities, such as exposure load and genetic susceptibility.

However, the present study indicates that it is possible to presume the occurrence of a significant relationship between the productive processes of the industries located in these cities and hospitalization by leukaemia, although a verified cause-effect relationship cannot be stated with the adopted delineation. Therefore, the obtained results corroborate the need for new studies focusing on the continuous monitoring and quantification of the several variables, especially benzene and other

aromatic hydrocarbons that participate in the relationship between chemical exposure and the emergence of leukaemia in adults.

Conflict of Interests

The authors have not declared any conflict of interests.

ACKNOWLEDGEMENTS

Cristiane Barata-Silva, Thais Pedrete and Caroline Lima are supported by an Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ) fellowship; Thelma Pavesi, Simone Mitri, Enrico Saggiaro and Josino Costa Moreira are supported by the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ); Armando Meyer is supported by the Institute for Studies in Collective Health of the Federal University of Rio de Janeiro. The content of this study is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official views of the Oswaldo Cruz Foundation or the Institute for Studies in Collective Health.

REFERENCES

- Alavanja MC, Hofmann JN, Lynch CF, Hines CJ, Barry KH, Barker J, Buckman DW, Thomas K, Sandler DP, Hoppin JA, Koutros S, Andreotti G, Lubin JH, Blair A, Beane Freeman LE (2014). Non-Hodgkin Lymphoma Risk and Insecticide, Fungicide and Fumigant Use in the Agricultural Health Study. *PLOS ONE* 9(10):1-17.
- Araújo-Pinto M, Peres F, Moreira JC (2012). Using DPSEEA model (WHO) for the analysis of risks related to the use of pesticides in agricultural activities in the state of Rio de Janeiro. *Ciência & Saúde Coletiva* 17(6):1543-1555.
- Barata-Silva C, Mitri S, Pavesi T, Saggiaro E, Moreira JC. (2014). Benzene: reflections on public health, environmental presence and biological indicators used for the determination of exposure. *Cad. Saúde Colet.* 22(4):329-342.
- Boothe VL, Boehmer TK, Wendel AM, Yip FY (2014). Residential Traffic Exposure and Childhood Leukemia. A Systematic Review and Meta-analysis. *Am. J. Prev. Med.* 46(4):413-422.
- Carmo DF (2012). (Aspects of analysis Positive and Negative Growth of the Petroleum Industry Macaé / RJ)(dissertation). Universidade Federal do Rio de Janeiro- Rio de Janeiro, Brasil.
- Couto AC. (2015). Environmental exposures and leukemias distribution patterns in childhood(dissertation). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, FIOCRUZ.
- Ferreira MIP, Serra RV, Silva RC, Oliveira AC (2007). (Challenges to environmental management for the area of influence of the petrochemical complex in Rio de Janeiro - COMPERJ, Itaboraí / RJ). Foz do Iguaçu, PR, Brasil. Cited 2014 Dec 19.
- Ferreira WA (2007). Preliminary assessment of water quality indicators Basin forming the Rio Guandu(dissertation). Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Portuguese.
- Filippini T, Heck JE, Malagoli C, Del Giovane C, Vincenti M (2015). A review and meta-analysis of outdoor air pollution and risk of childhood leukemia. *J. Environ. Sci. Health C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 33(1):36-66.
- García-Pérez J, López-Abente G, Gómez-Barraso D, Morales-Piña A, Romaguera EP, Tamayo I, Fernández-Navarro P, Ramis R (2015). Childhood leukemia and residential proximity to industrial and urban sites. *Environ. Res.* 140:542-553.
- Glass DC, Schinatter AR, Tang G, Irons RD, Rushton L (2014). Risk of myeloproliferative disease and chronic myeloid leukaemia following

- exposure to low-level benzene in a nested case-control study of petroleum workers. *Occup. Environ. Med.* 71:266-274.
- Heck JE, Park AS, Qiu J, Cockburn M, Ritz B (2014). Risk of leukemia in relation to exposure to ambient air toxics in pregnancy and early childhood. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217:662-668.
- IBGE (2011). *Contas Regionais do Brasil*. 2011. (cited 2014 Aug 25). Available at: http://ftp.ibge.gov.br/Contas_Regionalis/2011/comentarios.pdf
- IBGE (2012) CENSO 2010. (cited 2014 May 9). Available from: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/>
- Irigaray HAR, Vergara SC, Santos MCF (2013). (Corporate social responsibility: A double look at REDUC). *Rev. Adm. Mackenzie* 14(5):82-111.
- Jones RR, Yu CL, Nuckols JR, Cerhan JR, Alroia M, Ross JA, Robien K, Ward MH (2014). Farm residence and lympho hematopoietic cancers in the low a Women's Health Study. *Environ. Res.* 133:353-361.
- Klepin HD, Rao AV, Fardee TB (2014). Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes in Older Adults. *J. Clin. Oncol.* 32(24):2541-52.
- Koh DH, Chung EK, Jang JK, Lee HE, Ryu HW, Yoo KM, Kim EA, Kim KS (2014). Cancer incidence and mortality among temporary maintenance workers in a refinery/ petrochemical complex in Korea. *Int. J. Occup. Environ. Health* 20(2):141-145.
- Loeb LA, Harris CC (2008). *Advances In Chemical Carcinogenesis: A Historical Review and Prospective.* *Cancer Res.* 68:6863-72.
- Maluf RB (2000) (Attributing meaning (s) to the notion of economic development). *Est. Soc. Agric.* 15:53-86.
- Mandani P, Desai K, Highland H (2013). Cytotoxic effects of benzene metabolites on human sperm function: An in vitro study. *ISRN Toxicology* 2013:397524.
- Nebert DW, Zhang G, Veseli EG (2013). Genetic Risk Prediction: Individualized Variability in Susceptibility to Toxicants. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53:355-375.
- Neto RB, Dias RB, Neto JB, Rangel LC (2007). Challenges to sustainable development in the city of Macae, RJ). *Perspective* 1(3):60-73.
- Norppa H (2003). Genetic susceptibility, biomarker responses, and cancer. *Mutat. Res.* 544:339-48.
- Osofio M, Versiani MH (2013). The role of institutions in economic and social history of the State of Rio de Janeiro). *Cad. Des. Flum.* 2:188-210.
- Paganó M, Gauvreau K (2004). *Biostatistics Principles.* Pioneira Thomson Learning, São Paulo.
- Pandeff PA (2009). *Environmental management in protected areas: Reflections from the closed season Project in APA-Guapimirim, RJ* dissertation. Universidade Federal Fluminense, UFF.
- Parodi S, Santi I, Casella C, Puppo A, Montanaro F, Fontana V, Pescetto M, Stagnaro E (2015). Risk of leukaemia and residential exposure to air pollution in an industrial area in Northern Italy: a case-control study. *Int. J. Environ. Health Res.* 25(4):393-404.
- Peres F, Lucca SR, Ponte LMD, Rodrigues KM, Rozemberg B. (2004). Perception of working conditions in untraditional farming community in Good Hope, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brazil). *Cad Saude Pub.* 20(4):1559-1568.
- Pignati W, Oliveira NP, Silva AMC (2014). Surveillance to pesticides: quantification of using and predicting impacts on health-work-environment for municipalities). *Ciênc Saude Col.* 19(12):4669-78.
- PNUD (2000). Attributing meaning (s) to the notion of economic development). *Est. Soc. Agric.* 15:53-86.
- Raaschou-Nielsen O, Ketzel M, Poulsen H, Sorensen M (2016). Traffic-related air pollution and risk for leukaemia of an adult population. *Int. J. Cancer* 138(5):1111-1117.
- Reis JRG, Ferreira SR, Andrade JHNB, Marafon ACF, Morraye MA (2012). *Environmental Health Surveillance: Interference in the environment on human health in a municipality of Minas. Gerais* 12:24-29.
- Ross D, Zhou H (2010). Relationships between metabolic and non-metabolic susceptibility factors in benzene toxicity. *Chem-Biol. Interactions* 184:222-228.
- Sahmel J, Devlin K, Burns A, Ferracini T, Ground M, Paustenbach D (2013). An Analysis of Workplace Exposures to Benzene Over Four Decades at a Petrochemical Processing and Manufacturing Facility (1962-1999). *J. Toxicol. Environ. Health A.* 76:723-746.
- Sanchez F, Correia DVA, Bienenstein R, Reis EP (2009). The Rio East and COMPERJ: Actors, consensus and conflict in an area in transformation). *Brasil.* Available at: <http://unuihospedagem.com.br/revista/rbeur/index.php/nais/artic/view/2770/2710>
- Santos MCB (2011). *Assessment of contamination by metals in soils impacted by the disposal of industrial waste: CENTRES case-study (Queimados, RJ)* dissertation. Universidade Federal Fluminense, Niterói. Available at: http://www.btd.ndc.uff.br/tde_arquivos8/TDE-2011-07-05T123627Z2997/Publico/DISSERTMARIACLARASANTOS.pdf
- Schnatter AR, Glass DC, Tang G, Irons RD, Rushton L. (2012). Myelodysplastic Syndrome and Benzene Exposure Among Petroleum Workers: An International Pooled Analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 104:1724-1737.
- Snyder R (2014). The bone marrow niche, stem cells, and leukemia: Impact of drugs, chemicals, and the environment. *Ann. N. York Acad. Sci.* 1310:1-6.
- Steffen C, Auclerc MF, Auvrignon A, Baruchel A, Kebali K, Lambilliotte A, Leverger G, Sommelet D, Vilmer E, Hémon D, Clavel J (2004). Acute childhood leukaemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons; a case-control study. *Occup. Environ. Med.* 61:773-778.
- Terazaki M, Fukazawa H, Tani Y, Makino M (2008). Organic pollutants in paper-recycling process water discharge areas: First detection and emission in aquatic environment. *Environ. Pollut.* 151(1):53-9.
- Thompson RC, Moore CJ, Saal FS, Swan SH (2009). Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Phil Trans. R. Soc. B* 364:2153-2166.
- Viacava F, Bahia L (1999). (Health Services Offering: An Analysis. *Res. Med. Health Care (Ams)*). Available at: http://www.arca.fiocruz.br/xmlui/bitstream/handle/ricct/83/VIACAVA_Oferta%20de%20servi%20c3%a7os_2002.pdf?sequence=3
- Xing C, Marchetti F, Li G, Weldon RH, Kurtovich E, Young S, Schmid TE, Zhang L, Rappaport S, Waldyanatha S, Wyrobek AJ, Eskenazi B (2010). Benzene exposure near the U.S. permissible limit is associated with sperm aneuploidy. *Environ. Health Perspect.* 118(6):833-839.
- Yong M, Blettner M, Emrich K, Nasterlack M, Oberlinner C, Hammer GP (2014). A retrospective cohort study of shift work and risk of incident cancer among German male chemical workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 40(5):502-510.

ARTIGO PRONTO PARA SUBMISSÃO

Estudo da vulnerabilidade dos moradores de Campos Elíseos, Baixada Fluminense- RJ.

Study of the vulnerability of Campos Elíseos residents, Baixada Fluminense - RJ.

Cristiane Barata-Silva¹, Caroline de Lima Mota¹, Adriane Branco², Simone Mitri¹, Josino Costa Moreira¹.

1 Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana -Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz (CESTEH/ENSP/FIOCRUZ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

2 Núcleo de Saúde do Trabalhador da Fundação Oswaldo Cruz (NUST/FIOCRUZ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Endereço para correspondência: Cristiane Barata-Silva – Avenida Leopoldo Bulhões, 1480 – Manguinhos – CEP: 21401-210 – Rio de Janeiro (RJ), Brasil – E-mail: cristianebarata@hotmail.com.

Fonte de financiamento: nenhuma.

Conflito de interesse: nada a declarar.

RESUMO

Campos Elíseos, Duque de Caxias, RJ, acomoda o maior complexo industrial da América Latina: a segunda maior petroquímica do país (REDUC), um polo gás-químico, uma usina termelétrica e cerca de 50 outras indústrias. Embora em 2015 o município de Duque de Caxias registrasse o 6º maior PIB no ranking nacional e o 2º maior do Estado, possuía um IDH de 0,753 e o 52º lugar no Estado. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a vulnerabilidade dos moradores desta região frente à exposição ambiental por contaminantes químicos e a carência de políticas públicas em saúde. O grupo de estudo foi formado por 190 adultos residentes em Campos Elíseos que realizaram hemogramas para avaliações clínicas. Todos os participantes declararam não terem acesso à água tratada, nem a saneamento básico. 33% apresentaram alterações hematológicas características de certas patologias, dos quais a maioria das casas localizava-se no entorno indústrias. Apesar de Duque de Caxias ser um município com elevada arrecadação tributária, investimentos básicos em Campos Elíseos não têm sido realizados, o que pode potencializar a condição de vulnerabilidade da população residente já exposta à contaminação ambiental proveniente das indústrias da região e aos consequentes agravos à saúde s resultantes.

Palavras-chave: Vulnerabilidade em Saúde; Saúde pública; Exposição Ambiental; Indústria Petroquímica.

ABSTRACT

Campos Elíseos, Duque de Caxias, RJ, accommodates the largest industrial complex in Latin America, the second largest petrochemical company in the country (REDUC), a gas-chemical pole, a thermoelectric plant and about 50 other industries. Although in 2015 the Duque de Caxias municipality registered the 6th highest GDP in the national ranking and the 2nd highest in the state, it had an HDI of 0.753, 52nd in the state. The aim of the present study was to evaluate the vulnerability of residents in this region, especially those related to

environmental exposure by chemical contaminants. The study group was formed by adults who lived in Campos Elíseos for at least 3 months and comprised 190 residents who volunteered blood for clinical evaluations. All participants stated that they had no access to treated water or basic sanitation. About 98% of the participants stated that the region is polluted. Regarding the hemograms, 33% presented characteristic alterations of certain pathologies. Most of the houses of individuals with hematological alterations were located in a region surrounded by industries. Although Duque de Caxias is a municipality with high tax revenues, basic investments at Campos Elíseos are carried out, exposing the resident population to environmental contamination and consequent health problems.

Key-words: Vulnerability in Health; Public health; Environmental Exposure; Petrochemical industry.

INTRODUÇÃO

A exposição a substâncias químicas atualmente ocupa uma posição de destaque devido ao fato do crescente número de registro de patologias a ela relacionadas, no sistema público de saúde. Sendo assim, o presente cenário se configura como uma questão preocupante para a Saúde Pública¹.

A presença de xenobióticos no ambiente é a principal via de exposição da população em geral, visto que tais substâncias se fazem presentes no ar, nos alimentos e na água utilizada rotineiramente²⁻⁴. A concentração atmosférica dos contaminantes varia conforme a localização de suas potenciais fontes emissoras, ou seja, locais próximos ou com aglomeração de várias fontes, tanto as pontuais como as difusas, apresentam concentrações mais elevadas⁵⁻⁷. Sendo assim, os moradores que residem ou trabalham no entorno destes ambientes, como os das indústrias químicas, de postos de gasolinas, rodovias com alto fluxo de veículos, oficinas mecânicas e de exploração petrolífera estão sujeitos a uma exposição ambiental com concentrações mais elevadas de contaminantes^{8,9}.

A região de Campos Elíseos, situado no município de Duque de Caxias, Baixada Fluminense do Estado do Rio de Janeiro (Figura 1), acomoda o Polo Industrial de Campos Elíseos (PICE), maior complexo industrial da América Latina composto pela segunda maior petroquímica do país (REDUC), um polo gás-químico, uma usina termelétrica e cerca de 50 outras indústrias. Os principais segmentos industriais localizados nesta região são o químico, o petroquímico, o metalúrgico, o gás e o plástico, o que mostra a grande diversidade de produtos e insumos produzidos/consumidos, destacando o benzeno como produto e insumo utilizado no processo produtivo das diferentes indústrias¹⁰.

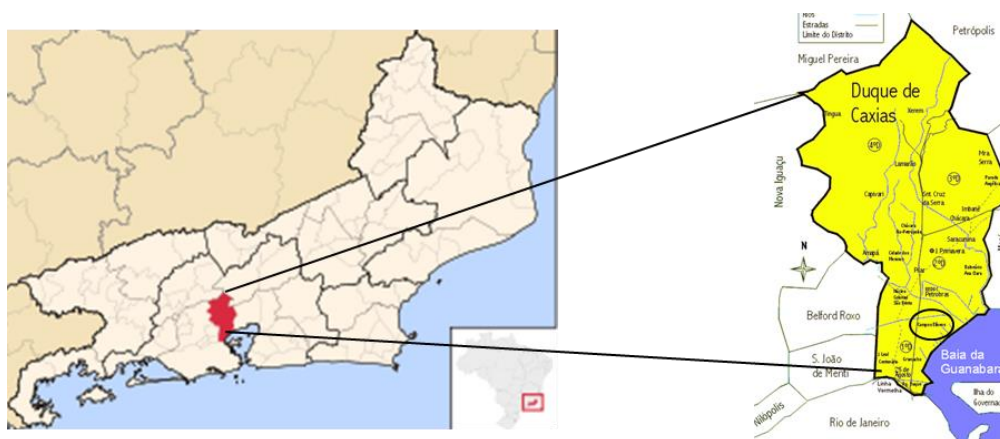


Figura 1. Mapa representativo do Estado do Rio de Janeiro. Em destaque o mapa de Duque de Caxias e, a região circulada, Campos Elíseos.

Este pólo possui 26 empresas petroquímicas, transformadoras e termoeletricas e é o segundo pólo industrial da Região Metropolitana e do Estado do Rio de Janeiro, respondendo por 27,1% do valor da produção estadual, sediando aproximadamente 5,2% das empresas do estado e cerca de 7% das empresas da Região Metropolitana. Com o custo de US\$ 1,08 bilhão, o pólo pode produzir anualmente 540 mil toneladas de polietilenos, dentre outros produtos e sua implantação está trazendo empresas transformadoras de plástico para a cidade e toda a região¹⁰.

Em torno da REDUC (produção de combustíveis, nafta, GPL, etc.), surgiu uma série de indústrias químicas, algumas de grande porte e associadas à refinaria como a PETROFLEX, NITRIFLEX, e outras independentes, além de um conjunto de médias e pequenas empresas produtoras de resinas, tintas, velas, parafinas e outros produtos químicos¹⁰.

Atualmente também é possível observar que alguns segmentos industriais vêm ganhando importância, como é o caso das confecções, indústria moveleira e a de alimentos, de tal forma que se pode considerar que, com exceção do complexo da Petrobrás, o parque industrial de Duque de Caxias é formado por médias e pequenas empresas¹⁰.

Além da poluição originada do PICE, Campos Elíseos ainda sofre a de origem veicular por estar localizado às margens do trecho fluminense da rodovia BR-040 com movimento de cerca de 15.000 veículos/dia¹¹. De acordo com o Projeto APELL-CE, Campos Elíseos situa-se na área de maior vulnerabilidade em caso de acidente industrial no PICE, dentro do perímetro que requer o deslocamento da população residente (Figura 2).

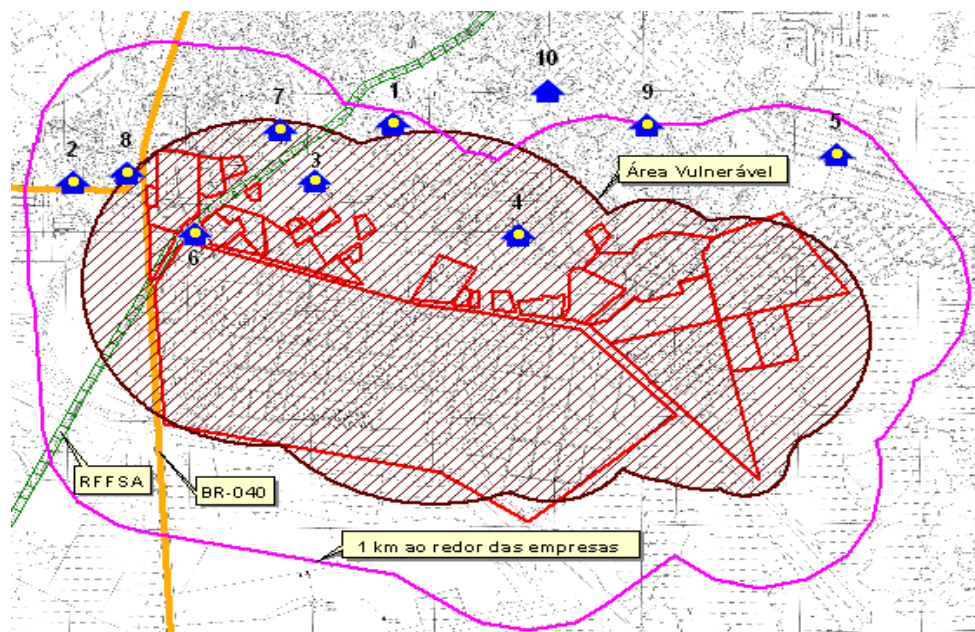


Figura 2. Delimitação gráfica da área de maior vulnerabilidade a acidentes industriais do PICE e localidades circunvizinhas¹². 1.Marilândia; 2. Pilar; 3. Centro de Campos Elíseos; 4. Saraiva; 5. Ana Clara; 6.Vila Serafim; 7. Parque Império; 8. Nosso Bar; 9. Bom Retiro; 10. Parque Moderno.

Embora Duque de Caxias, no ano de 2015, registrasse o sexto maior PIB no ranking nacional e o segundo maior do Estado, possuía um IDH de 0,753, o 52º lugar no Estado e o terceiro pior dentre os municípios vizinhos. Outros indicadores sugerem que as condições de vida são bastante desfavoráveis em todas as áreas do Município¹³.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a vulnerabilidade quanto à carência de serviços básicos de saúde e à exposição ambiental por contaminantes químicos em moradores da área sob influência do Pólo Industrial na região de Campos Elíseos, Baixada Fluminense- RJ.

METODOLOGIA

O desenho utilizado para o estudo é o observacional do tipo descritivo exploratório, com a descrição da população residente na proximidade das indústrias petroquímicas. O tipo de amostragem adotada para a realização deste trabalho foi a amostragem por conveniência. Este estudo foi realizado no Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) e obteve aprovação pelo Comitê de Ética da ENSP (Parecer nº 971.927, CAAE: 40514415.0.0000.5240).

O grupo de estudo foi formado por indivíduos que residiam até 1000 metros de distância do pólo petroquímico na região de Campos Elíseos. Este foi composto por adultos de idade igual ou superior a 18 anos, de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias e etnias e que residiam em Campos Elíseos há pelo menos 3 meses.

Os moradores que concordaram em participar da pesquisa /estudo assinaram o termo de consentimento, conforme exigência do Ministério da Saúde, Resolução N° 466/2012¹⁴ sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

No primeiro momento, o morador respondeu um questionário semi estruturado com objetivo de caracterizar a exposição e obter informações relativas a aos hábitos alimentares, rotina diária, condições de moradia, histórico de saúde e doença, dentre outras. Foram levantadas também, informações para identificação de fatores de confundimento do estudo. Os dados coletados foram analisados a fim de investigar possíveis associações exposição-desfecho; e por fim, caracterizar o risco ao qual estes moradores estão submetidos no ambiente em que habitam.

As amostras sanguíneas, foram coletadas em tubos à vácuo com anticoagulante, em uma alíquota de aproximadamente 4 mL de sangue para cada participante e o hemograma foi realizado no Laboratório de Diagnóstico, Ensino e Pesquisa (LADEP) do Centro de Saúde Escola Germano Sinval Faria (CSEGSF).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população recrutada e incluída no estudo foi formada pelos moradores que se voluntariaram, responderam ao questionário e forneceram amostra de sangue para análise, totalizando um tamanho amostral de 190 indivíduos. Ao final, 194 moradores da região se voluntariaram para participar, porém 4 indivíduos não tiveram amostra sanguínea satisfatória para a realização da análise. Logo, o presente trabalho teve um tamanho amostral de 190 pessoas.

Perfil da população

Ao traçar um perfil quanto ao gênero e idade da população avaliada, foi possível observar a predominância feminina na participação do estudo (72%). Ao analisar a idade da população alvo, observou-se que a média foi de 55 anos com variação de 20 a 86 anos. A Figura 3 representa graficamente a distribuição etária desta população.

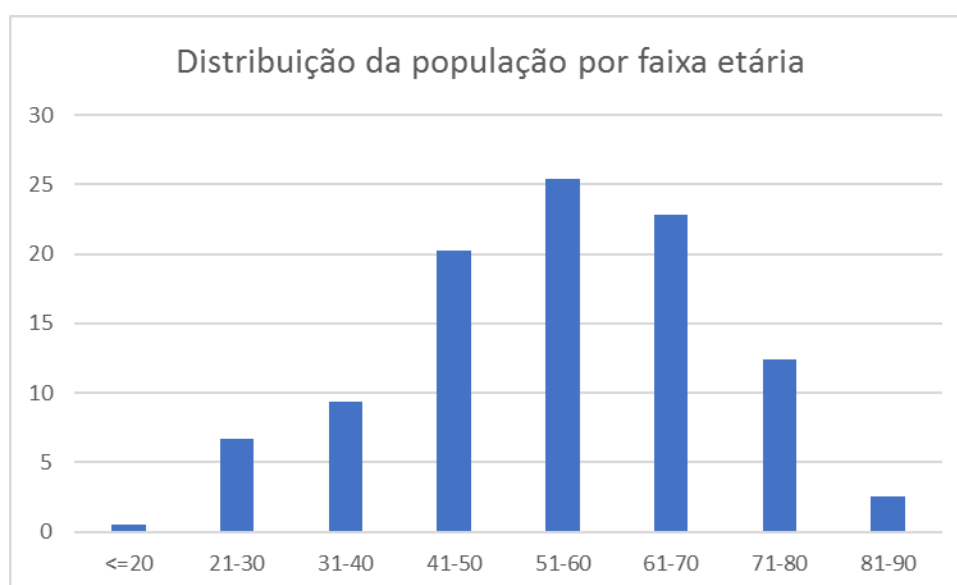


FIGURA 3. Representação gráfica da distribuição da população alvo em faixas etárias.

A classificação de cada indivíduo na variável etnia foi realizada no momento da entrevista por auto-declaração do participante. Observou-se que a maioria (47%) se declarou Parda e que cerca de 4% não souberam ou não quiseram se classificar em uma das categorias apresentadas.

Durante a realização deste trabalho, foi relatado pelos moradores que o distrito de Campos Elíseos não possuía número de escolas públicas suficientes para atender toda a população e que o acesso ao ensino profissionalizante era inexistente. Sendo assim, para ter acesso à educação, os moradores têm que se deslocar para outras regiões com disponibilidade de vagas ou ingressar no sistema privado de educação.

Apesar dessa dificuldade, cerca de 38% dos entrevistados declararam ter cursado ou estarem cursando o Ensino Médio e apenas 6% se classificou como analfabeto funcional ou sem alfabetização. Ao comparar esse valor com a porcentagem de analfabetismo nacional, observa-se que Campos Elíseos apresenta índice menor que a população brasileira no geral, para a qual, segundo o MEC, é de cerca de 9%¹⁵. Em relação ao ensino superior, apenas 9% teve ou tem acesso a essa etapa da educação, o que pode estar relacionado com a carência de instituição básica de ensino com qualidade que permita o acesso dos alunos egressos de instituições públicas em universidades.

Em relação à ocupação, cerca de 64% da população avaliada encontra-se sem trabalho, sendo uma pequena parcela desses formada por aposentados, mas a maioria desempregados. Ao questionar a ocupação anterior, nos casos que se declararam desempregados, foi observado que diversos indivíduos trabalhavam no pólo petroquímico da região e devido à crise econômica, redução de gastos e carência de qualificação perderam seus empregos, e até o momento do estudo ainda não tinham conseguido uma recolocação no mercado de trabalho.

A avaliação das condições sócio econômicas foi realizada com análise de um conjunto de variáveis, como renda familiar, tipo e constituição estrutural da moradia, número de moradores e de cômodos em cada residência.

A renda familiar desta população foi, em média, menor ou igual a R\$ 1760,00, o que representa dois salários mínimos. Sendo que na maioria das vezes a única fonte de renda da residência era oriunda da aposentadoria do patriarca/matriarca ou de auxílio fornecido pelo governo nos casos de desemprego e programas sociais. Segundo relatado por 33% dos participantes, a média de moradores de cada residência sustentado por tal renda era de quatro pessoas.

Em relação ao número de cômodos existentes em cada moradia, foi observado que cerca de 55% declararam que em sua residência tinha de 6 a 10 cômodos, incluindo nessa contagem cozinha, banheiro, quarto e sala. Quando se realizou o cálculo da densidade de moradores por cômodos, verificou-se que a maioria dos domicílios possuía até 0,5 moradores por cômodos. Este dado foi concordante com o obtido no CENSO 2010 para o Estado do Rio de Janeiro, para a região da Baixada Fluminense e para o município de Duque de Caxias¹⁶.

Quanto à constituição estrutural das residências, cerca 100% dos entrevistados descreveram sua moradia como sendo de alvenaria e cerca de 90% disseram morar em casa própria. Apesar de se tratar de uma região carente, que sofre com restrições de diversos serviços de urbanização, não foram observadas casas construídas precariamente com restos de madeira ou papelão.

Durante a aplicação dos questionários, diversos relatos foram obtidos quanto a atuação do poder público na qualidade de vida desses moradores. Foi observado que tanto a energia elétrica quanto a coleta pública de lixo se faz presente na totalidade das residências dos participantes. Ao contrário deste cenário, o fornecimento de água pela empresa responsável por tal serviço, CEDAE, é ausente. Como alternativa, a população buscou acesso à água

através da construção de poços artesianos ou por conexão direta às tubulações contendo água destinada ao resfriamento das caldeiras da REDUC/ PETROBRAS.

A origem da água consumida pelos moradores de Campos Elíseos traz um agravante sobre a vulnerabilidade desta população, uma vez que a água de resfriamento de caldeira e de poços artesianos possuem características físico, químicas e biológicas que as tornam impróprias para o consumo humano^{17,18}. Segundo AYACH e colaboradores (2012)¹⁹, uma grave consequência do consumo deste tipo de água não tratada, pela ingestão direta ou para cozimento dos alimentos e banho, é o aumento da incidência de doenças relacionadas à veiculação hídrica que, juntamente com a ausência de saneamento básico, se torna um problema de saúde pública, geralmente negligenciado pelo poder público.

No questionário abordamos o estado de saúde atual e do ano anterior de cada participante sob a forma de auto declaração e sem a comprovação da existência da patologia. Cerca de 66% dos moradores declararam ter algum tipo de problema de saúde no momento, sendo a hipertensão, diabetes e alterações tireodianas, as mais citadas. Quanto ao adoecimento referente ao ano anterior (relativo ao ano de 2015), cerca de 62% reportaram a ausência de morbidades relevantes.

Um relato pertinente dos participantes foi a dificuldade de acesso ao sistema público de saúde, pois, segundo eles, o posto de saúde do distrito encontra-se carente de atendimento médico e de instrumentos para realização de exames, sendo muito extensa a fila de espera para obtenção de qualquer tipo de atendimento e serviço. Por conta disso, uma alternativa encontrada pelos moradores de Campos Elíseos foi a busca de tais serviços em outras localidades, como por exemplo, em Jardim Primavera. Mas, além do desgaste pelo deslocamento da população e da sobrecarga na capacidade de atendimento prestado pela região que acolhe esses pacientes, é possível inferir que a estatística de morbidade de cada

distrito se torne desproporcional, podendo ocasionar a má interpretação da origem e distribuição da doença quando se estrutura uma política de atuação em saúde.

Alguns hábitos sociais descritos na literatura como relevantes para a avaliação da exposição a substâncias químicas foram contemplados na construção do questionário, como o caso do consumo de entorpecente, álcool e fumo de tabaco.

Cerca de 100% dos participantes relataram não fazer uso de substâncias entorpecentes, porém o consumo de álcool de forma ocasional e eventual foi relatado pela maioria dos participantes (69%). Quanto ao fumo de tabaco, cerca de 91% dos entrevistados afirmaram não possuir este hábito, mas 54% relataram conviver ou já ter convivido com fumantes em suas residências.

Quanto ao uso de produtos químicos suspeitos de causar danos à saúde no interior das residências, cerca de 57% dos participantes declararam que não utilizavam tais substâncias em sua rotina domiciliar. Porém 30% dos participantes afirmaram já ter apresentado alguma reação adversa após o uso de produtos químicos para limpeza de casa, seja dermatite por contato ou até formas de alergias mais severas.

A percepção individual sobre a poluição na cidade foi incluída no estudo apesar desta ser uma variável subjetiva. Porém, a concordância na existência de poluição ocorreu em cerca de 98% dos moradores de Campos Elíseos. Sendo que, 79% afirmou que já sentiu ou sente algum mal estar relacionado a odor desagradável presente no ambiente e que na maioria dos casos o dor relatado se fazia presente constantemente e era similar a gases.

Na tentativa de conhecer o cenário de exposição a substâncias químicas presente nas moradias de Campos Elíseos, o presente estudo abordou na entrevista questões sobre o número de janelas e portas que cada moradia tem, além da frequência de abertura e por quanto tempo as mesmas permanecem abertas. Tais informações se tornam relevantes para o conhecimento da possibilidade de circulação de xenobiótico e/ou da concentração deste no

microambiente de cada residência, aumentando ou diminuindo a quantidade destes toxicantes que pode ser inalada²⁰.

Os relatos revelaram que, em torno de 78% dos participantes declararam que em sua moradia tinha de 4 a 10 janelas e portas e que estas eram abertas todos os dias em 90% das residências. Em relação ao tempo em que estas permaneciam abertas, foi descrito que na maioria das casas, estas ficavam abertas de 10 a 14 horas por dia, sendo fechadas apenas quando os moradores saíam de casa. Sendo assim, é possível inferir que havia uma grande circulação de ar na maioria das moradias. Este fato pode aumentar a exposição à substâncias tóxicas cuja fonte se localize fora da residência, como as provenientes das indústrias petroquímicas, que fazem elevado despejo dessas substâncias no ar. Por outro lado, a facilitação da ventilação pode minimizar a exposição a substâncias de fonte interna a residência, como fumaça de forno a lenha e de cigarro.

A fumaça proveniente de fogão à lenha, não se mostrou relevante, uma vez que 100% dos participantes afirmaram fazer uso de apenas de fogão a gás. Entretanto, em relação ao fumo, como dito anteriormente, 9% relataram ter este hábito e, cerca de 60% convive ou já conviveu com familiares que fumavam em suas residências, fato que pode contribuir para a exposição a substâncias químicas, considerando que o cigarro é uma das principais fontes de exposição ambiental a compostos tóxicos.

Análise das amostras biológicas

As amostras de sangue coletadas dos participantes foram encaminhadas ao laboratório de análises clínicas para a realização do hemograma completo, constando os seguintes parâmetros: Hemácias, Hemoglobina, Hematócrito, V.C.M (Volume Corpuscular Médio), H.C.M (Hemoglobina Corpuscular Média), C.H.C.M (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), R.D.W (“Red Cell Distribution Width”), Leucócitos, Promielócitos,

Mielócitos, Metamielócitos, Bastonetes, Segmentados, Eosinófilos, Basófilos, Monócitos, Linfócitos, Blastos e Plaquetas.

Os participantes que apresentaram alterações no hemograma consideradas relevantes foram encaminhados para atendimento médico no Centro de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) para investigação clínica com objetivo de identificar morbidades relacionadas às alterações encontradas e tratá-las.

Os resultados mostraram que aproximadamente 33% apresentaram alterações características de algumas patologias, dentre essas a mais frequente foi a anemia seguida por plaquetopenia, como mostrado na Tabela 1.

TABELA 1. Distribuição das alterações nos participantes que apresentaram valores fora da faixa de normalidade

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS	%
Desidratação	2
Eosinofilia	13
Plaquetopenia e Anemia	3
Anemia	41
Plaquetopenia	17
Plaquetopenia e Eosinofilia	2
Leucocitose	2
Leucocitose e Neutrofilia	3
Leucopenia	6
Leucopenia e Neutropenia	11
TOTAL	100

As alterações hematológicas observadas neste estudo podem ser interpretadas como um sugestivo de exposição crônica ao benzeno, uma vez que os mais frequentes achados no sangue periférico desta população, como a anemia, plaquetopenia e a leucopenia isolada ou associada à neutropenia, condizem com o descrito na literatura como principais alterações hematológicas observadas na exposição ao benzeno, mesmo em níveis baixos de exposição²¹⁻²⁷. Entretanto, devido à natureza multicausal dessas alterações, para o estabelecimento de uma relação de causalidade com a exposição ao benzeno, seriam necessárias investigações mais completas do quadro clínico e laboratorial dos participantes, nas quais se busca um conjunto de sinais e sintomas relacionados à intoxicação pelo benzeno, em indivíduos expostos, conforme preconizado pelos protocolos de diagnóstico do benzenismo²⁸. Toda e qualquer alteração hematológica em pessoas expostas ao benzeno devem ser valorizadas e investigadas^{21,28}.

As alterações hematológicas observadas neste estudo são semelhantes aos achados de outros trabalhos reportados na literatura, os quais também observaram decréscimos na contagem de células brancas, eritrócitos e plaquetas dentre outros parâmetros hematológicos em trabalhadores expostos a baixos níveis de benzeno (1 mg L^{-1})^{3,25,29,30}.

Outro achado relevante nos hemogramas dos moradores de Campos Elíseos foi o quantitativo de participantes com eosinofilia (13%), que é identificada pelo aumento dos eosinófilos no sangue periférico. A literatura descreve que essa alteração hematológica pode ser observada tanto em indivíduos que tem diagnóstico de asma e doenças alérgicas quanto nas parasitoses como ascaridíase. Na asma, os eosinófilos participam da fisiopatogênese da doença e na ascaridíase a função dessas células é de combater o parasita³¹.

Esta relação da eosinofilia e tais patologias corrobora com o relato dos participantes, quando questionados sobre seu estado de saúde, onde a grande maioria se queixou-se do acometimento por doenças alérgicas e pulmonares, como a asma. Além disso, como já

mencionado anteriormente, a região estudada de Campos Elíseos não possui acesso a água tratada, consumindo assim água de procedências cuja a qualidade microbiológica não está de acordo com os padrões estabelecidos para o consumo humano, podendo, assim, conter apresentar diversos parasitas capazes de gerar adoecimento da população.

Os endereços de todos os participantes foram plotados no mapa de Campos Elíseos, no qual se pode observar que a distribuição das residências dos moradores ocorria de forma aleatória e que o presente estudo tinha contemplado toda a região proposta. É importante ressaltar que a localização das residências dos participantes deste estudo é compreendida ao longo de todo o distrito de Campos Elíseos e há alguns endereços pertencentes a Jardim Primavera, que pela proximidade (até 1000 metros de distância do pólo petroquímico na região de Campos Elíseos) foram incluídos.

Os endereços dos moradores que apresentaram alterações hematológicas foram selecionados e maior atenção foi dada à circunvizinhança dessas residências com o objetivo de avaliar a tendência de dispersão dessas moradias, bem como a proximidade com indústrias, conforme mostrado na Figura 4.

assim um conglomerado. Ao buscar o perfil da vizinhança desta região, verificamos que em quase todo o seu entorno existem diversas indústrias de grande porte com processamento e armazenamento de derivados de petróleo e indústrias de menor porte que em alguns casos funcionam de forma ilegal.

Desta forma, seja qual for a direção do vento que carrega os contaminantes químicos, essa região é a mais impactada, uma vez que a fonte poluidora encontra-se em seu entorno, formando um cinturão de indústrias. Adicionalmente, deve-se considerar a carga de poluição de cada indústria que quando somadas possuem uma alta concentração de poluentes que podem gerar malefícios para a saúde dos moradores da região, como observado nesse estudo.

Há na literatura estudos que avaliam os desfechos em saúde frente à exposição a contaminantes químicos, como a hematotoxicidade na população em geral ou especificamente em populações residentes nas adjacências de regiões sob influências de indústrias petroquímicas ou regiões com alto fluxo de veículos ou ainda próximo a postos de abastecimentos de combustíveis, as quais, teoricamente, apresentam maiores níveis de exposição. Porém, são ainda insuficientes frente à dimensão do problema, e, dentre os encontrados, a grande maioria avaliou outros biomarcadores e não os parâmetros hematológicos, como o caso do estudo realizado por Fustinoni e colaboradores (2012)³⁰.

O estudo realizado por Pelallo-Martínez e colaboradores (2014)³² avaliou crianças que residiam em áreas sob influência de indústrias petroquímicas do México e observou que a distância entre a moradia e estas tinham relação com as alterações nos valores de hemoglobina, hematócrito e contagem de glóbulos brancos, mesmo em baixos níveis de exposição ao benzeno. Já no estudo de revisão realizado pelo Bahadar e colaboradores (2014)³³ essas alterações hematológicas são descritas como efeitos comuns em uma ampla faixa de exposição ao benzeno.

Johnson e colaboradores (2007)⁹ realizaram uma revisão no qual compilaram e avaliaram diversos estudos que analisavam biomarcadores distintos e com faixa de concentração de exposição ampla na população em geral, incluindo crianças não expostas ocupacionalmente. Ao final do trabalho, os autores concluíram que existem evidências suficientes de que a exposição ao benzeno gera diversas alterações em saúde, inclusive modificações hematológicas, desde o mais baixo nível de exposição. Porém, uma consideração importante levantada pelos autores foi de que há a necessidade de maiores investigações de parâmetros de suscetibilidade, como por exemplo, os polimorfismos metabólicos, para entender como cada indivíduo gera uma resposta distinta para a mesma exposição, e assim estabelecer a relação exposição e desfecho em diferentes populações.

CONCLUSÃO

Apesar da elevada arrecadação tributária existente em Duque de Caxias, a política de investimento em serviços básicos para o distrito de Campos Elíseos não é priorizado na gestão pública. Os moradores sofrem com a ausência de recursos primários para a sobrevivência, como o acesso à água com qualidade satisfatória para o consumo humano ou a atendimento médico primário. Além disso, essa região possui uma elevada concentração de indústrias reconhecidamente poluidoras que em seu processo produtivo utilizam e/ou geram produtos com elevado potencial poluidor, expondo a população residente a contaminação ambiental e aos agravos à saúde dela resultantes.

Corroborando com esta afirmativa, o presente estudo permitiu observar o perfil da população residente de Campos Elíseos e as alterações hematológicas existentes nos participantes, assim como a localização de suas moradias. Porém, não é possível atribuir somente a exposição a substâncias químicas a responsabilidade nas modificações dos

parâmetros hematológicos, uma vez que este é o resultado da soma de diversas causalidades, como carga de exposição e suscetibilidade genética.

Sendo assim, a realização de novos estudos que busquem o conhecimento e a quantificação das diversas variáveis que consolide a relação entre a exposição química e ao aparecimento dos diversos desfechos em saúde se faz necessário em estudos futuros. Com o presente trabalho, é possível presumir que há uma real vulnerabilidade à exposição ambiental por contaminantes químicos em moradores de Campos Elíseos e que os agravos em saúde já são perceptíveis, desde o aparecimento de doenças, até em leves alterações em exames clínicos não específicos para estabelecer relação direta entre causa e efeito, como o hemograma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO AEO. Avaliação da genotoxicidade dos gases derivados do petróleo em trabalhadores expostos ocupacionalmente em ambientes fechados. [dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília; 2008.
2. ARNOLD SM, ANGERER J, BOOGAARD PJ, HUGHES MF, O'LONE RB, ROBISON SH, SCHNATTER AR. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessment: benzene case study. *Crit Rev Toxicol.* 2013; 43(2): 119– 53.
3. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological profile for benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, GA, USA. 2007
4. OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo. Ed. Atheneu 3ª Edição, 2005.

5. TOVALIN-AHUMADA H, WHITEHEAD L. Personal exposures to volatile organic compounds among outdoor and indoor workers in two Mexican cities. *Sci Total Environ.* 2007; 376: 60–71.
6. WALLACE L. Environmental exposure to benzene: an update. *Environ Health Perspect.* 1996; 104(6): 1129-36.
7. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Benzene. Monograph Evaluation Carcinogenic Risk Chemical Human. 1989; 45: 159-218.
8. DOUGHERTY D, GARTE S, BARCOWSKY A, ZMUDA J, TAIOLI E. NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure- A literature review. *Toxicol Lett.* 2008; 182: 7-17.
9. JOHNSON ES, LANGARD S, LIN YU-S. A critique of benzene exposure in the general population. *Sci Total Environ.* 2007; 374: 183- 98.
10. <http://portal.baixadaon.com.br/duque-de-caxias/historia-de-duque-de-caxias-rj>.
Acessado em 03/12/13 às 09:45.
11. PIRES DO, Inventário de emissões atmosféricas de fontes estacionárias e sua contribuição para a poluição do ar na região metropolitana do Rio de Janeiro. [dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2005.
12. http://www.apelce.com.br/mapa_area_vulneravel.php. Acessado em 10/11/14 às 11:23.
13. CAMAZ FR, Duque de Caxias-Rio de Janeiro: contradições entre crescimento econômico e desenvolvimento social. *Espaço e Economia.* 2015; 7.
14. BRASIL. Resolução N° 466. Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. 2012.
15. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, 2017. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/component/tags/tag/34167>. Acessado em: 04/03/2017.

16. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/familias_e_domicilios/familias_e_domicilios_tab_munic_xls.shtm). Acessado em: 10/03/2017.
17. COUTO, JMS. Estudos de tratabilidade do efluente da indústria petroquímica com vistas ao reúso.[dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2014.
18. COLVARA, J. G. et al. Avaliação da contaminação de água subterrânea em poços artesanais no sul do Rio Grande do Sul. *Braz. J. Food. Technol. Preprint Series*. 2009;2.
19. AYACH LR, GUIMARÃES STL, CAPPI N, AYACH C. Saúde, saneamento e percepção de riscos ambientais urbanos. *Caderno de Geografia*. 2012; 22 (37): 47-64.
20. FONTES T, BARROS N. Avaliação da exposição atmosférica do benzeno na área metropolitana do Porto. *Revista da Faculdade de Ciência e Tecnologia*. 2009;6: 96-109.
21. MITRI S, FONSECA AS, OTERO UB, TABALIPA MM, MOREIRA JC, SARCINELLI PN. Metabolic polymorphisms and clinical findings related to benzenepoisoning detected in exposed Brazilian gas-station workers. *Int J Env Res Pub Health*. 2015; 12(7): 8434-47.
22. MANUELA C, FRANCESCO T, TIZIANA C, ASSUNTA C, LARA S, NADIA N, GIORGIA A, BARBARA S, MARIA F, CARLOTTA C, VALERIA DG, PIA SM, GIANFRANCO T, ANGELA S. Environmental and biological monitoring of benzene in traffic policemen, police drivers and rural outdoor male workers. *J Env Monitoring*. 2012; 14(6): 1542-50.

23. WANG L, HE X, BI Y, MA Q. Stem cell and benzene-induced malignancy and hematotoxicity. *Chem Res Toxicol*. 2012; 25(7):1303-15.
24. ZHANG GH, YE LL, WANG JW, REN JC, XU XW, FENG NN, ZHOU LF, RU JG, HAO YH, TIAN W, SUN P, AU WW, CHRISTIANI DC, XIA ZL. Effect of polymorphic metabolizing genes on micronucleus frequencies among benzene-exposed shoe workers in China. *Int J Hyg Env Health*. 2014; 217(7): 726-32.
25. YE L, ZHANG G, HUANG J, LI Y, ZHENG G, ZHANG D, ZHOU L, TAO X, ZHANG J, YE Y, SUN P, FRANK A, XIA Z. Are polymorphisms in metabolism protective or a risk for reduced white blood cell counts in a Chinese population with low occupational benzene exposures? *Int J Occup Environ Health* . 2015; 21(3).
26. RUIZ MA, AUGUSTO LG, VASSALLO J, VIGORITO AC, LORAND-METZE I, SOUZA CA. Bone marrow morphology in patients with neutropenia due to chronic exposure to organic solvents (benzene): Early lesions. *Pathol Res Pract*. 1994; 190(2); 151-54.
27. D'ALASCIO RG, MENEGALI M, BORNELLI AS, MAGAJEWSKIET F. Sintomas relacionados à exposição ocupacional ao benzeno e hábitos ocupacionais em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis a varejo na região sul de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*. 2014; 12(1): 21-9.
28. BRASL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Risco Químico: Atenção à Saúde dos Trabalhadores Expostos ao Benzeno. Saúde do trabalhador, Protocolos de Complexidades Diferenciadas, Série A Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2006.
29. LAN Q, ZHANG L, LI G, VERMEULEN R, WEINBERG RS, DOSEMEDI M, RAPPAPORT SM, SHEN M, ALTER BP, WU Y, KOPP W, WAIDYANATHA S, RABKIN C, GUO W, CHANOCK S, HAYES RB, LINET M, KIM S, YIN S,

- ROTHMAN N, SMIYH MT. Hematotoxicity in Workers Exposed to Low Levels of Benzene. *Science*. 2004; 306: 1774- 6.
30. FUSTINONI S, CAMPO L, SATTA G, CAMPAGNA M, IBBA A, TOCCO MG, ATZERI S, AVATANEO G, FLORE C, MELONI M, BERTAZZI PA, COCCO P. Environmental and lifestyle factors affect benzene uptake biomonitoring of residents near a petrochemical plant. *Env Int*. 2012; 39: 2-7.
31. RIBEIRO, HCDN. Desvendando a resposta dos eosinófilos, dos neutrófilos e dos monócitos nas parasitoses intestinais, na asma e na associação de ambas em crianças. [dissertação]. Brasília; Universidade de Brasília. 2015.
32. PELALLO-MARTÍNEZ NA, BATRES-ESQUIVEL L, CARRIZALES-YÁÑEZ L, DÍAZ-BARRIGA FM. Genotoxic and Hematological Effects in Children Exposed to a Chemical Mixture in a Petrochemical Area in Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2014;67(1):1-8.
33. BAHADAR H, MOSTAFALOU S, ABDOLLAHI M. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: A global concern. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;276(2): 83-94.

Desafios ao controle da qualidade de medicamentos no Brasil

Challenges to the drug quality control in Brazil

Cristiane Barata-Silva¹, Rachel Ann Hauser-Davis²,
André Luiz Oliveira da Silva^{3,4}, Josino Costa Moreira⁵

Resumo

Introdução: O desenvolvimento científico e tecnológico, assim como a adoção de políticas públicas voltadas à redução do custo dos medicamentos, tem ampliado o acesso da população a alternativas terapêuticas, as quais incluem medicamentos genéricos, biossimilares, nanomedicamentos e complexos não biológicos. As categorias já comercializadas exigem procedimentos próprios para a garantia de sua qualidade, eficácia terapêutica e segurança. Nesse contexto, o presente estudo procura realizar uma avaliação do cenário atual no Brasil sobre esse tema, apontando para situações que certamente terão de ser enfrentadas em um futuro próximo. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento de dados nas bases eletrônicas MEDLINE, PubMed e SCIELO, buscando artigos originais, tanto em português quanto em inglês, indexados retrospectivamente até 1999. Foram utilizados termos de busca relevantes em língua portuguesa e inglesa. Mais de 50 artigos científicos foram encontrados. **Resultados e Discussão:** A maioria dos artigos avaliados aponta problemas tanto na fabricação quanto no controle de medicamentos genéricos e biossimilares, seja no mercado internacional, seja no nacional. No entanto, novas formas medicamentosas estão sendo criadas e necessitam do desenvolvimento de legislação e de metodologias específicas para a garantia da qualidade desses produtos. Uma avaliação do atual sistema brasileiro de registro e controle da qualidade aponta falhas e, especialmente, falta de uma farmacovigilância mais bem estruturada e ativa no país. **Conclusão:** O atual cenário demonstra que os órgãos responsáveis no país necessitam rever a atual sistemática utilizada na fabricação e controle de medicamentos e aprimorá-la, bem como se preparar para o enfrentamento de outras demandas, algumas ainda mais complexas, que já se encontram em desenvolvimento.

Palavras-chave: medicamentos de referência; medicamentos genéricos; medicamentos similares; biossimilares; Vigilância Sanitária.

Abstract

Introduction: Scientific and technological development, as well as the adoption of public policies aiming drugs cost reduction, has broadened the population's access to therapeutic alternatives. These alternatives include generic drugs, biosimilars, nanomedicines and non-biological complexes. Already marketed categories require their own procedures to guarantee their quality, therapeutic efficacy and safety. This article assesses the current Brazilian scenario in this regard, pointing to situations that will surely have to be addressed in a near future. **Methodology:** Data was obtained in the electronic databases MEDLINE, PubMed and SCIELO, searching for original articles, both Portuguese and English, retrospectively indexed back to 1999 using relevant search terms, both in English and in Portuguese. More than 50 scientific articles were found. **Results and Discussion:** Most of the evaluated

ADAPTAÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE DE METEMOGLOBINA COMO BIOMARCADOR DE EFETTO DA EXPOSIÇÃO AO AGROTÓXICO DIFLUBENZURON

Cristiane Barata-Silva^{*,*}, Tatyane P. dos Santos^a, Adherlene V. Gouvêa^b, Ariane L. Larentis^a, Josino C. Moreira^a e Paula N. Sarcinelli^b

^aCentro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Leopoldo Bulhões, 1480, 214041-210 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

^bLaboratório de Alimentos e Contaminantes, Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21040-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 25/09/2014; aceito em 16/01/2015; publicado na web em 23/03/2015

ADAPTATION OF METHOD OF ANALYSIS OF METHEMOGLOBIN AS A BIOMARKER OF EFFECT OF EXPOSURE TO THE PESTICIDE DIFLUBENZURON. This work aimed to adapt the analysis of methemoglobin recommended by Evelyn – Malloy (visible spectrophotometry), in order to facilitate its application in the field, or to analysis in clinical laboratory, of existing sites of diflubenzuron application. The parameters changed included: centrifuge rotation speed; time between the collection of biological sample and analysis, and storage temperature of the samples; and the volume of reagents. The comparison of the rotation speed (rpm) of the reference methodology with the rpm of a “clinical centrifuge” did not reveal a statistically significant difference in the levels of methemoglobin. The time between the collection of biological sample and analysis was extended for a period of up to 48 hours for both conservation by refrigeration and ambient temperature, producing no statistically significant difference when compared to the standard duration of 2 hours. Regarding the reagents, the reference methodology already uses the volume necessary to ensure complete reaction, whereas a wider range from the recommended volume to a 5-fold reduction in comparison to the reference methodology could be used. It was concluded that the proposed changes to the methodology for adapting the analysis are applicable to studies of field / workplace exposure and ensure the reliability of results. The adapted methodology was inter-laboratory validated and the parameters changed can be selected according to the requirements of the laboratory at which the methemoglobin is to be measured.

Keywords: diflubenzuron; methemoglobin; UV-VIS spectrophotometry.

Artigo Original

Exposição ocupacional ao difluobenzuron: avaliação de metemoglobina após a jornada de trabalho dos guardas de endemias atuantes na região do grande Rio de Janeiro

Exposure to difluobenzuron: methemoglobin assessment after work shift of guards endemics operating in the region Rio de Janeiro

Cristiane Barata-Silva¹, Tatyane Pereira dos Santos², Adherlene Vieira Gouvêa³, Ariane Leites Larentis⁴, Josino Costa Moreira⁵, Paula de Novaes Sarcinelli⁶

Resumo

Atualmente, a substância utilizada para o combate do vetor da dengue é o diflubenzuron, um larvicida que possui como principal efeito no ser humano a formação de metemoglobina. A determinação do percentual de metemoglobina (MHb) no sangue permite estabelecer a relação com a exposição ao diflubenzuron, sendo utilizada como indicador de efeito. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a efetividade do uso da MHb como indicador da exposição ao diflubenzuron por meio da determinação de sua concentração no sangue de guardas de endemias atuantes em dois municípios do Estado do Rio de Janeiro. Para a avaliação da MHb, foi utilizado o método de análise preconizado por Evelyn-Malloy, a espectrofotometria no visível $\lambda_{\text{max}}=630$ nm, e as informações complementares foram obtidas por intermédio da aplicação de questionários semiestruturados. Foi observado que a maioria dos trabalhadores não fazia uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) e atuava em condições de trabalho insalubres e sem treinamento adequado. Houve redução de cerca de 0,05% da concentração da MHb após a exposição ao diflubenzuron, com correlação inversa deste indicador de efeito com a variável fumo ($R=-0,742$; $p=0,035$). Dado que a MHb pode ser formada após exposição a diversas substâncias químicas e considerando as dificuldades na logística de execução desta análise, estudos sobre novos biomarcadores mais sensíveis e seletivos são necessários.

Palavras-chave: agente de saúde pública; diflubenzuron; metemoglobina.

Abstract

Currently, the substance used to combat the dengue vector is diflubenzuron, a larvicide which produces methemoglobin (MHb) in humans. During his working process, applicators may be exposed to this substance at different levels, which depend on the care they adopt in handling and application. Knowing the profile of workers is important to characterize the population and assess the risks they face. The determination of the percentage of MHb in the blood allows to establish a relationship with exposure to diflubenzuron, being used as an indicator of effect. The objective of this study was to evaluate the extent to which these factors can affect the exposure of active endemic guards in two municipalities of the

The MAOA VNTR polymorphism and smoking behavior in Brazilian males

Caroline de Lima Mota*, Simone Mitri Nogueira, Cristiane Barata-Silva, Thelma Pavesi and Josino Costa Moreira

Center for Worker Health and Human Ecology, National School of Public Health Sérgio Arouca, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ) - Rio de Janeiro (RJ), Brazil

Abstract

Introduction: Tobacco smoking represents the leading preventable cause of morbidity and mortality in adults. Nicotine is responsible for tobacco addiction and is known to elevate brain dopamine, leading to feelings of pleasure and reward. The MAOA enzyme is responsible for degrading dopamine. It is known that a polymorphism in the promoter region of the MAOA gene has been implicated in smoking behavior. In this study, we investigated the association between the MAOA VNTR polymorphism and smoking behavior in Brazilian males.

Methods: A cross-sectional study was conducted with 121 Brazilian males over 18 years of age. The polymorphism was genotyped using PCR. Multiple logistic regression were used to verify the association of MAOA gene polymorphisms with smoking status.

Results: We not found significant association between the MAOA polymorphism and smoking status. Likewise, no association of the VNTR polymorphism with elements of smoking behavior, such as smoking duration, smoking initiation, relapses, smoking cessation, and degree of nicotine dependence, was observed.

Conclusions: In conclusion, no association was observed between the MAOA polymorphism, smoking status and smoking behavior in population of Brazilian males studied. Further studies with larger sample sizes will be needed to elucidate these issues.

Validação de metodologia QuEChERS-acetato para a análise de multirresíduo de agrotóxicos em amostras de soja e de extrato solúvel de soja utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial

Validation of acetate QuEChERS methodology for pesticides multiresidue analysis in soybean samples and soybean-soluble extract by means of high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry

RIAL6/1588

Adherlene Vieira GOUVÊA¹, Maria Helena Woblers Morelli CARDOSO¹, Lucia Helena Pinto BASTOS¹, Cristiane BARATA SILVA¹, Nina Daddario ORTIZ², Armi Wanderley da NÓBREGA¹, Silvana do Couto JACOB¹

¹Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Alimentos e Contaminantes, Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Av. Brasil, 4365 - Manginhos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 21040-900. E-mail: adherlene.gouvea@incqs.fiocruz.br, adherlene@gmail.com.

²Unidade Proteômica, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química (IQ), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) Recebido: 15.03.2013 - Aceito para publicação: 12.03.2014

RESUMO

Com o aumento da utilização da soja e seus derivados na alimentação humana torna-se importante a avaliação da possibilidade de contaminação desses produtos por resíduos de agrotóxicos. Neste contexto, este estudo efetuou a validação da metodologia QuEChERS-acetato, para análise de 144 resíduos de agrotóxicos em soja e no extrato solúvel de soja por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. Os parâmetros avaliados foram: seletividade (efeito matriz nos dois tipos de amostras), linearidade (faixa de trabalho, significância da regressão e homogeneidade dos resíduos da regressão), exatidão (recuperação), precisão (repetitividade) e limite de detecção e de quantificação. As curvas analíticas apresentaram $R^2 \geq 0,95$ e $r \geq 0,98$ na faixa de trabalho (0,002 a 0,200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). A exatidão e precisão em dois níveis de fortificação das duas matrizes apresentaram valores de 70 a 120 % de recuperação e $\text{CV}(\%) \leq 20$ %, respectivamente. O limite de detecção e de quantificação apresentou resultados satisfatórios. A metodologia validada possibilitou a determinação de 122 substâncias na matriz soja e 124 na matriz de extrato solúvel de soja.

Palavras-chave. soja, agrotóxicos, estudos de validação, cromatografia líquida, espectrometria de massas.

ABSTRACT

The possibility of occurring the soy and soy derivatives samples contamination with pesticide residues has become significant due to the increased use of these products in human nourishment. In this context, the present study aimed at validating the acetate QuEChERS multiresidue methodology for analyzing 144 pesticide residues in soybean samples and soybean soluble extract using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. The parameters evaluated were: selectivity (matrix effect in the two sample types), linearity (working range, regression significance, homogeneity of the regression residues), accuracy (recovery), precision (repeatability) and limits of detection and quantification. The analytical curves presented $R^2 \geq 0.95$ and $r \geq 0.98$ in the working range (0.002 to 0.200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). The accuracy and precision evaluated at two levels of fortification of two matrices presented values of recovery in the 70-120 % range and $\text{CV}(\%) \leq 20$ %, respectively. The limits of detection and quantification showed satisfactory results. The validated methodology allowed to perform the determination of 122 substances in the matrix soybean and 124 in the soluble extract of soybean.

Keywords. soybeans, pesticides, validation studies, chromatography, liquid, mass spectrometry.

Avaliação da contaminação de amostras de soja com resíduos de agrotóxicos pelo método QuEChERS acetato com análise por meio de CLAE-EM/EM

Evaluation of the soy samples contamination with pesticides residues by using QuEChERS acetate methodology and applying LC-MS/MS analysis

RIALA6/1657

Adherlene Vieira GOUVÊA^{1*}, Maria Helena Woblers Morelli CARDOSO¹, Lucia Helena Pinto BASTOS¹, Cristiane BARATA-SILVA², Armi Wanderley da NÓBREGA¹, Silvana do Couto JACOB¹

*Endereço para correspondência: ¹Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Av. Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP: 21040-900. E-mail: adherlene.gouvea@incqs.fiocruz.br; adherlene@gmail.com

²Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Recebido: 21.10.2014 - Aceito para publicação: 08.06.2015

RESUMO

O presente estudo teve por finalidade avaliar a situação atual do consumo de alimentos à base de soja disponíveis no mercado em relação à presença de resíduos de agrotóxicos. A metodologia foi validada para efetuar a determinação de 122 resíduos de pesticida na matriz soja e de 124 substâncias na matriz extrato solúvel de soja. As curvas analíticas estudadas nas duas matrizes apresentaram linearidade na faixa de trabalho analisada (0,002 a 0,200 µg.mL⁻¹). A exatidão e a precisão em dois níveis de fortificação apresentaram valores de 70 % a 119 % de recuperação e de CV (%) de 1 a 18. O Limite de Quantificação (LQ) apresentou resultados satisfatórios (0,005 a 0,215 mg.kg⁻¹ matriz soja e 0,006 a 0,028 mg.kg⁻¹ matriz extrato solúvel de soja) em relação aos Limites Máximos de Resíduo (LMRs) quando existentes. Para realizar o estudo, foram selecionadas 42 amostras de soja e materiais à base de soja. As amostras foram adquiridas, no período de 2011 a 2012, em estabelecimentos comerciais na região metropolitana do Rio de Janeiro. Esta avaliação exploratória de contaminação evidenciou o uso inadequado dos agrotóxicos ciprodinil, pirimifós-metilico, ciazofamida e butóxido de piperonila na soja e de estar em desacordo com a legislação vigente.

Palavras-chave. soja, agrotóxicos, estudo de validação, cromatografia líquida, espectrometria de massas.

ABSTRACT

This study aimed at assessing the current status of the consumption of soy-based foods available at market regarding to the presence of pesticide residues. The methodology was validated for determining 122 pesticides residues in the matrix soybean and 124 in the matrix of soluble soy extract. The analytical curves studied in the two arrays showed linearity in the evaluated zone (0.002 to 0.200 µg.mL⁻¹). The accuracy and precision of two fortification ranges exhibited recovery values of 70 % - 119 %, and CV (%) values from 1 to 18. The limit of quantification (LQ) showed satisfactory results (0.005 to 0.215 mg.kg⁻¹ matrix of soybeans and 0.006 to 0.028 mg.kg⁻¹ matrix of soluble soy extract) regarding to the maximum residue limits (MRLs) when they occur. Forty-two soy and soy-based samples were randomly selected for this study. The samples were acquired in the period from 2011 to 2012 at commercial establishments located in the metropolitan area of Rio de Janeiro. This study evidenced the contamination of soybeans with pesticides residues as cyprodinil, pirimiphos-methyl, cyazofamid, and piperonyl butoxide, indicating their inappropriate use and being noncompliant to the legislation in force.

Keywords. soybeans, pesticides, validation studies, liquid chromatography, mass spectrometry.



Daniel Valente [✉]
 Iubete Campos Costa-Amaral [✉]
 Leandro Vargas Barreto de Carvalho [✉]
 Marcos Vinícius Corrêa dos Santos [✉]
 Vinício Soares de Castro ^{*}
 Daniela del Rosário Flores Rodrigues [✉]
 Anna De Falco [✉]
 Cristiane Barata Silva [✉]
 Simone Mitri Nogueira ^{*}
 Elise Síndes Gonçalves [✉]
 Jovino Costa Moreira ^{*}
 Leiliane Coelho André ^{*}
 Líliane Reis Teixeira ^{*}
 Paula de Novais Sarcinelli [✉]
 Herbert Ary Siverando [✉]
 Monica Stack de Oliveira [✉]
 Jamilya Alessandra Perini [✉]
 Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos [✉]
 Ariane Leites Larentis [✉]

^{*}Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP), Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

[†]Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Departamento de Química, Laboratório de Síntese Orgânica e Química de Coordenação Aplicada a Sistemas Biológicos (LARSO-BIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

[‡]Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Belo Horizonte, MG, Brasil.

[§]Universidade Federal Fluminense (UFF), Centro de Ciências Médicas, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

[¶]Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD), Divisão de Dosimetria Externa, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

^{||}Laboratório de Pesquisa de Ciências Farmacêuticas, Unidade de Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

^{¶¶}Docentes e pós-graduandos no curso de Toxicogenômica do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente da ENSP/Fiocruz (ENSP.90.184.1).

Contato:
 Daniel Valente
 E-mail:
 dvalentebio@gmail.com

Os autores declaram que não há conflitos de interesses e que o trabalho não é baseado em tese e não foi apresentado em reunião científica.

Este artigo recebeu auxílio do Programa Inova-Ensp (Edital 2013 do Programa de Apoio à Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Saúde Pública da FioCruz), do Edital Seduadas FAPERJ Nº12/2013 (Processo E-26/11.732/2013) e da SIVMS (Chamamento Público nº 05/2014 - Iniciativas Educacionais Aplicadas à Vigilância em Saúde da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde).

Recebido: 13/09/2015
 Revisado: 16/03/2016
 Aprovado: 16/03/2016

Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina

Use of genotoxicity biomarkers and gene expression on the evaluation of gas station attendants exposed to gasoline fumes

Resumo

Introdução: a avaliação de uma exposição mensura sua intensidade, frequência e duração, podendo detectar danos precoces que, se ignorados, podem evoluir para um quadro nocivo. Nos campos da saúde ambiental e ocupacional, os biomarcadores de genotoxicidade tem sido largamente utilizados para essa avaliação. **Objetivo:** identificar, descrever e discutir os principais bioindicadores de genotoxicidade e seu uso conjunto com técnicas de avaliação de expressão gênica em estudos de exposição ocupacional ao benzeno em postos de revenda de combustíveis (PRC). **Métodos:** revisão bibliográfica de trabalhos publicados entre 1995 e 2015. **Resultados:** as técnicas identificadas foram: ensaio cometa, estresse oxidativo, micronúcleos, aberrações cromossômicas, polimorfismos, adutos de DNA e proteínas, fatores epigenéticos e expressão gênica. Foi observado que testes de danos genéticos e epigenéticos são utilizados em frentistas de PRC que participam de programas de saúde do trabalhador ou de pesquisas, embora um baixo número de publicações sobre o tema tenha sido identificadas. Esse fato talvez possa ser explicado pelos poucos países onde a profissão persiste e pelas limitações para o desenvolvimento de pesquisas nesses países. **Conclusão:** os bioindicadores de genotoxicidade e as técnicas de expressão gênica são úteis na detecção de dano precoce desta exposição ocupacional e devem ser avaliados em conjunto.

Palavras-chave: estresse oxidativo; expressão gênica; exposição ocupacional; benzeno.

Abstract

Introduction: an exposure evaluation measures its intensity, frequency and duration, detecting premature damage that, if ignored, might develop into a harmful framework. On environmental and occupational health fields, genotoxicity biomarkers have been widely used for this evaluation. **Objective:** to identify, describe and discuss main genotoxicity biomarkers and their use together with gene expression evaluation techniques in studies concerning occupational exposure to benzene in gas stations (GS). **Methods:** bibliographical review of studies published between 1995 and 2015. **Results:** the following techniques were identified: comet assay, oxidative stress, micronuclei, chromosomal aberrations, polymorphisms, DNA and protein adducts, epigenetic factors and gene expression. We observed that genetic and epigenetic damage tests are used in gas station attendants who participate in worker's health programs or in researches, although a short number of publications on the theme have been identified. This can be explained by the small number of countries where such job still exists and by the limitations for developing research in such countries. **Conclusion:** genotoxicity biomarkers and gene expression techniques are useful for detecting the premature damage resulting from this occupational exposure and must be jointly evaluated.

Keywords: oxidative stress; genic expression; occupational exposure; benzene.