



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Thelma Pavesi

Importância toxicológica da exposição a níquel, cobalto e cromo:
a dermatite de contato a metais e a susceptibilidade genética a cromo

Rio de Janeiro

2020

Theлма Pavesi

Importância toxicológica da exposição a níquel, cobalto e cromo:
a dermatite de contato a metais e a susceptibilidade genética a cromo

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 para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Josino Costa Moreira

Coorientadora: Profa. Dra. Sabrina da Silva Santos

Rio de Janeiro

2020

Título do trabalho em inglês: *Toxicological importance of exposure to nickel, cobalt and chromium: contact dermatitis to metals and genetic susceptibility to chromium.*

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

P337i Pavesi, Thelma.
Importância toxicológica da exposição a níquel, cobalto e cromo: a dermatite de contato a metais e a susceptibilidade genética a cromo / Thelma Pavesi. -- 2020.
155 f. : il. color. ; graf. ; tab.

Orientador: Josino Costa Moreira.
Coorientadora: Sabrina da Silva Santos.
Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2020.

1. Metais. 2. Níquel - toxicidade. 3. Exposição Ambiental. 4. Exposição Ocupacional. 5. Dermatite Alérgica de Contato. 6. Cobalto – toxicidade. 7. Cromo - toxicidade. 8. Predisposição Genética para Doença. 9. Susceptibilidade Genética a Cromo.
I. Título.

CDD – 23.ed. – 615.9

Thelma Pavesi

Importância toxicológica da exposição a níquel, cobalto e cromo:
a dermatite de contato a metais e a susceptibilidade genética a cromo

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Aprovada em: 06/05/2020

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carlos Sérgio da Silva

Fundacentro – Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho

Prof. Dr. Volney de Magalhães Câmara

Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fábio Coelho Amendoeira

Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Profª. Dra. Ana Cristina Simões Rosa

Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

Profª. Dra. Sabrina da Silva Santos

Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

Prof. Dr. Josino Costa Moreira (Orientador)

Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca

Rio de Janeiro

2020

Esta tese é dedicada:

*A “Dra. Graça”, por tantos anos
De dedicação à saúde e dignidade
Da pele que outros habitam.*

*A todos aqueles
Que sofrem pela pele que habitam e,
Aos que não tem mais onde habitar
que a própria pele.*

*A Antia de Almodóvar Caballero,
Che sí è “svegliato una mattina”
Perché questo “è il fiore del partigiano”
Grazie per aver resistito!*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Josino Costa Moreira, pela orientação e inúmeros ensinamentos. Em especial pela convivência produtiva dos últimos meses desta tese, como já disse pessoalmente: mil vezes agradecida!

A coordenadora, Profa. Dra. Sabrina da Silva Santos, pelo acolhimento das minhas indagações, pela porta aberta as minhas dúvidas em todos os momentos, pelas suas sugestões no exame de qualificação;

A Profa. Dra. Ana Cristina Simões Rosa pelas sugestões na banca de qualificação, pelo apoio e por todas as suas contribuições;

Ao Hospital da Gamboa e ao Instituto Pós-Graduação Izamar Milidui da Silva (IMS) na figura de seu Diretor Prof. Dr. Sérgio Costa Lima da Silva;

Ao setor de recepção de pacientes do Ambulatório de Dermatologia do Hospital da Gamboa: Ketma Fernandes, Emily, Luana, e todo pessoal da enfermagem;

A Direção da Escola Nacional de Saúde Pública na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Hermano Albuquerque de Castro;

A Coordenação de Pós-Graduação do programa de Saúde Pública e Meio Ambiente, Profa. Dra. Liliane Reis Teixeira; Profa. Dra. Ariane Leites Larentis, Profa. Dra. Andrea Sobral de Almeida e ao Prof. Dr. André Reynaldo Perissé; as gentis senhoras Selma Ribeiro e Márcia Gonçalves;

A secretaria acadêmica: Maria Cecília Gomes Barreira, Lilian Messerschmidt e a Joelma;

A secretaria do CEP ENSP, as senhoras Maria Emília Duarte de Oliveira e Lisania Maria Medeiros;

A Coordenação do Cesteh nas pessoas do Dr. Antônio Sérgio Fonseca, Profa. Dra. Kátia Reis e Prof. Dr. Luiz Claudio Meirelles.

Ao setor de prontuários do ambulatório do Cesteh: Mariza Vieira do Amaral e Manoel Gino Tavares e a Vanessa Elisa Pastor Barroso;

Ao Laboratório de Toxicologia do Cesteh representado pelos seus Chefe de Laboratório: Fernanda Baptista, Leandro Carvalho, Dr. Renato Borges;

Ao Prof. Dr. José Marcus Godoy, Dr. Rodrigo Gonçalves, Douglas Felipe Sartorius e ;

Aos colegas do Cesteh e do Laboratório pela convivência e amizade;

A todos os pacientes, que em consequências das dermatoses, por vezes carregam feridas internas, e as vezes, a alma à flor da pele.

I've got you under my skin.
I've got you deep in the heart of me.
So deep in my heart that you're really a part of me.
I've got you under my skin.
(Frank Sinatra)

De modo especialíssimo, profundo agradecimento: as amigas Dra. Ana Luiza Villarinho e Dra. Graça Mota Melo, pelo apoio e colaboração nas diversas etapas deste trabalho. Pelos momentos que viveram junto comigo. Pela inclusão nesta parceria profissional respeitosa, pelas infinitas oportunidades de troca de saberes, pelos incontáveis ensinamentos, contribuições, paciência, convivência, pela amizade generosa e pelo exemplo de profundo respeito pela dignidade do paciente. Muito obrigada!

A part of me, under my skin... Anamaria Cretton (“eu e Anna, Anna e eu”...), Ane, Bilux, Capitão!!, Dom Ruan, Eduardo de Farias Vasquez (“*I am titanium!*”), Fernanda Augusto e Gui, Dona Ivone Xavier, Julio, Nanda Bergamine, Laureta minha fiel escudeira, Lelê Hilbert, Lili-Barosa, Lili-Olívvia e Lalá, Lu(cineide), Mário Sérgio Amorim, Mauro Acselrad, Regina Aderne, Regina Célia e Cadú, Dr. Renato!, Robinho, Thaty e Tutú, a Tina menina que habita esse mulherão comprometido, Vavá e, a maravilhosa cidade do Rio de Janeiro: obrigada!

Porque os homens são anjos nascidos sem asas,
É o que há de mais bonito, nascer sem asas e fazê-las crescer.
(José Saramago)

Obrigada, aos que se foram com imensas asas: Anabela Souza Oliveira, “dona branca no pedaço”; Cesar Augusto Luckey, amigo e incentivador; meu avô Mário com seu eterno amor e tantas heranças humanas e morais do Vale do Pó, dos tempos de guerra, de um Brasil de imigrantes; minha mãe e sua imensa paixão; meu pai cujo amor e exemplo que me inspirou em cada etapa, impossível escrever “metal” e não recordar o seu profundo conhecimento da metalurgia. Bom vôo, meus amores! Bom vôo!

In principle – everybody can be sensitized

(Schmuck et al., 2008)

Without environmental exposure, contact allergy can not be induced

(Carlsen et al., 2008)

A única maneira de liquidar o dragão é cortar-lhe a cabeça,
aparar-lhe as unhas não serve de nada.

(José Saramago)

RESUMO

Esta tese, organizada sob a forma de três artigos, apresenta estudos relativos à exposição e manifestações particulares da toxicidade aos metais níquel (Ni), cobalto (Co) e cromo (Cr). A inter-relação do ser humano com metais através de produtos e tecnologias é imprescindível e praticamente inevitável na atualidade. A exposição a estes metais, simultânea ou separadamente, promove complexas interações bioquímicas no organismo humano. Em determinados casos, esta exposição pode levar a graves doenças ocupacionais ou, se transformar em significativo problema de saúde pública, como, por exemplo, a dermatite de contato alérgica (DCA) a metais, especialmente ao Ni, Co e Cr. No intuito de determinar a importância de algumas ligas metálicas ricas em Ni, no primeiro artigo procurou-se identificar se o manuseio de determinadas moedas e, principalmente de alguns utensílios rotineiros, pessoais ou profissionais, à venda no Brasil, seria uma fonte importante de exposição ao níquel e causa significativa da DCA. Os resultados mostram que a liberação de Ni ocorre em quantidades críticas para 91,1% dos apetrechos testados. O segundo artigo, foi um estudo transversal com dados secundários, de 1465 pacientes de dois ambulatórios de dermatologia da cidade do Rio de Janeiro entre 2000 e 2018. Foi estimado que 40% dos pacientes eram sensíveis a estes metais. A prevalência da sensibilidade a Ni, Co e Cr foi respectivamente 28%, 11.4% e 13.2%. As mulheres abaixo dos 40 anos demonstraram predomínio da alergia a Ni, enquanto o Cr predominou entre homens acima dos 40 anos. A alergia ao Cr está fortemente associada a atividades na construção civil. A hipersensibilidade a Ni ou Cr foi fator de risco para a hipersensibilidade ao Co e, a hipersensibilidade a esses metais foi fator de risco para polissensibilização. O terceiro artigo discute a individualidade nos mecanismos toxicológicos do Cr no organismo humano. A suscetibilidade humana a patologias induzidas por Cr depende de fatores externos e características individuais. A variabilidade de fatores constitutivos moleculares individuais, como polimorfismos, cria um ambiente individualizado para a toxicidade. Esta revisão contempla as variáveis essenciais nesse processo. Este trabalho promove informações de apoio a profissionais da área de saúde, na identificação da exposição a Ni e, na identificação de fatores de risco para DCA metais e sua distribuição na população, e aponta para a necessidade de desenvolvimento de biomarcadores úteis e inequívocos. Os dados apresentados contribuem para discussões direcionadas a implementação de políticas públicas no Brasil, através de ações regulamentatórias de caráter restritivo e de direito de informação.

Palavras-chave: metais; exposição a níquel; dermatite de contato alérgica a níquel, cobalto e cromo; susceptibilidade genética a cromo.

ABSTRACT

This thesis, organized in the form of three articles, presents studies related to the exposure and particular manifestations of toxicity to metals as nickel (Ni), cobalt (Co) and chromium (Cr). The interrelation of humans with metals through products and technologies is essential and practically unavoidable today. Exposure to these metals simultaneously or separately promotes complex biochemical interactions in the human organism. In certain cases, exposure can lead to serious occupational diseases or become a significant public health problem, such as allergic contact dermatitis (ACD) to metals, especially Ni, Co, and Cr. In order to determine the importance of some Ni-rich metal alloys, the first article tried to identify whether the handling of certain coins and specific everyday life personal or professional utensils, selling in Brazil, would be an important source of exposure to Ni and a significant cause of ACD. The results show critical quantities of Ni release in 91.1% of the tested objects. The second article was a cross-sectional study of secondary data analysis carried out from 2000 to 2018 with 1465 patients from two dermatology services in Rio de Janeiro. It was estimated that 40% of the patients were sensitive to those metals. The prevalence of sensitivity to Ni, Co and Cr was 28%, 11.4% and 13.2%, respectively. Women under 40 years old showed a predominance of Ni allergy, while chromium predominated in men over 40 years old. Chromium allergy is strongly associated with activities in the construction business. Hypersensitivity to Ni or Cr was a risk factor for hypersensitivity to Co, and hypersensitivity to these metals was a risk factor for polysensitization. The third article discusses the individuality of the toxicological mechanisms of Cr in the human body. Human susceptibility to chromium-induced pathologies depends on external factors and individual characteristics. The variability of individual molecular constitutive factors such as polymorphisms creates a personalized environment for toxicity. The review includes the essential variables in the mentioned process. This thesis promotes information to support health professionals in the identification of Ni exposure, the risk factors for ACD to metals and their distribution among the population, and highlights the need to develop useful and unambiguous biomarkers. The data presented contribute to discussions aimed at the implementation of public policies in Brazil by means of restrictive regulatory and right to information actions.

Keywords: metals; nickel exposure; hypersensitivity to metals; contact allergic dermatitis by nickel, cobalt and chromium; genetic susceptibility to chromium.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances & Diseases Registry</i>
BEI	Biological Exposure Índice
Cesteh	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
Co	Cobalto
Cr	Cromo
DC	Dermatite de contato
DCA	Dermatite de contato alérgica
DCI	Dermatite de contato irritativa
DO	Dermatite ocupacional
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca
EPC	Equipamento de proteção coletiva
EPI	Equipamento de proteção individual
EUA	Estados Unidos da América
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IBE/EE	Indicador Biológico de Exposição Excessiva
IBMP	Índice Biológico Máximo Permitido
LT	Limite de Tolerância
LOAEL	<i>Lowest Observed Effect Level</i>
MTE	Ministério do Trabalho e Emprego
Ni	Níquel
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>
NOAEL	<i>No Observed Adverse Effect Level</i>
NRs	Normas Regulamentadoras
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
PCMSO	Programa de Controle Médico de Saúde
RDA	<i>Recommended Dietary Allowances</i>
SUS	Sistema Único de Saúde

TC Teste de contato/ *patch test*
TGI Trato gastrointestinal
WHO *World Health Organization*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	Níquel.....	18
2.2.	Cobalto.....	22
2.3.	Cromo.....	28
2.4	Dermatoses.....	33
2.5	Dermatite de Contato Alérgica.....	33
2.5.1	Cossensibilização e Polissensibilização.....	35
2.5.2	Índice MOHALFA.....	36
2.5.3	Dermatite de Contato Alérgica, Reação Imunológica.....	36
3	OBJETIVOS.....	40
3.1	Objetivo Geral.....	40
3.2	Objetivos Específicos.....	40
4	ARTIGOS.....	41
4.1	“A comprehensive study of nickel levels in everyday items in Brazil”	42
4.2	Dermatite de contato alérgica a Níquel, Cobalto e Cromo em pacientes adultos de dois ambulatórios de dermatologia no Rio de Janeiro	56
4.3	“Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans”	95
5	CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	133
6	REFERÊNCIAS.....	136

1 INTRODUÇÃO

Esta tese, organizada sob a forma de três artigos, apresenta estudos relativos a exposição e manifestações particulares da toxicidade aos metais níquel (Ni), cobalto (Co) e cromo (Cr). A inter-relação do ser humano com metais através de produtos e tecnologias é imprescindível e praticamente inevitável na atualidade. A exposição a estes metais, simultânea ou separadamente, promove complexas interações bioquímicas no organismo humano. Em determinados casos esta exposição pode levar a graves doenças ocupacionais como o câncer de pulmão pela inalação de Cr(VI) ou, se transformarem em significativo problema de saúde pública, como, por exemplo, a dermatite de contato alérgica (DCA) especialmente ao níquel, cobalto e cromo.

O relato destes diversos aspectos toxicológicos se inicia pela abordagem da identificação da exposição cutânea ao níquel no primeiro artigo. O uso de materiais niquelados aumentou consideravelmente depois da Segunda Guerra Mundial devido às propriedades químicas de suas ligas metálicas e resistência à corrosão. Atualmente, o níquel é um constituinte de mais de 3000 ligas e é encontrado em mais de 300.000 produtos. Globalmente, o níquel é o alérgeno mais comum e afeta 10 a 15% das mulheres na população em geral (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; RODRIGUES et al., 2012; CALAMITA et al., 2015; DUARTE et al., 2018 JOHANSEN; WERFEL, 2019). Diversos países da União Europeia têm conseguido diminuir pela metade a prevalência da DCA a níquel implementando medidas regulatórias sobre a concentração (massa/ área/ tempo) de íons níquel liberados por grande número de objetos (BIESTERBOS; YAZAR; LIDÉN, 2010; GAWKRODGER; LEWIS; SHAH, 2000; LIDÉN; JOHANSSON, 2001; LIDÉN; NORBERG, 2005; THYSSEN; MENNÉ; JOHANSEN, 2009). Assim a Dinamarca, país que em 1990 tomou as primeiras medidas restritivas, em menos de duas décadas conseguiu diminuir a prevalência de DCA a níquel associada a histórico de eczema nas mãos entre as mulheres de 18 a 35 anos, de 9,0% em 1990 para 2,1% em 2006, evidenciando a eficácia das medidas tomadas (THYSSEN et al., 2009). No Brasil não existem restrições legais no sentido de minimizar a exposição cutânea a íons níquel, cobalto ou cromo. Até onde sabemos não há normas brasileiras para fabricação e/ ou importação quanto a liberação estes metais. Poucos estudos brasileiros identificaram fontes de exposição cutânea a níquel e/ ou cobalto (GONÇALVES, 2017; HAFNER et al., 2018; SUZUKI et al., 2017). O artigo número 1, já publicado pela revista *Contact Dermatitis* sob o título “ *A comprehensive study of nickel*

levels in everyday items in Brazil”, identifica liberação de íons Ni^{2+} através da reação colorimétrica com dimetilglioxima em meio básico em objetos que exprimem a cultura e a rotina diária dos brasileiros.

A forma clínica como se apresenta a toxicidade dérmica ao níquel, assim como ao cobalto e ao cromo é, na maioria dos casos, mas não apenas, a dermatite de contato alérgica DCA (ROSMANINHO; MOREIRA; SILVA, 2016). A DCA é uma patologia frequentemente encontrada na população em geral. Mais de 3700 alérgenos capazes de causar DCA em humanos são conhecidos. Dentre eles, níquel, cobalto e cromo são sensibilizantes comuns e participam das listas de alérgenos de contato em todo o mundo (UTER et al., 2016).

Ainda que a DCA causada pelo contato com metais esteja entre as dermatites de contato mais prevalentes ao redor do mundo (JOHANSEN; WERFEL, 2019), esta ocorrência varia ainda nas diferentes regiões geográficas, por fatores genéticos, ambientais ou regulatórios (UTER et al., 2016). Em consequência dos diversos fatores capazes de influenciarem as reações alérgicas questiona-se se a população brasileira, devido às características geográficas e sócio-econômico-culturais, apresenta um mesmo perfil de prevalência de DCA a estes metais. O Brasil ainda não tem uma estimativa da prevalência de DCA a metais em população geral. As pesquisas realizadas até o momento no país refletem a estimativa desta prevalência em população ocupacionalmente exposta (MIRANDA et al., 2018; MELO et al., 2019;) ou em pacientes (CORRÊA-FISSMER et al., 2018; DUARTE et al., 2005, 2018, 2013).

O segundo artigo, ainda a ser submetido para publicação, intitulado “Dermatite de contato alérgica a Níquel, Cobalto e Cromo em pacientes de dois ambulatórios no Rio de Janeiro” foi um estudo transversal a partir dos dados secundários de 1465 pacientes de dois ambulatórios de dermatologia, um vinculado ao SUS e outro de baixo custo, ambos na cidade do Rio de Janeiro, atendidos entre 2000 e 2018.

Foi encontrado que 40% dos pacientes eram sensíveis aos metais estudados. O artigo descreveu a prevalência da sensibilidade a níquel, cobalto e cromo, analisando-se sexo, idade e ocupação profissional, entre outras variáveis. Foram analisados fatores de risco para a DCA a cada metal, para cossensibilização e polissensibilização. Foram estudadas as polissensibilizações mais importantes com a participação de algum metal foram com aceleradores de borracha, presentes no equipamento de proteção individual (EPI), tanto nas luvas como nas botas. Entre as ocupações profissionais, o artigo descreve especialmente a construção civil, composta por 124 pacientes exclusivamente pelo sexo masculino, categoria profissional com maior frequência de reação positiva a metais. Estudos brasileiros anteriores, em diferentes

regiões já haviam relatado a associação entre alergia ao cromo e atividade na construção civil (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; LAZZARINI et al., 2012; MACEDO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2012). Enquanto que, a União Europeia conseguiu reduzir a DCA ao cromo reduzindo a concentração de cromo (VI) para o limite de 2 ppm (0,0002%) através da adição de 0,35% de sulfato ferroso ao cimento.

O cromo além de alergênico, principalmente na forma de cromato, é um elemento com diferentes atividades biológicas, desde supostamente essencial até a carcinogenicidade (Pavesi e Moreira, 2020a; ASTDR, 2012). Diferentemente do níquel e do cobalto, o cromo possui 2 estados de oxidação estáveis, os estados +3 e +6, sendo que cada um deles possui uma atividade biológica própria como veremos mais adiante em aspectos toxicológicos para o cromo, item 2.3.3 (da Silva, 2003; ASTDR, 2012). Por esta razão este elemento químico recebeu um tratamento diferenciado dos demais com uma discussão mais ampla sobre seus mecanismos de ação e sobre os fatores individuais que delimitam esses efeitos.

De fato, o mecanismo de ação do Cr e seus compostos no organismo humano ainda não está totalmente esclarecido. Atualmente, os mecanismos possíveis envolvem a carcinogênese induzida por intermediários da redução celular do Cr (VI), a instabilidade genômica e as modificações epigenéticas (Pavesi e Moreira, 2020a). Destacam-se como potenciais carcinogênicos produzidos na redução endógena do Cr(VI) a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de adutos de DNA-Cr e DNA-proteína-Cr (Zhitkovich, 2005). Todos estes fatores, e conseqüentemente a toxicidade deste metal e de seus íons sobre o organismo humano, dependem de fatores externos e características individuais, como polimorfismos enzimáticos e de transportadores, sistema redutor endógeno, formação e estabilidade de adutos, eficiência de mecanismos de reparo de DNA, entre outros fatores.

O terceiro artigo discute a individualidade nos mecanismos toxicológicos do cromo no organismo humano. A variabilidade de fatores constitutivos moleculares individuais, como polimorfismos mencionados acima, cria um ambiente individualizado para a toxicidade. Esta revisão contemplou as variáveis essenciais nesse processo.

Esta tese promove informações de apoio a profissionais da área de saúde, na identificação de exposição a níquel e na identificação de fatores de risco para DCA metais e sua distribuição na população, e aponta para a necessidade de desenvolvimento de biomarcadores úteis e inequívocos. Os dados apresentados contribuem para discussões direcionadas a implementação de políticas públicas no Brasil, através de ações regulamentatórias de caráter restritivo e de direito de informação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

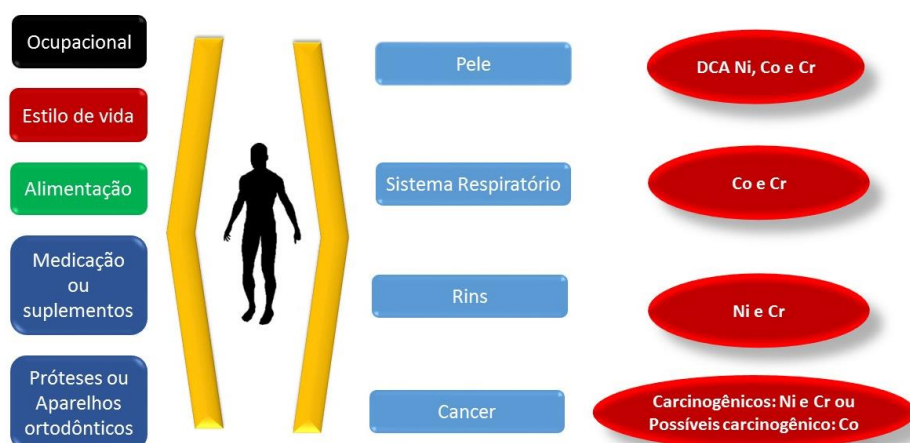
Metais são elementos químicos que podem ser encontrados em organismos vivos desempenhando um amplo e variado papel biológico. Podem ter funções estruturais, estabilizar estruturas biológicas, compor o controle de mecanismos e, especialmente podem ativar sistemas redox ou estar incorporados a estes.

Dentro do espectro de possibilidades de atuação, alguns metais obtidos através da alimentação são considerados essenciais, isto é, a sua deficiência resulta no comprometimento de funções biológicas, além de ser absolutamente necessário para o ciclo vital do organismo e ser específico, ou seja, não substituível. Não obstante, o excesso, mesmo que de elementos considerados essenciais pode levar a efeitos deletérios à saúde ou seja, manifestar toxicidade (ALI et al., 2011; VINCENT, 2017, 2019). Evidentemente, os processos biológicos não possuem mecanismo de ação exclusivamente orgânico. Diversas macromoléculas com atividade biológica são ativadas ou biotransformadas por íons metálicos, incluindo as metaloproteínas como por exemplo o citocromo P450, entre outras que sofrem efeitos diretos ou indiretos de íons metálicos no metabolismo (GUTTMANN et al., 2008). Justamente a capacidade de perder elétrons facilmente, formando íons com cargas positivas é a característica que torna os metais tão importantes como componentes funcionais ou estruturais dos seres vivos. Em suas formas catiônicas os metais tendem a ser solúveis nos fluidos biológicos e desempenham suas principais funções (BENITE; DE P. MACHADO; BARREIRO, 2007). Estes íons metálicos, espécies eletrofílicas (deficientes de elétrons) interagem com as biomoléculas, espécies nucleofílicas (ricas em elétrons), tais como proteínas e DNA. Os compostos de coordenação formados a partir destas interações são extremamente estáveis. A formação destes complexos prespõem a desolvatação do íon metálico e das biomoléculas, o processo de coordenação e finalmente a solvatação do complexo formado. A estabilidade do complexo formado depende de fatores como os efeitos eletrônicos (por exemplo tipo de ligação entre a biomolécula e o íon metálico), efeitos estéricos, entrópicos e efeitos de solvatação. Termodinamicamente a estabilidade do complexo formado dependerá de fatores como: o estado de oxidação do metal e geometria de coordenação; a geometria ou estrutura tridimensional do complexo formado; a estequiometria; a disponibilidade biológica da macromolécula alvo para coordenação; a hidrofobicidade/ hidrofobicidade; o impedimento estérico momentâneo; e a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio com átomos ligados e não ligados ao metal (HELM; MERBACH, 2005; BENITE; DE P. MACHADO; BARREIRO, 2007).

Enquanto estes complexos de coordenação formados entre macromoléculas e íons metálicos são biotransformados/ metabolizados, os elementos metálicos em si possuem em comum a característica de não sofrerem biotransformação no organismo humano, estes variam de espécie conforme sofrem processos de oxido-redução (FRIBERG e NORDBERG, 1979; GUTTMANN et al., 2008). Assim, na forma inorgânica, a apresentação mais comum na contaminação ocupacional e ambiental para níquel, cobalto e cromo, não sofrem biotransformação enzimática como a maioria dos compostos orgânicos absorvidos pelos organismos. Ao invés da metabolização enzimática clássica, dos compostos orgânicos, os íons metálicos, entre eles as formas iônicas de níquel, cobalto e cromo, restringem-se a uma cinética de distribuição e excreção complexas e totalmente dependentes da espécie química absorvida, a qual define seu potencial de oxi-redução, potencial de ionização, ligação às biomoléculas, capacidade de atravessar membranas e barreiras, além do acúmulo tecidual e excreção renal (FRIBERG e NORDBERG, 1979; BENITE; DE P. MACHADO; BARREIRO, 2007; GUTTMANN et al., 2008).

O cromo, o níquel e o cobalto causam diversos danos à saúde humana, inclusive genotóxicos, no caso do cromo, podendo levar ao câncer. Um dos efeitos adversos oriundo da exposição a estes metais é a dermatite de contato alérgica, figura 1, uma das principais enfermidades ocupacionais, responsável por um grande número de afastamento de trabalhadores do ambiente de trabalho. A figura 1 ilustra genericamente as possibilidades de exposição aos metais estudados e inclui questões ligadas ao estilo de vida que inclui o uso de adornos metálicos (brincos, piercings), vestuário de couro, dispositivos eletrônicos (celulares, relógios), maquiagem (cosmética e tatuagem), além dos principais desfechos possíveis pelo efeito tóxico de cada metal, o que será melhor detalhado separadamente para níquel (item 2.1), cobalto (item 2.2) e cromo (item 2.3).

Figura 1: Ilustração das principais exposições e desfechos tóxicos a Ni, Co e Cr.



Setores produtivos com histórico de exposição ocupacional ao cromo, níquel e cobalto representam um problema para Saúde Pública devido aos riscos de intoxicação e à oneração dos serviços de saúde, além dos prejuízos econômicos gerados pelo afastamento do trabalhador do processo de trabalho.

2.1 Níquel

O níquel ocorre naturalmente em várias formas minerais. Como metal de transição é resistente à corrosão provocada pelo ar, água e álcalis, mas dissolve facilmente em ácidos diluídos, propriedades que determinam o seu emprego industrial na fabricação do aço inox. Embora possa existir em vários estados de oxidação diferentes, o estado de oxidação prevalente nas condições ambientais é o Ni (II). Outras valências (-1, +1, +3 e +4) também são encontradas, embora com menos frequência e sem relevância biológica (AZEVEDO; CHASIN, 2003; CEMPEL; NIKEL, 2006).

2.1.1 Exposição ambiental e fontes antropogênicas

O níquel é um metal de distribuição generalizada no ambiente com diversas utilizações industriais e comerciais, constituindo 3% da composição da crosta da terra (CEMPEL; NIKEL, 2006). O níquel atmosférico existe principalmente na forma de aerossóis, com concentrações dependentes do tipo de fonte. O metal é liberado, provavelmente na forma de óxido, a partir de erupções vulcânicas, queimadas e plantas em crescimento, em níveis variáveis conforme a composição do solo (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

O níquel está presente no solo, água, ar e biosfera em concentrações traços: solos agrícolas podem conter entre 3 e 1000 mg kg⁻¹; na água doce variam de 2 a 10 µg L⁻¹ e na água do mar de 0,2 a 0,7 µg L⁻¹ (WHO, 1991). O níquel emitido no ambiente por fontes naturais ou antropogênicas circula por todos os compartimentos ambientais por meio de processos químicos e físicos, além de ser biologicamente transportado por organismos vivos. O transporte e distribuição do níquel particulado entre os diferentes compartimentos é fortemente influenciado pelo tamanho da partícula, o qual depende da fonte emissora, e condições meteorológicas. As partículas finas permanecem por longo tempo na atmosfera e são levadas a grandes distâncias, enquanto as partículas de tamanho grande se depositam nas proximidades da fonte de emissão. O níquel atinge a hidrosfera por remoção a partir da

atmosfera (deposição seca e úmida), erosão de solos e rochas, lixo municipal e efluentes industriais. Nos rios, o níquel é transportado como partículas precipitadas com material orgânico; nos lagos, a forma iônica é predominante, associada com material orgânico. O metal pode ser depositado nos sedimentos por processo de precipitação, complexação, adsorção em argila e agregado à biota. O níquel não é acumulado por organismos aquáticos em quantidades significativas (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Assumindo uma concentração média entre 5 - 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ na água potável, e o consumo diário de 2 L dia^{-1} , a Organização Mundial da saúde estima a ingestão de 10–20 μg de níquel desta forma. Esta carga de níquel pode aumentar através do consumo de plantas e animais que o contenham, como cacau e amendoim frescos que podem chegar a 9,8 e 5,1 mg Kg^{-1} , respectivamente. Acredita-se que pelo contato com recipientes e ferramentas de aço inoxidável, pelo lixiviamento dos utensílios, haja um acréscimo na carga deste metal (WHO, 1991).

O níquel e seus compostos pertencem aos agentes nocivos clássicos encontrados na indústria, mas também são conhecidos por afetar indivíduos não ocupacionalmente expostos, como a importante contribuição do consumo de tabaco na carga corporal de níquel (WHO, 1991; ASTDR, 2000; CEMPEL; NIKEL, 2006). Stojanović e colaboradores (2004) obtiveram valores altos para teor de níquel em cigarros ou tabaco analisados (2,20-4,91 mg kg^{-1}) independentemente do tipo e da origem do tabaco. O mesmo estudo revelou maior concentração de níquel no sangue e na urina dos fumantes comparados aos não fumantes. Os estudos semelhantes atualmente disponíveis relativos a fumantes de cigarros eletrônicos consideraram um número insuficiente de voluntários para produzir dados confiáveis, no entanto, tanto níquel quanto o cromo são componentes típicos da serpentina de aquecimento em dispositivos de cigarro eletrônico. Ambos os metais foram encontrados em líquidos e aerossóis produzidos por estes dispositivos em amplas faixas de concentração (PALAZZOLO et al., 2016; PAPPAS, 2011).

Os problemas de saúde mais importantes devido à exposição ao níquel e compostos de níquel são a dermatite alérgica na população em geral e aumento da incidência de câncer do pulmão e mucosa nasal encontrado entre os trabalhadores após exposição prolongada (AZEVEDO; CHASIN, 2003; CEMPEL; NIKEL, 2006). Especificamente no caso do níquel, dada a sua presença maciça e generalizada, a principal causa da dermatite de contato pelo níquel é o uso de bijuterias (anéis, correntes, brincos, braceletes e etc.), portanto não ocupacional (WHO, 1991; AZEVEDO e CHASIN, 2003).

2.1.2 Exposição ocupacional

O níquel é empregado como acabamento não apenas em peças metálicas, mas também em peças plásticas para aumentar a força e proporcionar brilho metálico. Assim, a gama de profissionais que tem a oportunidade de manipular este tipo de material é praticamente inesgotável. São trabalhadores do comércio, operadores de caixa, funcionários de varejo, centros de estética, metalúrgicos, empresas de limpeza, joalheiros, artesãos, músicos e manipuladores de alimentos (CEMPEL; NIKEL, 2006).

As exposições atmosféricas mais comuns são a espécie insolúveis, como o níquel metálico, sulfeto de níquel, e os óxidos de níquel a partir de poeiras e fumos (ZHAO et al., 2009; GONZALEZ, 2016). Assumindo que em um dia de trabalho de oito horas um total de 12 m³ de ar é inspirado, o valor aproximado de níquel passível de ser inalado nos segmentos de produção/ uso de níquel se situaria entre 0,036 - 0,72 mg Ni dia⁻¹. A quantidade média diária de níquel que pode ser inalada na maioria das indústrias que usam o metal e/ou seus compostos varia entre 0 - 1,1 mg dependendo do tipo de indústria (GONZALEZ, 2016).

Há correlações significativas entre a exposição ocupacional a compostos de níquel menos solúveis e níveis de níquel na urina em vários grupos de trabalhadores (ASTDR, 2000).

Na legislação brasileira, a Portaria 3214 de 1978, do Ministério do Trabalho, na sua Norma Regulamentadora NR 15, faz constar Limites de Tolerância (LT) apenas para o composto níquel-carbonila (0,28 mg Ni m⁻³), não mencionando outras formas de níquel (BRASIL, 1978; BRASIL, 1994). A NR 9, 9.3.5.1, alínea “c”(BRASIL, 1994), preconiza que se utilizem valores da entidade norte-americana “*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*” (ACGIH), ou aqueles que venham a ser acordados em negociação coletiva de trabalho, desde que mais rigorosos do que os critérios técnicos-legais estabelecidos. O “*Threshold Limit Value*” (TLV-TWA) ou Exposição Permissível Média Ponderada (EMPM) atual da ACGIH para níquel metálico e para os compostos de níquel solúveis e insolúveis, definidos pela Occupational Safety and Health Administration (OSHA) é de 1,0 mg Ni m⁻³, enquanto para compostos níquel-carbonila é de 0,007 mg Ni m⁻³. Atualmente, os Limites Máximos Permissíveis (LMP) deste metal são de 1,5 mg Ni m⁻³ para o níquel metálico, 0,3 mg Ni m⁻³ para as formas de níquel inorgânico insolúveis em água, e 0,1 mg Ni.m⁻³ para as formas de níquel e dissulfeto de níquel solúveis em água (ASTDR, 2000). O LMP para compostos níquel-carbonila é de 0,35 mg Ni m⁻³.

2.1.3 Aspectos toxicológicos

O níquel é absorvido através dos pulmões, trato gastrointestinal e pele. A absorção inalatória é a principal forma em relação à toxicidade induzida. A absorção por via inalatória depende da solubilidade dos compostos (WHO, 1991). A forma mais tóxica de níquel, a níquel-carbonila ou carbonila de Ni, é solúvel em lípidos, o que permite a sua passagem através da membrana celular, levando a absorção significativa por inalação e contato dérmico. Outra forma pouco solúvel em meio aquoso, o disulfeto de níquel (Ni_3S_2) também está entre as formas mais tóxicas e cancerígenas. Enquanto espécies solúveis de níquel são eliminadas rapidamente pelos tecidos, por sua pobre capacidade de penetrar nas células utilizando transportadores de metal divalente. A forma amorfa de NiS também não penetra na célula e, por isso, possui pouca ou nenhuma importância toxicológica (MUÑOZ, COSTA, 2012). Recentemente tem-se dado mais atenção a nanopartículas de níquel, cada vez mais utilizadas na indústria de energia e de alimentos, apresentam maior potencial toxicológico que as formas solúveis, independente da carga pulmonar, já que proporcionam maior potencial inflamatório. Cerca de 50% do níquel inalado é removido pelo trato respiratório, podendo ser deglutido ou expectorado, 25% é exalado e os 25% restantes são depositados no parênquima pulmonar, sendo absorvidos. De 1% a 5% do níquel ingerido é absorvido (FRIBERG e NORDBERG, 1979; CHRISTENSEN, 1995).

O níquel é transportado no plasma por proteínas, sendo 75% ligado à albumina, pode ligar-se também com L-histidina e α -2 macroglobulina. Acumula-se nos rins e nos pulmões (CHRISTENSEN, 1995).

O níquel excretado através das fezes reflete o níquel não absorvido proveniente da dieta. A maior parte do níquel absorvido é excretada rapidamente pela urina (FRIBERG e NORDBERG, 1979; WHO, 1991; CHRISTENSEN, 1995).

A intoxicação aguda de origem ocupacional ocorre principalmente por exposição acidental dos trabalhadores ao composto níquel-carbonila, e provoca vertigens, dispnéia, cianose, aumento da temperatura e pulsação (WHO, 1991). A inalação de altas concentrações de fumos de níquel em outros compostos leva à irritação das vias respiratórias e pneumonite química ou edema pulmonar. A exposição crônica por inalação resulta em efeitos respiratórios diretos, principalmente asma e aumento do risco de infecções crônicas do trato respiratório, rinite crônica e sinusite. O trato respiratório, em especial os pulmões são os órgãos onde os sintomas da toxicidade ao níquel se manifestam com maior intensidade, além

disso, também há importante ação nefrotóxica (ORR; BRIDGES, 2017). A dermatite de contato é o efeito mais frequente da exposição crônica ao níquel (WHO, 1991) não apenas no ambiente industrial, sendo o efeito tóxico mais importante na população em geral dada a sua origem comum no contato direto com objetos cotidianos de níquel ou niquelados (MARCUSSEM, 1960; FRIBERG e NORDBERG, 1979; PAVESI e MOREIRA, 2020).

A exposição a níquel, devido à ingestão alimentar com alto teor deste elemento, pode promover reações sistêmicas como reações eczematosas generalizadas ou eczema disidrótico das mãos, até a chamada “síndrome do babuíno”, termo cunhado em 1984 por Andersen et al freqüentemente observada em pacientes com dermatite de contato sistêmica (DCS) para níquel (ANDERSEN; HJORTH; MENNÉ, 1984). A DCS é uma doença inflamatória da pele que se sabe ocorrer com a exposição a drogas, alimentos e metais dentários entre outras fontes do alérgeno (YOSHIHISA; SHIMIZU, 2012). A literatura demonstra inúmeros casos de pacientes sensíveis ao níquel, resistentes ao tratamento, em função de hábitos alimentares. A alergia sistêmica ao níquel encontra relação dose-resposta entre a ingestão de níquel e a ocorrência de surtos, sendo que para maioria dos pacientes alérgicos ao níquel, uma dose única de 4 mg de níquel resultará em dermatite generalizada (JENSEN et al., 2003)

Compostos de níquel são reconhecidos pela IARC como “carcinogênico humano”, grupo 1, o níquel metálico e suas ligas são reconhecidos como “possivelmente carcinogênicos para humanos”, grupo 2B (IARC, 1990). A ACGIH indica o níquel metálico como “não suspeito como carcinogênico humano”, A5; os compostos inorgânicos solúveis como “não classificável como carcinogênico humano”, A4, e os compostos insolúveis como “carcinogênico humano confirmado”, A1 (ACGIH, 2003).

2.2 Cobalto

O Cobalto é um metal branco-acinzentado com propriedades magnéticas. As propriedades metálicas do cobalto são semelhantes às do ferro e do níquel, sendo empregado em ligas com estes ou outros metais para conferir dureza e resistência à corrosão, como catalisador na indústria química e de óleos e, na forma de sais, é utilizado na indústria de cerâmica, como pigmento. O cobalto é intimamente associado ao cromo no cimento e, principalmente ao níquel desde a mineração. Estima-se que os minérios de níquel e também de cobre contenham cobalto em proporção de até 1% (IARC, 1992; ASTDR, 2004). Pode apresentar estados de oxidação +4, +3, +2 e +1, embora compostos com estado de oxidação

+4 sejam pouco comuns (CEMPEL; NIKEL, 2006; KIM; KIM; SEO, 2015).

2.2.1 Exposição ambiental e fontes antropogênicas

O cobalto é um elemento relativamente raro, ocorre na crosta terrestre na faixa de 0,001-0,002%, na forma de minérios e ocorre na natureza principalmente como arsenetos, óxidos e sulfetos (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999; RUFF; BELSITO, 2006).

As fontes de cobalto para a população em geral podem ser resumidas em quatro configurações de exposição: exposição ocupacional, ambiental, dietética e médica. A ingestão oral ocorre através da alimentação diária e através de suplementos. A exposição médica se dá através de medicamentos e da exposição interna através de implantes, principalmente implantes de quadril metal-metal (YOSHIHISA; SHIMIZU, 2012).

Para a população em geral, a dieta representa a principal fonte de exposição ao cobalto. Não existe nenhuma recomendação oficial para ingestão diária de cobalto, exceto em termos de vitamina B12 (NRC, 1989), mas a décima edição do “*Recommended Dietary Allowances*” (RDA), em 1989, reconheceu o cobalto como um micronutriente essencial, presente na vitamina B12, ou cianocobalamina que, entretanto, apresenta efeitos tóxicos. De acordo com o IARC (IARC, 1990), a ingestão diária relatada na literatura varia entre 1,7 a 100 $\mu\text{g dia}^{-1}$. Na água potável, têm sido encontradas, concentrações de 0,1 - 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Assim, o consumo de 2 L diários de água levaria a uma ingestão de 0,2 a 10 μg de cobalto diários, aproximadamente 10% da ingestão diária calculada pela IARC (1992). A concentração de cobalto no ar é normalmente baixa, isto é, menor que 10 ng m^{-3} (FRIBERG e NORBERG, 1979; CHRISTENSEN, 1995).

Na natureza, uma vez liberado para a atmosfera o cobalto é depositado no solo e água superficial por deposição seca e úmida. No solo, o metal geralmente apresenta baixa mobilidade e forte adsorção. A precipitação mineral e a adsorção são dois processos que limitam as concentrações do metal na água (NIOSH, 1981; ASTDR, 2004).

Sua utilização principal é na indústria metalúrgica para produção de aços com características especiais de dureza e resistência mecânica e química, como ferramentas ou inclusive em ligas para instrumentos cirúrgicos e próteses e ainda ligas para a indústria eletrônica. Na forma de óxidos, um terço do metal extraído é utilizado como catalisador na indústria química, e produção de óleos. Na forma de sais, por exemplo o acetato de cobalto II ou III, o naftenato e o octanato, uma das utilizações é na indústria de cerâmica, como pigmento, vidros e agente secante em tintas e vernizes (RUFF; BELSITO, 2006; ALI, 2010; ALVES, 2013; LAZZARINI; DUARTE; FERREIRA, 2013). Como já mencionado, o

cobalto está presente concomitantemente ao cromo no cimento e concomitantemente ao níquel em diversas ligas deste, inclusive em bijuterias, como um elemento traço não separado do níquel desde a mineração primária e, deste modo se faz presente no dia a dia da população geral muito mais como impureza do que como produto acabado ou matéria prima para um produto de uso comum.

Estudos determinaram no tabaco 0,3 – 2,3 mg Co Kg⁻¹ em peso seco, sendo 0,5% desta quantidade detectada na fumaça que é inalada (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999).

Uma importante utilização do metal é na forma Cobalto-60, fonte radioativa, que é aplicado em detetores analíticos, também para tratamentos médicos e no método de irradiação de alimentos, para destruir os organismos que causam sua deterioração (ATSDR, 1992). Os aspectos radioativos do cobalto extrapolam o tema deste projeto.

2.2.2 Exposição ocupacional

A maior parte da produção de cobalto envolve a forma metálica usada na formação de superligas de cobalto e na chamada indústria de metal duro (*hard metal*). O termo metal duro refere-se a compostos contendo carboneto de tungstênio (80-95%) combinados com matrizes formadas a partir de cobalto (5 a 20%) e níquel (0 a 5%) (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999). Assim, a exposição ocupacional ao cobalto deveria ser restrita, e de fato o é com relação a exposição via inalatória, a qual ocorre especificamente na indústria de produção química dos compostos de cobalto, na produção das ligas de “metal pesado”, na indústria metalúrgica (produção de ferramentas, moagem, etc.), na mineração de carvão, mineração de metais, fundição e refino (ATSDR, 1992; CZARNEK; TERPIŁOWSKA; SIWICKI, 2015). E ainda esta exposição pode ocorrer em etapas determinadas: durante o processo de moagem do minério, mistura do pó com os outros componentes, no processo de sinterização e posterior usinagem do aço na produção de ferramentas e peças para maquinários (WEHNER et al., 1977).

Diferentes estudos transversais com trabalhadores expostos a cobalto e seus compostos, incluindo aqueles de refinarias e lapidadores, associam a exposição ocupacional a diversos efeitos nocivos como alteração de variáveis eritropoiéticas, do metabolismo da tireoide, da função pulmonar, de várias enzimas séricas e ainda: prevalência de irritação do olho, nariz, garganta e tosse; redução da função pulmonar, progressivo aumento dos casos de dermatite e lesões de pele como pápulas eritematosas, eczema e urticária. (SHIRAKAWA et al., 1988; NEMERY et al., 1992; SWENNEN et al., 1993) .

Estudos de coorte demonstram associação entre a exposição ocupacional a cobalto via inalatória e doenças respiratórias e também com cardiopatias. No entanto, na maioria desses e de outros estudos ocupacionais, contam com a coexposição a outras substâncias, o que não pode ser corrigido na análise (ASTDR, 2004). Profissionais da construção civil sofrem coexposição a cobalto e cromo via dérmica, promovendo a cossensibilização, já descrita inclusive na literatura brasileira (MACEDO, 2007; LAZZARINI, 2012).

Na ausência de indústrias metalúrgicas específicas de produção de metal duro, observa-se o predomínio da contaminação ocupacional através do contato dérmico direto com o cimento como a principal toxicidade ocupacional por cobalto. O cobalto é um dos três metais mais comuns fontes de dermatite de contato junto com níquel e cromo. No ambiente ocupacional, o contato induzido por cobalto ocorre dermatite caracterizada por pápulas eritematosas geralmente na mão de trabalhadores. Há relatos da revalência do eczema nas mãos e reações irritantes, já no primeiro ano de trabalho na indústria de metal duro por exemplo, em um grupo de 776 trabalhadores esta prevalência foi de 10% e 15%, respectivamente (FISCHER; RYSTEDT, 1985). Os fatores de risco para o desenvolvimento de eczema grave incluem sensibilização prévia ao níquel e dermatite irritativa. Em outro estudo com 853 trabalhadores de metal duro, 25% dos indivíduos sensíveis ao níquel desenvolveram alergia ao cobalto em comparação com 5% na população total testada (RYSTEDT; FISCHER, 1983). Destes indivíduos sensíveis ao níquel, quase todos (88%), eram mulheres, sensibilizadas ao níquel provavelmente pelo uso de brincos (RYSTEDT; FISCHER, 1983). Relatos de DCA a cobalto por contato com cimento serão mencionados na discussão do segundo artigo desta tese.

Neste ponto é importante esclarecer que a sensibilização a níquel e cobalto, denominada cossensibilidade, resulta da co-exposição a esses metais, e não a suposta reatividade cruzada entre esses metais (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999; RYCROFT et al., 2001).

Em 1995, a ACGIH (ACGIH, 2003) recomendou a utilização de BEI (“*Biological Exposure Indice*”) para exposição ao cobalto, com os seguintes valores: cobalto urinário 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ de creatinina, cobalto sanguíneo 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. No Brasil, a redação de 13/03/20 da NR 7 em seu Anexo 1 normatiza o valor de 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ urinário como Indicador Biológico de Exposição Excessiva (IBE/EE).

2.2.3 Aspectos toxicológicos

Como dito anteriormente, o cobalto é um oligoelemento essencial, e na forma orgânica é um componente necessário da vitamina B12 e desempenha um papel muito importante na formação de aminoácidos e algumas proteínas nas células nervosas e na criação de neurotransmissores indispensáveis ao correto funcionamento do organismo. No entanto, pode apresentar ação tóxica tanto por deficiência como excesso (ATSDR, 2004; CZARNEK; TERPIŁOWSKA; SIWICKI, 2015).

Estudos experimentais, tanto com animais como com seres humanos demonstram que o cobalto após exposição oral e inalatória, principais vias de exposição, é bem absorvido respectivamente pelo trato gastrointestinal (TGI) e pelas vias respiratórias. A ATSDR (2004) considera o cobalto como um sensibilizador, alérgeno, por inalação. Acredita-se que a velocidade de absorção é dependente da solubilidade dos compostos de cobalto nos meios biológicos (ALVES; DELLA ROSA, 2003). Julga-se que, comparada à exposição oral e inalatória, a absorção por via dérmica apresenta menor contribuição para o organismo. A excreção ocorre principalmente pela urina (80%) e em torno de 15% pelas fezes (FRIBERG e NORDBERG, 1979).

No sangue, a concentração de cobalto é 1,5 a 2 vezes maior nos glóbulos vermelhos do que no plasma, onde é transportado ligado à transcobalamina a todos os tecidos (ALVES; DELLA ROSA, 2003). As concentrações mais altas, cerca de 20% da carga corporal, são encontradas no fígado, nos rins, tireoide, glândulas adrenais e, em menor extensão, no músculo esquelético, coração, pâncreas, cérebro e pulmão. As concentrações de cobalto no sangue e na urina foram correlacionadas significativamente com aqueles em ar (SHIRAKAWA *et al.*, 1988; NEMERY *et al.*, 1992; SWENNEN *et al.*, 1993). O cobalto está entre os metais cujo papel no organismo é principalmente catalítico, agindo como grupo prostético ou como cofator em metaloenzimas (ATSDR, 1992). Os alvos da ação tóxica são os processos celulares que envolvem enzimas, membranas celulares e organelas. A ação tóxica envolve geralmente uma interação entre o metal livre na forma de íon com o sítio ativo. Assim, a toxicidade é determinada pela dose em nível molecular/ celular, e tornam-se críticos fatores como a forma química, espécie, e capacidade de ligação. Não há evidências de que o cobalto se acumule no organismo ao longo dos anos ou mesmo que seja dependente da idade do indivíduo. (FRIBERG e NORDBERG, 1979; ATSDR, 2004).

Os alvos da ação tóxica do cobalto são os processos bioquímicos intracelulares, especificamente as enzimas, as membranas celulares e organelas. O efeito tóxico do metal

envolve, geralmente, interação entre o metal livre na forma de íon com o sítio alvo. O mecanismo de toxicidade do cobalto inclui a substituição do zinco (Zn) pelo cobalto, por exemplo em enzimas Zn-dependentes. Os efeitos adversos desta substituição estão relacionados com aqueles ocasionados pela deficiência de zinco, tais como anorexia, dermatites e o prejuízo à cicatrização de ferimentos (MARSHALL, 1995) alterações no metabolismo de carboidratos, diminuição na utilização de glicose, na captação de oxigênio e na produção de energia, processos indispensáveis para a respiração tecidual e fosforilação oxidativa. Outro efeito da substituição do zinco pelo cobalto em enzimas é a alteração na oxidação de ácidos graxos: prejuízo da função hepática com infiltração de gorduras, alterações enzimáticas nos hepatócitos, resultando em aumento de enzimas hepáticas no soro e inflamação de nasofaringe, asma brônquica e fibrose pulmonar, dentre outros.

A exposição a cobalto por inalação pode levar a asma, tosse e dispneia que muitas vezes melhoram durante fins de semana e feriados (STUCKERT e NEDOROST, 2008). Os efeitos da exposição crônica a cobalto e seus compostos no sistema respiratório em seres humanos são bem documentados. Estes efeitos incluem irritação das vias respiratórias, função pulmonar diminuída, chiado, asma, pneumonia e fibrose. Estes efeitos foram observados em trabalhadores de refinarias de cobalto, bem como trabalhadores de metalurgia, lapidadores e pintores de cerâmica (pintura com tinta azul cobalto) (FRIBERG e NORDBERG, 1979; ATSDR, 2004). O fato de que apenas uma pequena porcentagem de trabalhadores expostos ao cobalto desenvolve fibrose intersticial pode ser uma evidência de que, a hipersensibilidade individual tem provavelmente um papel importante. Nos tempos atuais, dados os cuidados básicos com a higiene ocupacional - no sentido de prevenção - efeitos de toxicidade aguda são raros. Efeitos crônicos, no trato respiratório e na pele irão depender da atividade desenvolvida pelo trabalhador e a via de penetração (ATSDR, 2004).

A exposição dérmica, leva a hipersensibilidade ao cobalto, e as observações clínicas sugerem que trabalhadores expostos a metais, com sensibilidade simultânea ao níquel e cobalto, têm um eczema muito mais severo do que aqueles com sensibilidade a um ou outro metal isoladamente (CECIHS, 1987). A sensibilidade ao níquel é mais comum que a sensibilidade ao cobalto, no entanto, por coexposição as duas estão frequentemente ligadas. Há relatos de que um quarto dos pacientes sensíveis ao níquel desenvolva alergia ao cobalto e os pacientes com alergias simultâneas ao níquel e cobalto têm eczema disidrótico mais grave (RYSTEDT; FISCHER, 1983; YOSHIHISA; SHIMIZU, 2012).

Embora mais raramente do que o níquel, também a ingestão de quantidades maiores de cobalto através dos alimentos deve ser adicionada à lista de fatores desencadeantes da

dermatite de contato sistêmica (DCS) ou, síndrome sistêmica. Uma dieta pobre em cobalto reduz os surtos de eczema disidrótico em pacientes alérgicos (STUCKERT; NEDOROST, 2008). A suplementação alimentar com cobalto e a exposição interna através de implantes de quadril metal-metal oferecem as mais altas concentrações sistêmicas deste metal (PACHECO, 2019). Os efeitos sistêmicos à saúde são caracterizados por uma síndrome clínica complexa, incluindo principalmente déficits neurológicos (por exemplo, deficiência auditiva e visual), distúrbios cardiovascular, hematológico e endócrino. Recentemente, foi proposto um modelo biocinético para caracterizar a relação dose-resposta e efeitos da exposição crônica, sendo improvável que ocorram efeitos na saúde em concentrações abaixo de $300 \mu\text{g Co L}^{-1}$ no sangue em indivíduos saudáveis (LEYSSSENS et al., 2017). No entanto, reações tóxicas em doses mais baixas foram descritas em vários casos de implantes de quadril, o que pode ser explicado por certas patologias subjacentes que aumentam a suscetibilidade individual à toxicidade sistêmica co-induzida. Por exemplo pela associação a uma diminuição do cobalto ligado às proteínas séricas e um aumento de íons Co^{2+} livres (STUCKERT; NEDOROST, 2008; LEYSSSENS et al., 2017).

Segundo o IARC (1992), o Co e seus compostos são considerados potencialmente carcinógenos ao homem (grupo 2B), pois demonstraram fortes evidências de carcinogenicidade em animais experimentais.

2.3 Cromo

Elemento metálico de ocorrência natural, o cromo é lançado no ambiente predominantemente através de atividades antropogênicas, como fumaça do cigarro, queima de combustíveis fósseis, poeira de lonas de freio, incineração, pigmentos têxteis lançados em corpos d'água e fabricação de diferentes produtos utilizados na construção civil. Diversos artigos de caráter rotineiro, uso profissional e pessoal são produtos em aço inox, uma liga de cromo e níquel ou, são niqueladas por questão de aspecto (DA SILVA, 2003; ASTDR, 2012). As espécies mais comuns do cromo na natureza são os estados de oxidação +3 e +6, havendo notável tendência oxidativa do cromo (VI) (FRIBERG e NORDBERG, 1979; DA SILVA, 2003).

2.3.1 Exposição ambiental e fontes antropogênicas

As atividades humanas atualmente mais significativas na liberação de cromo para o meio ambiente são emissões decorrentes da fabricação de cimento e da sua manipulação na construção civil (70% do volume de aço produzido), manufatura de aços e ligas, indústria de galvanoplastia; soldagem de ligas metálicas, fundições, produção de lâmpadas, mineração, lixos urbano e industrial, cinzas de carvão, curtumes, preservativos de madeira, fertilizantes e pigmentos (DA SILVA, 2003; ASTDR, 2012).

A população em geral é exposta ao cromo pela inalação de ar contaminado, ingestão de alimentos e principalmente água contaminada, a exposição não ocupacional mais importante (WHO, 1988; ASTDR, 2012). Diversos produtos de uso cotidiano e rotineiro também promovem a exposição ao cromo na população geral, isto é, não exposta ocupacionalmente, por exemplo, por contato com couro tratado, aço inox, liga de ferrocromo e equipamentos eletrônicos (AZEVEDO; CHASIN, 2003; KRIDIN et al., 2016).

Seishima e colaboradores (2002) publicaram um relato de caso de paciente com dermatite alérgica de contato por utilização de telefone celular, e mais tarde, o estudo de oito pacientes com a mesma morbidade, relatando eritema e pápulas na aurícula hemilateral ou na região pré-auricular, causada pela presença de cromato no telefone celular, (SEISHIMA; OYAMA; ODA, 2003; SEISHIMA; OYAMA; YAMAMURA, 2002). Outra revisão mostrou que 10 pacientes, de 37 casos, tiveram uma reação positiva para teste de contato com dicromato de potássio; sendo 6 destes causados apenas pelo cromo, enquanto os 4 restantes apresentavam alergia concomitante, quer fosse níquel ou cobalto (RICHARDSON et al., 2014). KRIDIN e colaboradores (2016) postulou o cimento e detergentes para louças como a fontes de exposição mais comum.

Nesta última década, o Cr vem sendo considerado como elemento ubíquo (SHELNUTT et al., 2007). Estima-se por exemplo, que 90% do couro produzido globalmente é curtido com sulfato de cromo (ASLAN, 2009) levando a exposição ao cromo a partir do contato prolongado com diversos produtos de couro utilizados no dia a dia, como, cintos, volantes de carros, calçados, móveis, luvas, jaquetas e pulseiras de relógio.

No Brasil, a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental), ligada à Secretaria do Meio Ambiente do governo paulista, reconhece para a maioria das águas superficiais as concentrações de cromo entre 1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, e para a águas subterrâneas valor inferior a 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. A Portaria de Consolidação nº 5 DE 28/09/2017 em seu anexo VII do anexo XX, estabelece o valor máximo permitido de 0,05 mg Cr L^{-1} na água potável, isto é,

confirma o mesmo valor anteriormente estabelecido na Portaria N° 2914 de 12/12/2011 do Ministério da Saúde estabelece o valor máximo permitido. A portaria CONAMA 430 (CONAMA, 2011) estabelece valores máximos para padrão de lançamento de efluentes para Cr III, 1 mg L^{-1} , e para Cr VI e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

2.3.2 Exposição ocupacional

A maioria dos estudos concernentes à exposição ao cromo no Brasil versam da exposição ocupacional ao CrVI e suas consequências sobre o trato respiratório. Isto se compreende tanto pela gravidade e irreversibilidade das consequências desta exposição para a saúde coletiva, como também na medida em que se conhece a realidade dos sistemas produtivos que empregam o cromo no país: aplicação de tecnologias ultrapassadas, a falta de normatização dos setores na maior parte do país e falta de fiscalização. São escassos os estudos sobre Dermatite Ocupacional (DO) no Brasil inclusive pela subnotificação e elevado número de sub diagnósticos, uma vez que temendo perda de emprego e diminuição salarial, muitos trabalhadores não procuram o serviço de saúde (MELO, 1999; TORRES et al., 2009; ALI, 2010; MELO et al., 2019).

No âmbito da proteção do trabalhador quanto ao trato respiratório, ao contrário da saúde dérmica, algumas medidas políticas e técnicas foram tomadas no Brasil para a mudança de um quadro de produção rudimentar para uma produção industrial mais limpa, com medidas preventivas visando a saúde do trabalhador da indústria galvânica (MTE, 2003; DA SILVA, 1999). A saúde dérmica carece ainda de tomada de medidas efetivas no Brasil, e até mesmo de melhor conhecimento epidemiológico.

O cimento, assim como o petróleo ou o aço, é uma dos produtos imprescindíveis para o crescimento das economias. No ano 2000 a emissão de cromo a partir do cimento no Brasil era estimada em 3 t ano^{-1} (DA SILVA, 2003). A produção nacional de cimento atingiu 70 mil toneladas no ano de 2013 (ADMIN, 2014).

A legislação dinamarquesa, em 1983, fez obrigatória a adição de sulfato ferroso no cimento para reduzir o teor de cromo solúvel em água para não mais de 2 ppm (AVNSTORP, 1989) protegendo diretamente os trabalhadores da construção civil, reduzindo eficazmente o número de casos de DAC ao cromo. A adição de FeII promove a redução do CrVI a CrIII, de menor toxicidade.

Em 2006, a agência americana OSHA abaixou em 10 vezes o limite de exposição permissível (PEL, *Permissible Exposure Limit*) ao Cr VI, de $52 \mu\text{g Cr m}^{-3}$ para $5 \mu\text{g Cr m}^{-3}$,

por reconhecer este como o nível mais baixo tecnológica e economicamente viável para as indústrias afetadas, embora este nível ainda represente risco carcinogênico significativo (OSHA, 2006; ASTDR, 2012). No Brasil a legislação prevê a medida de cromo urinário como parâmetro para exposição ocupacional. A portaria do antigo Ministério do Trabalho e Emprego que prescrevia a concentração de $5 \mu\text{g Cr (g creatinina)}^{-1}$ como valor de referência e $30 \mu\text{g Cr (g creatinina)}^{-1}$ como índice biológico máximo permitido (MTE, 2013) teve a sua redação alterada pela Portaria nº6.734 de 09/03/2020 da então Secretaria Especial de Previdência e Trabalho do Ministério da Economia preconizando como Indicador Biológico de Exposição Excessiva (IBE/EE) para o final da jornada no final da semana a concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ e a diferença pré e pós-jornada ao final da semana $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

2.3.3 Aspectos toxicológicos

A toxicocinética dos compostos de cromo depende da valência (número de oxidação) e da natureza dos ligantes, mas independente da via de introdução. O Cr III é tão pouco absorvido que, se diz que praticamente não é absorvido pelo organismo humano e sua eliminação ocorre preferencialmente pela urina (WHO, 1988; IARC, 1990; DAYAN; PAINE, 2001; DA SILVA, 2003; EPA, 2010; ASTDR, 2012).

Compostos de Cr VI, como o ânion cromato (CrO_4^{-2}), penetram facilmente nas células através dos canais aniônicos inespecíficos (ASTDR, 2012), pois existem em pH fisiológico como íon tetraédrico e assemelham-se a outros ânions como sulfato e fosfato, permeáveis através da membrana celular (VOITKUN; ZHITKOVICH; COSTA, 1998; DAYAN; PAINE, 2001; EPA, 2010). Já os compostos de Cr III, formam complexos octaédricos, absorvidos por difusão passiva ou fagocitose praticamente não penetram na membrana celular (DAYAN; PAINE, 2001; ASTDR, 2012). Logo, a redução extracelular do Cr VI a Cr III diminui a penetração do cromo ao meio intracelular, causando uma redução de toxicidade (VOITKUN; ZHITKOVICH; COSTA, 1998; DAYAN; PAINE, 2001; ASTDR, 2012).

A via de introdução mais importante para compostos de cromo é a via pulmonar (ou inalatória) (WHO, 1988; DAYAN; PAINE, 2001; DA SILVA, 2003; EPA, 2010; ASTDR, 2012). Vapores, névoas e fumos hidrossolúveis de Cr VI são absorvidos em todo o trato respiratório e transportado para os demais tecidos e órgãos (WHO, 1988; EPA, 2010).

Para o cromo inalado, a deposição na região torácica e pulmonar aumenta com a diminuição do tamanho das partículas. As partículas depositadas no trato respiratório estão

sujeitas a três processos de eliminação: (a) transporte muco ciliar para o trato gastrointestinal através do trato ciliado (traqueia, brônquios e bronquíolos proximais); (b) fagocitose por macrófagos do pulmão e transporte celular aos linfonodos torácicos ou (c) absorção e transferência pelo sangue e/ou linfa ou outros tecidos. Estes processos se aplicam a todas as formas de cromo depositado, variando a taxa de participação de cada via conforme características físicas, forma química (grau de solubilidade) e propriedades quimiotáticas das partículas de cromo (WHO, 1988; EPA, 2010).

A absorção por via oral é variável. Os compostos insolúveis de Cr III, como o óxido de cromo, praticamente não são absorvidos por esta via de introdução. Apenas 0,5 a 2% dos compostos de Cr III presentes na dieta são absorvidos pelo trato gastrointestinal e, aproximadamente, de 2 a 10% do Cr VI. O cromo hexavalente ingerido é rapidamente reduzido a cromo trivalente pela saliva e pelo suco gástrico (WHO, 1988; ASTDR, 2012). Após a exposição por via oral a distribuição do cromo leva ao acúmulo do metal nos rins, fígado, pulmão, coração e pâncreas.

A exposição dérmica a compostos de cromo leva a um quadro de toxicidade sistêmica, a velocidade da absorção cutânea depende das propriedades físico-químicas do composto, do veículo e da integridade física da pele (WHO, 1988; ASTDR, 2012). O cromo absorvido é transportado pela corrente sanguínea para outros órgãos e tecidos, principalmente para o fígado, rins, baço e pulmão (WHO, 1988). O Cr III liga-se principalmente a proteínas séricas, em particular à ferritina (DA SILVA, 2003; ASTDR, 2012), enquanto que o Cr VI penetra rapidamente nos eritrócitos (ASTDR, 2012). Além disso, o cromo pode atravessar a barreira placentária atingindo o feto e também pode ser excretado no leite materno, sendo prejudicial ao bebê desde sua vida intrauterina até o período de amamentação (ASTDR, 2012).

O cromo é biotransformado no meio intracelular, no qual o Cr VI é reduzido a Cr III por agentes redutores intracelulares como ascorbato, glutatona e cisteína, gerando intermediários como Cr V, Cr IV e espécies de reativas de oxigênio (EROs) (DAYAN; PAINE, 2001; ZHITKOVICH, 2005). O terceiro artigo desta tese trata especificamente da toxicidade do cromo e os fenômenos de oxirredução entre as duas espécies é tratado em detalhes.

A ingestão de grandes doses de Cr VI pode causar náusea, irritação do trato gastrointestinal, úlcera estomacal, danos ao fígado e rins, convulsões e morte. A exposição dérmica pode causar ulceração na pele ou reações alérgicas (WHO, 1988; ASTDR, 2012).

O cromo, no ser humano, é preferencialmente excretado pelos rins. Indivíduos

expostos preponderantemente a Cr VI apresentam níveis urinários mais elevados do que os expostos a Cr III (DA SILVA, 2003; ASTDR, 2012). Cabelo, unhas, leite e suor não têm importância como vias de excreção (ASTDR, 2012). Na maioria dos países a urina é empregada como bioindicador para exposição a cromo. A vantagem da amostragem de urina é não ser uma coleta invasiva, e apresentar boa correlação com exposição por inalação (WHO, 1988; EPA, 2010; ASTDR, 2012).

A Agência Internacional para a Investigação do Câncer, (*International Agency for Research on Cancer, IARC*) classificou o Cr VI como pertencente ao grupo 1 (carcinogênicos humanos comprovados) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency, EPA*) considera-o como pertencente ao grupo A (carcinogênico humano) (IARC, 1990; EPA, 2010; ASTDR, 2012).

2.4 Dermatoses

As dermatoses ocupacionais (DO) representam a maior parte das doenças profissionais, e destas, 90% são casos de dermatite de contato alérgico (DAC). Sua prevalência é de avaliação difícil e complexa, inclusive no Brasil, pela falta de importância que o próprio trabalhador atribui e pela não obrigatoriedade da notificação (Ali, 2010). Estas dermatoses não chegam às estatísticas e nem sequer ao conhecimento dos especialistas. Muitas são tratadas com automedicação, outras são atendidas no próprio ambulatório da empresa. Poucas chegam até o clínico e ao especialista nos serviços médicos que prestam assistência, em convênio, com o Sistema Único de Saúde (SUS). Apenas uma parcela ainda menor dessas dermatoses chega até os serviços especializados (ALCHORNE et al., 2010; DUARTE et al., 2010).

2.5 Dermatite de Contato Alérgica (DCA)

A relevância da exposição dérmica aos metais é demonstrada nas dezenas de estudos epidemiológicos realizados desde o final da década de 1940 (LEES, 1991; PEISER et al., 2012). Em todo o mundo, a maioria dos casos de DAC, ocupacional ou não, são devido à sensibilização por metais. E, entre os metais, os principais causadores das dermatites de contato alérgicas são o cromo, o níquel, e o cobalto (Ali, 2010; ALCHORNE et al., 2010; DUARTE et al., 2018).

A alergia ao níquel é a mais significativa para a população geral (MORTZ;

BINDSLEV-JENSEN; ANDERSEN, 2013; QIN; LAMPEL, 2015). O níquel está entre os poucos alérgenos com possível contribuição oral, através da dieta, associada a dermatite de contato sistêmica (PIGATTO et al., 2014; YOSHIHISA; SHIMIZU, 2012).

A tendência de dermatite ao cobalto tem aumentado em decorrência do uso deste metal em substituição do níquel em diversos produtos e adornos (bijuterias) (RUI et al., 2012). Estima-se que cerca de um quarto dos pacientes sensibilizados ao níquel desenvolvem alergia a cobalto e pacientes com alergias simultâneas a níquel e cobalto apresentam sintomas alérgicos mais graves (RYSTEDT; FISCHER, 1983).

A maioria dos estudos que investigam a alergia ao Cr, foram efetuados com Cr VI, sugerindo toxicidade dérmica significativamente mais elevada que o Cr III (DUARTE; ROTTER; LAZZARINI, 2010; KUMAR, 2011; PEISER et al., 2012; SHELNUTT; GOAD; BELSITO, 2007). No entanto, há evidências de que o Cr III desempenha um papel importante na alergia a Cr, e que ambas as espécies foram capazes de desencadear o eczema em baixas concentrações. Portanto, é mais realista considerar a alergia como um resultado combinado de alergia a Cr III e Cr VI (BREGNBAK et al., 2014, 2015; HANSEN; JOHANSEN; MENNÉ, 2003; PEISER et al., 2012).

O teste de contato (TC) é uma importante ferramenta de diagnóstico para confirmar a dermatite de contato alérgica (CDSBG, 2000), ainda hoje é o padrão ouro para o diagnóstico. O teste de contato (“*patch test*”) consiste na aplicação dos padrões em contensores padronizados no dorso dos pacientes, sempre que possível, ou em outras áreas quando necessário. As leituras do TC, conforme critérios e recomendações do “*International Contact Dermatitis Research Group*” (ICDRG), devem ser realizadas em 48h e 96h da aplicação das substâncias, e posteriores quando necessário (GBEDC, 2000). A bateria de padrões brasileira é constituída por 30 preparações, a maioria veiculada em vaselina sólida, apenas o formaldeído é veiculado em meio aquoso. Algumas das preparações são misturas e não substâncias puras. As baterias padrões varia entre diferentes países quanto a composição e a concentração das preparações, assim como de veículo. As baterias de um país são alteradas para atualização de acordo com a necessidade ao longo do tempo.

A prevenção é a maneira mais relevante de evitar a dermatite alérgica de contato (DCA). Isso requer identificação dos alérgenos mais relevantes, a educação do paciente para evitar o contato com eles e a recomendação de produtos alternativos.

A DCA pode causar impacto na qualidade de vida dos pacientes, incluindo reabilitação de trabalhadores em outros tipos de trabalho ou função e, eventualmente, levar à incapacidade de trabalhar, com perdas econômicas além do custo do próprio tratamento

(BRUTTI et al., 2013; TORRES et al., 2009). A Academia Americana de Dermatologia (LIM et al., 2017) estimou que em 2013 o custo atribuível aos cuidados de saúde diretos da DC, apenas custos médicos, ultrapassasse 1,5 bilhão de dólares. Na Alemanha, estudos focando os custos ocupacionais de pacientes com eczema das mãos estimam um valor médio de 2.128€ a 8.799 € / paciente / ano, sendo 13% desse valor gasto diretamente em reabilitação e 70% em custos indiretos, ou seja, o valor associado com ausência do profissional no trabalho entre outros (AUGUSTIN et al., 2011; DIEPGEN et al., 2013). Resultados referentes a pacientes brasileiros e os custos econômicos são desconhecidos.

O paciente de DCA aos metais estudados pode apresentar ainda a Dermatite de Contato Sistêmica (DCS) que se refere a condição da pele em que um indivíduo sensibilizado a um alérgeno por via cutânea reage subsequentemente ao mesmo alérgeno por via sistêmica (oral, intravenosa, intramuscular, inalatória, transmucosa e/ ou transcutâneo) (AQUINO; ROSNER, 2019; PIGATTO et al., 2014; VEIEN, 2011; WINNICKI; SHEAR, 2011). A manifestação pode ocorrer como erupção cutânea no local anterior da dermatite, erupção cutânea no local de um teste positivo prévio, dermatite vesicular das mãos (mais comumente causada por alergia ao níquel, cobalto ou cromo), lesões como pápulas pruriginosas entre outras, nas regiões flexoras como os cotovelos e joelhos (ANDERSEN; HJORTH; MENNÉ, 1984). A chama síndrome sistêmica a metais é rara. Dentro desta baixíssima prevalência das síndromes sistêmicas, entre os três metais estudados, a síndrome sistêmica a níquel é a menos rara. A DCS a níquel está registrada na literatura a partir do estudo de casos, principalmente, onde pacientes hipersensíveis a níquel não respondem ao tratamento em função de uma exposição camuflada/ disfarçada em um hábito alimentar (alto teor de níquel ou suplementação) ou tratamento médico (próteses) ou tratamento odontológico (próteses e materiais restaurativos) (YOSHIHISA; SHIMIZU, 2012). A DCS a cobalto e cromo também ocorre, embora sejam casos mais raros que a DCS a níquel.

2.5.1 Cossensibilização e Polissensibilização

A cossensibilização é uma situação particular em que o sujeito sofre sensibilização concomitante pela exposição simultânea aos agentes alergênicos, por exemplo a cromo e cobalto através do cimento ou a níquel e cobalto através de ligas metálicas. A co-exposição a substâncias afins como ocorre com os metais em diversos produtos pode promover a sensibilização do paciente a mais de um agente alergênico e neste caso se dá a cossensibilização. A sensibilização a dois ou aos três metais no mesmo paciente resulta da

co-exposição e não de suposta reatividade cruzada entre esses metais (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999; RYCROFT et al., 2001).

Não existe uma definição formal ou unânime para paciente polissensibilizado, mas diferentes grupos de pesquisa sugerem que a reação positiva a três ou mais alérgenos não relacionados estrutural ou quimicamente consistem em múltipla alergia de contato (CARLSEN et al., 2008; DITTMAR et al., 2018). O segundo artigo desta tese trata entre outros fenômenos da polissensibilização de pacientes a metal e aceleradores/ catalisadores de borracha. A vulcanização da borracha é um processo de adição de enxofre à borracha crua, que melhoram suas propriedades. Para acelerar este processo de vulcanização com enxofre que seria lento, a indústria utiliza de catalisadores também chamados “aceleradores da borracha”. São disponíveis diversos aceleradores/ catalisadores podendo ser de diversos grupos químicos como por exemplo ditiocarbamatos, sulfenamidas, sulfenimidas, tiazóis, tioureias; tiurames, ditiofosfatos entre outros. A sensibilização de uma mesma pessoa a um ou mais metais e aceleradores de borracha, talvez também a um princípio ativo de medicamento para eczema por exemplo, de modo que tenha no mínimo três alergias é uma forma bastante frequente de polissensibilização.

2.5.2 Índice MOHALFA

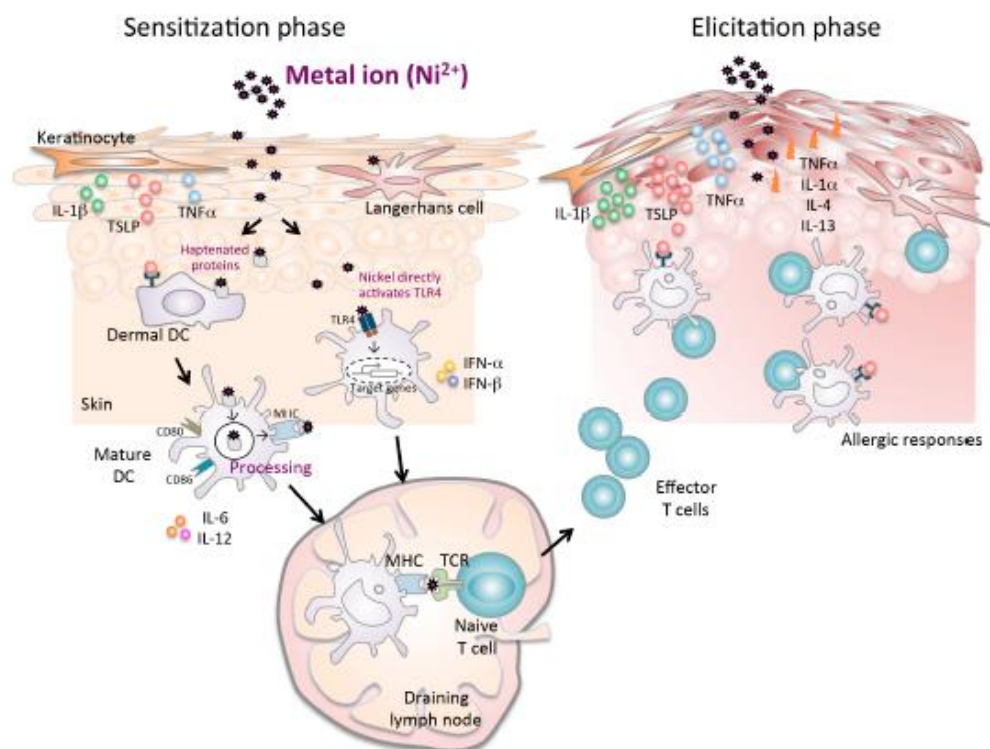
Os resultados são apresentados no artigo, de acordo com as mais recentes indicações internacionais, isto é, o chamado “Índice MOAHLFA” (UTER et al., 2004), que por sua vez substituiu o “índice MOAHL” (SCHNUCH et al., 1997). É preciso advertir o leitor não habituado a estes jargões específicos que, não obstante o nome, na verdade não se trata de um único valor, atribuído como medida que integre múltiplas dimensões ou elementos de diversa natureza (MERCHÁN-HAMANN; TAUIL; COSTA, 2000). Estes índices são antes um conjunto de parâmetros, expressos individualmente em porcentagem, os quais caracterizam a população ou subgrupo descrito, possibilitando não apenas a uniformização de resultados, mas a comparação entre populações diferentes (UTER; GEIER; SCHNUCH, 1999). Assim, MOAHLFA é o acrônimo para os parâmetros nomeados em inglês: sexo masculino/ Man, ocupacional/ Occupational, dermatite atópica ou eczema atópico/ Atopic dermatitis, eczema nas mãos/ Hands, eczema nas pernas/ Legs, eczema na face/ Face, idade acima de 40 anos/ Age. A diferença foi a troca do parâmetro anterior atopia / Atopy, (asma brônquica, rinoconjuntivite e dermatite atópica) pela dermatite atópica.

2.5.3 Dermatite de Contato Alérgica, Reação imunológica

A dermatite de contato alérgica é uma reação imunológica do tipo IV (imunidade celular) que pode ser dividida em três fases: indução, elicitação e resolução. Neste caso, o antígeno que permeou a pele é capturado pelas células dendríticas e outras células apresentadoras de antígenos presentes na derme e levado até o linfonodo regional para o processo de sensibilização específica do linfócito T. Uma vez sensibilizado, este linfócito T retorna ao sítio de permeação do antígeno, onde propagará uma resposta inflamatória. Vários haptenos desencadeiam vias imunológicas inatas e / ou induzem citotoxicidade como parte da sensibilização (KUMAR, 2011; RUFF; BELSITO, 2006; SHELNUTT; GOAD; BELSITO, 2007). Na maioria das vezes, o indivíduo permanece sensibilizado ao antígeno, ainda que cesse a exposição, embora em alguns casos possa ocorrer o processo de dessensibilização (LEUNG; BIEBER, 2003; SHELNUTT; GOAD; BELSITO, 2007).

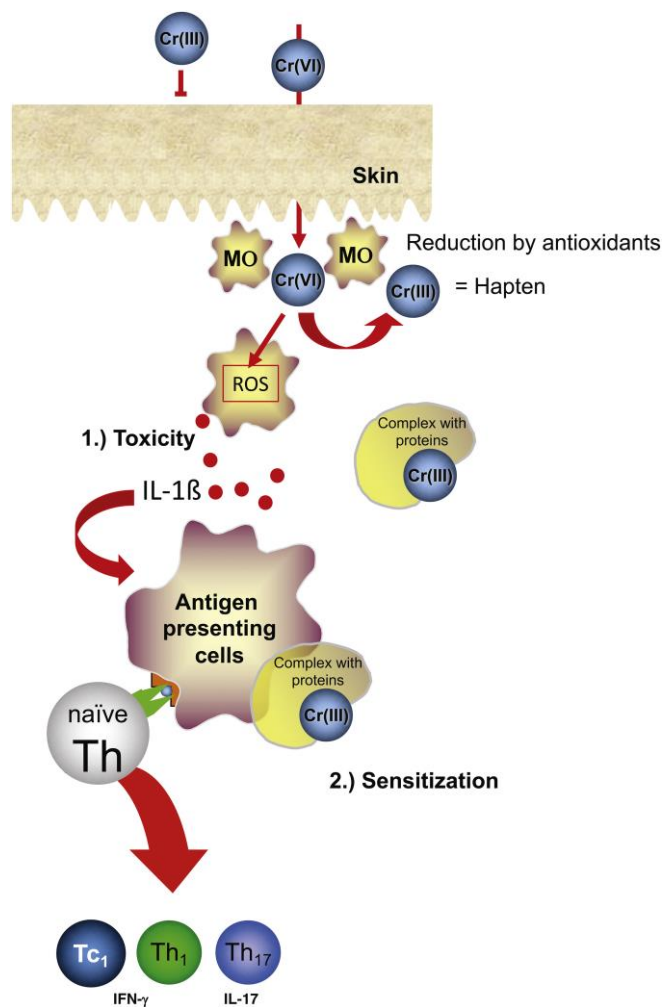
O mecanismo envolvido neste processo é bastante complexo e envolve uma cascata de eventos que vão desde a formação de haptenos entre os metais e as células de Langerhans, a ação deste conjugado sobre células T, a liberação de interleucinas IL-2 e de mediadores como as citocinas. A figura 2 mostra as principais etapas de um processo alérgico por Ni⁺². Na fase de elicitação, a exposição subsequente ao mesmo hapteno leva à captação pelas células, que é apresentado às células T específicas do hapteno em recirculação. As células T ativadas produzem citocinas inflamatórias e quimiocinas no local de exposição que promovem uma reação alérgica, levando ao desenvolvimento de lesões características. A descrição detalhada desse mecanismo, foge ao objetivo desse trabalho, mas pode ser encontrada na literatura (MARTINS; REIS, 2011; MARTIN, 2015; SAITO et al., 2016). Material particulado, o pó metálico, pode penetrar a pele danificada mais facilmente, no entanto, na maior parte a exposição se dá pela ação dos íons, como Ni⁺² que atravessam o estrato córneo em um processo facilitado pelo suor.

Figura 2 – Representação do mecanismo da alergia a metais (representado pelo Ni^{2+}). A fase de sensibilização se inicia com a exposição da pele ao metal. A penetração dos íons metálicos leva à produção de citocinas pró-inflamatórias ($\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$), TSLP e quimiocinas e à formação de haptenos por reação com proteínas e constituintes normais da pele e induzem a ativação, a reação e a migração de células DCs epidérmicas e dérmicas contendo os haptenos através da linfa para os linfonodos. Na linfa estes peptídeos haptenados produzem a proliferação, ativação e subsequente diferenciação de células T específicas para o hapteno. A secreção de citocinas nos gânglios linfáticos contribui para a ativação, proliferação e ativação eficientes de células T específicas para o hapteno. No final desta fase, as células T específicas migram dos gânglios linfáticos para a pele. Fonte: (SAITO et al., 2016)



Há evidências de que os mecanismos de toxicidade induzida por cromo e, provavelmente, a sensibilização, envolvem a ativação do inflamassoma NLRP3, levando à liberação de $\text{IL-1}\beta$, figura 3. Esse mecanismo é específico para o Cr VI, não sendo ativado pelo Cr III e o Ni II não o ativam. Sugere-se que a dermatite de contato ao cromo possa talvez ser evitada com antioxidantes, pois a ativação do NLRP3 depende do acúmulo de espécies reativas de oxigênio induzidas por Cr VI (BUTERS; BIEDERMANN, 2017).

Figura 3. Representação esquemática do modo de ação da sensibilidade alérgica ao cromo. O Cr VI penetra na pele e o Cr III penetra em proporção muito menor. Na pele, o Cr VI é reduzido por antioxidantes como a glutatona em cromo (III). O cromo (III) é o hapteno que se intercala com proteínas para formar alérgenos completos. Ao mesmo tempo, o cromo (VI) leva ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), como mostrado para monócitos. A EROs através de efluxo de K^+ ativam o inflamassoma NRLP3, resultando em liberação de IL-1 β , potencialmente ativam células apresentadoras de antígeno que processam o alérgeno, que ativa células T específicas do cromo, resultando na hipersensibilidade ao cromo. Fonte: (BUTERS; BIEDERMANN, 2017)



3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar aspectos peculiares da toxicidade dos metais: a hipersensibilidade a níquel, cobalto e cromo em suas manifestações e fatores de predisposição; a individualização dos mecanismos de toxicidade humana ao cromo, independente da patologia de desfecho.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar possível liberação de íons níquel na manipulação de moedas e, principalmente, de utensílios de uso cotidiano, de caráter pessoal ou profissional na cultura brasileira, disponíveis no mercado nacional. Caracterizar a importância de ligas metálicas ricas em níquel como possíveis fontes de exposição para a indução ou eliciação da DCA a níquel;
- Estimar a prevalência da DCA a metais, especificamente DCA a níquel, cobalto e cromo em pacientes adultos de dois ambulatórios de dermatologia no Rio de Janeiro e identificar a ocorrência da cossensibilização. Caracterizar as condições de predisposição a hipersensibilização aos metais: sexo, idade, porção anatômica lesionada, condições sócio-econômicas, comorbidades e possíveis variáveis de confundimento. Verificar a polissensibilização associada a metais. Identificar e descrever subgrupos vulneráveis;
- Identificar e descrever a possibilidade de respostas individuais ao cromo, mediante susceptibilidade genética e epigenética. Integrar conhecimentos dispersos na literatura mundial que contribuam na compreensão da possibilidade de ampla de variação de efeitos tóxicos ou detoxificantes frente a mínimas alterações polimórficas ou epigenéticas do ser humano.

4. ARTIGOS

4.1 A comprehensive study of nickel levels in everyday items in Brazil

Thelma Pavesi, Josino Costa Moreira

30/01/2020 – Submetido a Contact Dermatitis como artigo original;

24/02/2020 – Aprovado com “minor revisions”

16/03/2020 – Atendidas as correções e novamente submetido

24/03/2020 – Publicação, DOI: 10.1111/cod.13534

A versão a seguir foi submetida, não corresponde em exatidão à versão publicada durante o processo de apresentação e defesa desta tese.

.

A comprehensive study of nickel levels in everyday items in Brazil.

Thelma Pavesi, Josino C. Moreira

Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Correspondence

Josino C. Moreira; Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, rua: Leopoldo Bulhões, 1480 - Manguinhos, Rio de Janeiro – RJ, Brazil. Phone: +55 21 2598 2820 Email: josino.moreira@fiocruz.br

Conflict of interests: none to declare

Acknowledgments

JC Moreira thanks from the following Brazilian Agencies: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) for financial support. The authors wish to thank Graça Mota and Ana Villarinho for reading the manuscript and providing suggestions. The authors wish to thank Carlos Carrer, Paula Carrer, Viviane Pavesi and Ivan Teixeira for donating coins.

Abstract

Background: Nickel is a ubiquitous element owing to its use in many everyday items. In recent decades, nickel has become a leading allergen making it a public health problem.

Objectives: To evaluate frequently used nickel products in Brazil. We investigated if these objects released nickel capable to induce sensitization or cause clinical manifestation in terms of allergic contact dermatitis (ACD).

Methods: Dimethylglyoxime (DMG) spot tests assessed nickel release from several common utensils used in everyday life acquired in São Paulo and Rio de Janeiro, Brazil.

Results: We tested 46 coins (two denominations) and 90 common utensils. Approximately 91.1% produced nickel positive results using the DMG spot test.

Conclusions: The DMG limit of detection was 1.67 parts per million (ppm) of nickel. We observed that many objects in our test series released nickel above the DMG test limit. This observation suggests that nickel-sensitive individuals may be exposed to nickel, representing a public health issue.

Keywords

Allergens; nickel release; nickel exposure; consumer product safety, nickel allergy, dimethylglyoxime test, screening test

1. Introduction

Globally, nickel is the most common allergen¹. It predominantly affects 13.4–29.5% of women in the general population². The prevalence of nickel sensitivity is 17.5% in North America^{3,4}, 43.16% in India⁵ and 8–19% in Europe, decades after the implementation of restrictive nickel regulations¹.

In São Paulo, Brazil, from 1995–2015, Duarte et al.⁶ recorded a 31.6% nickel allergy prevalence in adult patients of both sexes. Occupational dermatology services in Brazil reported a significant association of hand eczema with contact dermatitis and severe damage to working life⁷.

Nickel allergy impacts the quality of life of many individuals, including the rehab of workers in other types of work or function, which can lead to an incapacity for work, and thereby, confer a significant economic and health burden on individuals and the economy^{8–10}.

The relationship between hand eczema and nickel allergy remains controversial^{10–15}. Interestingly, nickel has been associated with hand eczema in several studies^{1,16,17}, including in non-occupational hand eczema^{17–19}. In a European multicenter study²⁰, nickel was the most common contact allergen for both occupational (17.4%) and non-occupational dermatitis (17.8%) in hand eczema patients.

Nickel is considered a clinically relevant allergen and avoidance is the most effective way to avoid ACD.¹⁷ Hence, allergen education and recommendations for alternative products should be adopted to prevent ACD^{10,11}. Nowadays, nickel contributes to more than 3,000 alloys and is found in more than 300,000 products. Nickel contamination from handling coins is an important issue because many are produced using a cupronickel alloy due to its high corrosion resistance^{8,15,30,31}.

A few studies in Brazil have analyzed nickel release from cell phones²⁴, imported guitar strings²⁵ and from keys²⁶. The aim of this study was to extend this knowledge and assess whether Brazilian consumers are exposed to nickel through contact with everyday objects. In identifying these exposure levels, this study will help dermatologists distinguish possible sources contributing to nickel ACD manifestations.

2. Materials and methods

This study was conducted between November 2018 and February 2019. Selected items included metallic objects (90 utensils as well as 46 Brazilian coins) common in everyday life.

2.1 Materials

Commonly used metallic utensils were purchased in São Paulo and Rio de Janeiro, Brazil. We pre-defined all sampled specimens of musical strings that were produced in Brazil with nickel for Guitar and Cavaquinho, and all brands of cuticle pliers available on the market. The other items were randomly sampled, avoiding brand repetition. Table 1 shows the objects tested by category, origin and nickel presence as reported by the manufacturer.

Circulating 1 Real and 50 cent coins collected in markets or donated by individuals were evaluated according to the year of coinage and handling conditions. To maintain the actual handling conditions, we tested coins as received without cleaning. Only one coin, the R\$1.00, coined to celebrate the 25 years of economic Real Plain was a non-circulating sample because it had just been issued. Only original products were purchased from specialty stores, and a cuticle plier was purchased from hawkers. The surfaces of the pliers were cleaned and washed in water and neutral soap to remove oil and grease. In fact, the majority of pliers purchased in Brazil reach the hands of consumers smeared with oil or grease and are washed before use. Only these products were subjected to the pre-cleaning treatment.

A 0.1% solution of dimethylglyoxime (DMG) was prepared²⁷ and stored at 4 °C until use. Analytical-grade reagent from Sigma-Aldrich (Germany) was diluted in deionized water to prepare 96% ethanol and 10% ammonium hydroxide solutions. The artificial sweat used in this study contained 0.3% sodium chloride (Sigma-Aldrich), 0.2% urea (Synth), 0.2% lactic acid (Synth) and 0.1% sodium sulfate (Sigma-Aldrich). The solution was prepared from analytical-grade reagents in deionized water, and the pH was adjusted to 4.5 with ammonium hydroxide solution, which is considered the lowest pH in physiological sweat²⁸⁻³⁰. Nickel for a dilution series was prepared from a nickel single-element standard at 1,000 µg/mL in 2% HNO₃ (Atomic Absorption Standards, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts).

2.2 The DMG test

A cotton-bud containing two drops of DMG and two drops of ammonium solution was rubbed on each test article for 40 s in the touchable part of the tested article. A pink color indicated a positive result. Unclear reactions, characterized by non-pink color, were

repeated. If the reaction was again doubtful, it was scored as negative²⁷.

Immersion in artificial sweat at room temperature was used to simulate the natural wear and tear caused by manipulation. In cases of a negative DMG test result, the musical strings and cuticle pliers were immersed in artificial sweat for 24 h and one week, respectively, and the DMG test was performed after surface cleaning and drying.

To assess the lowest nickel concentration visually observable by this methodology (i.e., its detection limit), we used a nickel dilution series (Table 2). Fifty microliters of reagent mixture, DMG and ammonium hydroxide (1/1, v/v) were added to 10 μ L of nickel standard solution containing different nickel concentrations on swabs against a white background. The swabs (cotton sticks) were randomly placed out of order, and 22 individuals were invited to evaluate the test indicating the clearest pink color visible. This procedure was repeated after reagent storage of eight months at 4 °C or -20 °C. This experiment was performed to verify the stability of the DMG standard solutions and also to understand the degree of variation resulting from the observer's visual acuity.

3. Results

All categories of tested objects showed some positive DMG test result. In fact, 83 out of the 90 (91.1%) objects tested showed some nickel release, including three items labeled as aluminum by the producer. The result of the DMG test for the coins varied according to the coinage date. Nickel release data for each utensil are shown in Table 1.

Three US brands (3/3) and three Brazilian guitar strings (3/5) with steel cores and nickel-plated wounds showed a strong pink color by the DMG test, even before artificial sweat immersion. For two guitar strings (2/5) from the same Brazilian manufacturer, one had a dual metallic layer and the other (cheaper) showed a weakly positive DMG test, before and after 24-h immersion in artificial sweat. All Cavaquinho strings contained nickel as indicated by the manufacturer, however the DMG test was negative for one (1/4) Brazilian brand.

One Brazilian brand had two lines of cuticle pliers. One domestic product manufactured in Brazil (iron-nickel steel) was positive for the DMG test. However, the second professional product (from Pakistan) was weakly positive for the DMG test after one week of immersion in artificial sweat. Two negative DMG tests were recorded for the most expensive pliers, one imported from Pakistan and one from Germany.

The lowest Ni concentration observed by all participants was established as 1.67 ppm of Ni using the DMG spot test (Table 2). This concentration was used to differentiate positive

(nickel > 1.67 ppm) and negative (nickel < 1.67 ppm) results. After eight months of reagent storage at 4 °C or -20 °C, the pink color was still visible at this concentration limit.

4. Discussion

DMG colorimetric reactions are a rapid, efficient and cheap method to detect free nickel on sample surfaces and non-destructible assay. It is estimated as clinically relevant for use as a screening test³¹.

The strength of this study includes representative sampling. Samples include top selling brands, all available brands for Brazilian strings (for Guitar and Cavaquinho) and for cuticle pliers. To the best of our knowledge, this is the first study to test nickel release from some of these products. The results of this and a few other Brazilian studies²⁴⁻²⁶ represent the initial efforts to identify sources of exposure to nickel in this country. Importantly, these objects exemplify cultural aspects of Brazilian life. Berimbau is essential for Capoeira (a Brazilian martial art) and the triangle, fundamental for Brazilian rhythm called Forró. We emphasize that manicuring with cuticle pliers occurs by removing the entire cuticle, which may promote contact between the unprotected nail region and nickel. However, our samples may not be representative of the entire country because they were collected only from the two largest cities in Brazil.

There are several obstacles to assess the accurate prevalence of hand eczema in developing countries such as Brazil, including the difficulty for patients to access specialized public services and a possible high number of underreported cases. A hypothesis of no statistical association between nickel dermal exposure and hand eczema, is apparently influenced by legal regulations such as in European Countries^{20,32-35}, where nickel release has decreased due to restrictive regulations. Therefore, this study is unique as it highlights the exposure spectrum for nickel contact in everyday Brazilian life.

Ali³⁶ and Hamann³⁷ reported the absence of nickel release in Brazilian coins, regardless of their coinage data, after spot testing and X-ray fluorescence spectrometry analysis of their nickel and cobalt content. However, the data collected from the present study is not consistent with those of Ali³⁶ and Hamann³⁷, regarding coins released between 1998 and 2001. This discrepancy may be due to the fact that most Brazilian coins (in terms of quantity used) were made of stainless steel and bronze after 2002.

Currently, there are 106 different Real coins circulating in Brazil, among them the R\$0.50 and R\$1.00 coins minted in cupronickel from 1998 to 2001 and 1998 to 1999,

respectively. From 2002 onwards, Brazil discontinued the production of copper-nickel coins exclusively for economic reasons. As time progressed, it became less and less likely to find cupronickel coins, decreasing the relevance of nickel ACD resulting from coin handling.

Guitar strings influence music timbre and sound. Nickel release, combined with the repetitive mechanical trauma of finger pressure, can cause noticeable lesions in nickel-sensitized individuals. According to Crépy³⁸ and Kraft *et al.*³⁹, the most common sensitizing agents in musicians is nickel.

One Cavaquinho string produced a negative DMG test, although the packaging stated the string had a tinned carbon steel core, and was wrapped in nickel plating. It is important to note that the carbon steel of the core string is abundant in iron and zinc, which acts as a cathodic coating protection, possibly decreasing nickel ion release. Rezić *et al.*^{40,41} have shown an increase in the release of nickel under acidic conditions from musical strings treated with artificial sweat from different compositions.

From a dermatological perspective, musical performance imposes several stress factors such as pressure, friction, the number of contacts and frequency of repetition, heat and electrochemical issues. These factors support chronic mechanical irritation and maceration, in addition to allergic or irritant contact dermatitis. Despite these issues, there is shortage of studies reporting causal links between ACD and exposure to nickel via guitar strings^{28,42,43}.

Among nickel dermatitis patients, hand dermatitis was described in 83.3% of seamstresses and tailors²¹. A Chinese epidemiological study⁴⁴ in 529 textile workers reported high risks of occupational ACD. In sewing and iron workers, nickel was the most prevalent allergenic agent (32.4%). Additionally, one seamstress who was allergic to nickel, with eczema refractory to treatment in the fingertips of both hands, had her condition improved after the suspension of manipulation of needles that tested positive for nickel release by the DMG test⁴⁵.

The positivity in DMG test of needles found in this study (100%) is identical to that reported in Sweden⁴⁶. As the EEC restricts the Ni release from nickel-containing items, the evaluated items may have originated from countries outside of Europe. All needles found in the Brazilian market were produced in China. The market offers alternatives to nickel-plated crochet needles, such as using bamboo for thicker and aluminum for thinner yarns. Nevertheless, we found needles labelled as aluminum that tested as nickel by the DMG test, which reveals a labeling failure and a lack of surveillance by the Brazilian Health Authorities.

The origin of the items studied (Table 1) are an example of the availability of these objects in the two largest consumer markets in the country (São Paulo and Rio de Janeiro). Some cheaper products are usually sold without packaging, with no indication of origin or composition. With the exception of guitar and Cavaquinho strings, we had great difficulty in finding products, nickel-coated or steel care tools, made in Brazil. We note that Brazilian production seems to play a secondary role, with a predominance of imports from China (a major steel producer) and Pakistan. Interestingly, we did not find Brazilian norms or quality standards and technical specifications applied to importing these products.

The contribution of short and frequent contact to the total nickel load on the skin is not yet fully understood⁴⁷. However, this brief contact may not be harmless since the friction present in use of these utensils plays an important role in nickel exposure, in addition to the frequency.

While there is no restrictive legislation on nickel release for nickel-containing devices and instruments marketed in Brazil, it is imperative that the consumer is informed on the precise composition of the product, and composition verification as stated on the packaging. Individuals with positive nickel contact tests should be encouraged to replace nickel-plated materials, or they should use gloves when there is no alternative. Nickel barrier creams are not available on the Brazilian market.

The moderate sensitivity of the DMG test was not a limitation in this study. Nevertheless, it is important to know the assay limitations in order to take necessary precautions in minimizing false positive- and false-negative results. Technically, it was important to maintain the reaction medium as slightly alkaline to prevent Ni-dimethylglyoxime complex decomposition in an acidic medium, or the reddish brown DMG complex produced⁴⁸ with Fe^{2+} . Since numerous iron objects are Ni plated or silver plated, care should be taken to avoid false-positive results, since small spots of rust on a silvered object could, eventually, give a false positive or a doubtful result. Cobalt (Co^{2+}) ions form a soluble complex with DMG, generating a yellowish brown color. Cobalt coexists with nickel in several alloys and materials^{32,49}, which often leads to false-negative results if Co^{2+} availability depletes the DMG⁴⁸, which can occur for jewelry. However, the DMG reaction with Ni^{2+} cations is quite selective.

5. Conclusions

Nickel release was detected in 91.1% of all utensils (82/90) tested. The greater proportion of Brazilian stainless steel coins in comparison with the cupronickel ones in circulation has decreased the incidence of allergic reactions due to coin manipulation in Brazil. As in other countries, Brazil discontinued the manufacture of nickel alloy coins for economic reasons, but not for health issues. Even so, it is important that coin composition minimizes allergenic ion release.

This study shows that several routinely used nickel-plated objects release enough nickel to generate a positive DMG test. Critically, and depending on the conditions and frequency of use, this may represent an important exposure source of this allergen.

Although there are no restrictive regulations for nickel levels in Brazil, it is essential that consumers are aware of the composition of objects and utensils, as a preventive measure to avoid sensitization and elicitation.

Further research is needed to study the actual skin exposure to nickel in conjunction with other metals (co-sensitization), especially those that are allergenic such as cobalt and chromium, to deepen the knowledge of metal allergy risks.

References

1. Ahlström MG, Thyssen JP, Wennervaldt M, Menné T, Johansen JD. Nickel allergy and allergic contact dermatitis: a clinical review of immunology, epidemiology, exposure and treatment. *Contact Derm*. May 2019. doi:10.1111/cod.13327
2. Schuttelaar MLA, Ofenloch RF, Bruze M, et al. Prevalence of contact allergy to metals in the European general population with a focus on nickel and piercings: The EDEN Fragrance Study. *Contact Dermatitis*. 2018;79(1):1-9. doi:10.1111/cod.12983
3. DeKoven JG, Warshaw EM, Zug KA, et al. North American Contact Dermatitis Group Patch Test Results: 2015-2016. *Dermatitis*. 2018;29(6):297-309. doi:10.1097/DER.0000000000000417
4. Warshaw EM, Zhang AJ, DeKoven JG, et al. Epidemiology of nickel sensitivity: Retrospective cross-sectional analysis of North American Contact Dermatitis Group data 1994-2014. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2019;80(3):701-713. doi:10.1016/j.jaad.2018.09.058
5. Shaikh WA, Shaikh SW. ALLERGIES IN INDIA- A STUDY OF 6270 PATIENTS. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. 2019;8(10):657-661. doi:10.14260/jemds/2019/146
6. Duarte I, Mendonça RF, Korkes KL, Lazzarini R, Hafner M de FS. Nickel, chromium and cobalt: the relevant allergens in allergic contact dermatitis. Comparative study between two periods: 1995-2002 and 2003-2015. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2018;93(1):59-62. doi:10.1590/abd1806-4841.20186047

7. Melo M das GM, Villarinho ALCF, Leite I da C, Melo M das GM, Villarinho ALCF, Leite I da C. Sociodemographic and clinical profile of patients with occupational contact dermatitis seen at a work-related dermatology service, 2000 - 2014. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2019;94(2):147-156. doi:10.1590/abd1806-4841.20197235
8. Torres F, das Graças M, Melo M, Tosti A. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2009;2:39-48. doi:10.2147/ccid.s3693
9. Brutti CS, Bonamigo RR, Cappelletti T, Martins-Costa GM, Menegat APS. Occupational and non-occupational allergic contact dermatitis and quality of life: a prospective study. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2013;88(4):670-671. doi:10.1590/abd1806-4841.20131950
10. Mahler V. Hand dermatitis--differential diagnoses, diagnostics, and treatment options. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2016;14(1):7-26; quiz 27-28. doi:10.1111/ddg.12922
11. Christensen OB, Möller H. Nickel allergy and hand eczema. *Contact Derm*. 1975;1(3):129-135.
12. Nielsen NH, Menné T, Kristiansen J, Christensen JM, Borg L, Poulsen LK. Effects of repeated skin exposure to low nickel concentrations: a model for allergic contact dermatitis to nickel on the hands. *Br J Dermatol*. 1999;141(4):676-682. doi:10.1046/j.1365-2133.1999.03106.x
13. Almutairi N, Almutawa F. The role of nickel allergy in hand dermatitis and its impact on handling cupronickel currency coins. A comparative cohort study from Kuwait. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017;34(4):313-321. doi:10.5114/ada.2017.69309
14. Lidén C. Metal Allergy: Nickel. In: Chen JK, Thyssen JP, eds. *Metal Allergy: From Dermatitis to Implant and Device Failure*. Cham: Springer International Publishing; 2018:423-434. doi:10.1007/978-3-319-58503-1_32
15. Dorjay K, Bhushan P, Aggarwal A, Srivastava G, Arif T, Adil M. Study of morphological patterns and identification of contact sensitizers of hand eczema by patch test. *Journal of Pakistan Association of Dermatology*. 2019;29(2):151-158.
16. Warshaw EM, Schlarbaum JP, DeKoven JG, et al. Occupationally Related Nickel Reactions: A Retrospective Analysis of the North American Contact Dermatitis Group Data 1998-2016. *Dermatitis*. 2019;30(5):306-313. doi:10.1097/DER.0000000000000516
17. Minh PPT, Minh TT, Huu DL, et al. Using Patch Testing to Improve Therapeutic Outcome in the Treatment of Hand Eczema in Vietnamese Patients. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(2):204-207. doi:10.3889/oamjms.2019.051
18. Boonstra MB, Christoffers WA, Coenraads PJ, Schuttelaar MLA. Patch test results of hand eczema patients: relation to clinical types. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2015;29(5):940-947. doi:10.1111/jdv.12735
19. Yang SL, Zhu GX, Yin SC, Chen HY, Zhang YQ, Lai W. [Analysis of the results of patch test in 192 patients with hand eczema]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2016;34(10):770-772. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2016.10.012
20. Mahler V, Dickel H. [Most important contact allergens in hand eczema]. *Hautarzt*. 2019;70(10):778-789. doi:10.1007/s00105-019-04472-7

21. Marcussen PV. Ecological considerations on nickel dermatitis. *Br J Ind Med*. 1960;17:65-68. doi:10.1136/oem.17.1.65
22. Fournier P-G, Govers TR. Contamination by nickel, copper and zinc during the handling of euro coins. *Contact Derm*. 2003;48(4):181-188. doi:10.1034/j.1600-0536.2003.00028.x
23. Lachapelle J-M, Marot L. High nickel release from 1- and 2-euro coins: are there practical implications? *Dermatology (Basel)*. 2004;209(4):288-290. doi:10.1159/000080850
24. Hafner M de FS, Chen JCS, Lazzarini R, Hafner M de FS, Chen JCS, Lazzarini R. Evaluation of nickel and cobalt release from mobile phone devices used in Brazil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2018;93(1):151-153. doi:10.1590/abd1806-4841.20186800
25. Gonçalves BD. Liberação de Níquel em Ligas de Aço Niquelado Utilizadas em Encordoamentos de Guitarras Elétricas. 2017:63.
26. Suzuki NM, Duarte IAG, Hafner M de FS, Lazzarini R. Nickel exposure from keys: a Brazilian issue. *An Bras Dermatol*. 2017;92(5):734-735. doi:10.1590/abd1806-4841.20175754
27. Shore RN, Spring S, Binnick S. Dimethylglyoxime Stick Test for Easier Detection of Nickel. *Arch Dermatol*. 1977;113(12):1734-1734. doi:10.1001/archderm.1977.01640120102043
28. Hemingway JD, Molokhia MM. The dissolution of metallic nickel in artificial sweat. *Contact Dermatitis*. 1987;16(2):99-105. doi:10.1111/j.1600-0536.1987.tb01388.x
29. Haudrechy P, Foussereau J, Mantout B, Baroux B. Nickel release from nickel-plated metals and stainless steels. *Contact Derm*. 1994;31(4):249-255.
30. Caporali S, Bardi U. Corrosion Mechanism in Artificial Sweat Solution of In-Bearing White Bronze Alloy. *CORROSION*. 2012;68(2):025001-1-025001-025008. doi:10.5006/1.3683223
31. Thyssen JP. Nickel and cobalt allergy before and after nickel regulation--evaluation of a public health intervention. *Contact Derm*. 2011;65 Suppl 1:1-68. doi:10.1111/j.1600-0536.2011.01957.x
32. Ahlström MG, Thyssen JP, Wennervaldt M, Menné T, Johansen JD. Nickel allergy and allergic contact dermatitis: A clinical review of immunology, epidemiology, exposure, and treatment. *Contact Dermatitis*. 2019;81(4):227-241. doi:10.1111/cod.13327
33. Symanzik C, John SM, Strunk M. Nickel release from metal tools in the German hairdressing trade-A current analysis. *Contact Derm*. 2019;80(6):382-385. doi:10.1111/cod.13251
34. Lidén C, Johnsson S. Nickel on the Swedish market before the Nickel Directive. *Contact Dermatitis*. 2001;44(1):7-12.
35. Kalimo K, Lammintausta K, Jalava J, Niskanen T. Is it possible to improve the prognosis in nickel contact dermatitis? *Contact Derm*. 1997;37(3):121-124. doi:10.1111/j.1600-0536.1997.tb00316.x
36. Ali AS. *Dermatoses Ocupacionais*. São Paulo. Editora da Fundacentro; 2010. 410p

37. Hamann CR, Hamann D, Hamann C, Thyssen JP, Lidén C. The cost of nickel allergy: a global investigation of coin composition and nickel and cobalt release. *Contact Dermatitis*. 2013;68(1):15-22. doi:10.1111/cod.12008
38. Crépy M-N. Skin diseases in musicians. *Eur J Dermatol*. 2015;25(5):375-383. doi:10.1684/ejd.2015.2559
39. Kraft M, Schubert S, Geier J, Worm M, IVDK. Contact dermatitis and sensitization in professional musicians. *Contact Derm*. November 2018. doi:10.1111/cod.13191
40. Rezić I, Ćurković L, Ujević M. Metal ion release from electric guitar strings in artificial sweat. *Corrosion Science*. 2009;51(9):1985-1989. doi:10.1016/j.corsci.2009.05.018
41. Rezić I, Ćurković L, Ujević M. Investigation of metal ion release from violin, viola and cello strings after dissolution in corrosive solution. *Materials and corrosion*. 2014;65(9):931-934. doi:10.1002/maco.201206958
42. Milošev I, Kosec T. Metal ion release and surface composition of the Cu 18Ni 20Zn nickel silver during 30 days immersion in artificial sweat. *Applied Surface Science*. 2007;254:644-652. doi:10.1016/j.apsusc.2007.06.049
43. Friis UF, Menné T, Jellesen MS, et al. Allergic nickel dermatitis caused by playing the guitar: case report and assessment of nickel release from guitar strings. *Contact Derm*. 2012;67(2):101-103. doi:10.1111/j.1600-0536.2012.02043.x
44. Chen Y-X, Gao B-A, Cheng H-Y, Li L-F. Survey of Occupational Allergic Contact Dermatitis and Patch Test among Clothing Employees in Beijing. *Biomed Res Int*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/3102358
45. White JML, Vivier AWP du. Occupational allergic contact dermatitis caused by nickel in embroidery needles. *Contact Dermatitis*. 2018;79(3):181-182. doi:10.1111/cod.13018
46. Ringborg E, Lidén C, Julander A. Nickel on the market: a baseline survey of articles in 'prolonged contact' with skin. *Contact Dermatitis*. 2016;75(2):77-81. doi:10.1111/cod.12602
47. Ahlström MG, Thyssen JP, Menné T, et al. Short contact with nickel causes allergic contact dermatitis: an experimental study. *Br J Dermatol*. 2018;179(5):1127-1134. doi:10.1111/bjd.16935
48. Baccan N, Introdução à semimicroanálise qualitativa. Campinas: Editora da UNICAMP; 1980. 163p.
49. Torres F, das Graças M, Melo M, Tosti A. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2009;2:39-48.

Table 1: DMG test results and nickel presence reported by producer.

Items	N	Origin	resence of nickel according the producer?	Positive test n (%)		
				Immersion in artificial sweat No	24h	1 week
Musical instruments						
Strings						
Guitar	5 3	BRA USA	Ni round wound	7 (87.5%)	8 (100%)	
Cavaquinho	4 1	BRA USA	Ni round wound	4 (80%)	4 (80%)	
Berimbau	1	unknown	unknown	Negative	Negative	
Triangle and sticks	2	unknown unknown	Chrome-plated steel unknown	2 (100%) 2 (100%)		
Personal care tools						
Eyebrow Tweezers	10	unknown	1 Stainless Steel	15 (100%)		
	3 2	China Pakistan	14 unknown			
Nail Clippers	5 3	China unknown	Ni-plated steel Chrome-plated steel	8 (100%)		
Cuticle Plier	1 3 4 1	BRA China Pakistan Germany	Ni-plated carbon steel Stainless Steel unknown	2 (22.2%)	2(22.2%)	7(77.8%)
Hand sewing materials						
Sewing pins	5 2	China unknown	Ni unknown	7 (100%)		
Hand sewing needles	9 3	China unknown	Ni-plated steel Unknown	12 (100%)		
Crochet hooks	1	BRA	Ni-plated steel	14 (77.8%) ^a		
	11 1 3 1 1	China Japan Bra China Japan	unknown unknown Aluminum Aluminum Aluminum			
Thread bobbin	8	China	unknown	8 (100%)		
Coins						
50 cents	1998/2000/2001*		Copper-nickel	Positive		
50 cents	2002- 2019*		Stainless Steel	Negative		
1 Real	1998/1999*		Copper-nickel, alpaca	Positive		
1 Real	2002-2018*		Stainless Steel and bronze	Negative		
1 Real	commemorati ve coinage, 2019*		Stainless Steel and bronze	Negative		

N: number of pieces, BRA: Brazil, USA: United States of America; *: Year of coinage; a: The three Brazilians “aluminum” was positive. Rio de Janeiro, 2020.

Table 2: Nickel dilution series to check visual limit of the used DMG test.

Ni (ppm)	Ni (μg)*	Visualization % (n/ n total)
16.67	1.0000	100 (22 / 22)
8.33	0.5000	100 (22 / 22)
1.67	0.1000	100 (22 / 22)
0.83	0.0500	72 (16 / 22)
0.17	0.0100	32 (07 / 22)
0.08	0.0050	4,5 (01 / 22)
0.04	0.0025	0 (0/22)
0.02	0.00125	0 (0/22)
0	0	0 (0/22)

*Ni quantity in 60 μL . Rio de Janeiro, 2020.

Artigo 2

4.2 Dermatite de contato alérgica a Níquel, Cobalto e Cromo em pacientes adultos de dois ambulatórios de dermatologia no Rio de Janeiro

Thelma Pavesi, Ana Luiza Villarinho, Sabrina da Silva Santos, Maria das Graças Mota Melo, Josino Costa Moreira

Dermatite de contato alérgica a Níquel, Cobalto e Cromo em pacientes adultos de dois ambulatorios de dermatologia no Rio de Janeiro

Thelma Pavesi, Ana Luiza Villarinho, Sabrina da Silva Santos, Maria das Graças Mota Melo, Josino Costa Moreira

Resumo: Metais são agentes desencadeadores de dermatite de contato alérgica (DCA) comuns, apresentando prevalência diferenciada entre grupos populacionais. Sua prevalência no estado do Rio de Janeiro (RJ), Brasil, ainda não foi estimada.

Objetivo: Determinar a prevalência da DCA a níquel, cobalto e cromo entre pacientes adultos em dois ambulatorios de dermatologia no RJ, e caracterizar condições sócio-econômicas, fatores de risco, comorbidades e indicadores preditivos.

Método: Estudo transversal com dados secundários de dois ambulatorios de dermatologia na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Foram incluídos pacientes com no mínimo 18 anos, que realizaram teste de contato (TC) com a bateria padrão brasileira entre 2000 e 2018.

Resultados: Dentre 1465 pacientes, 40% apresentaram hipersensibilidade a pelo menos um metal. A prevalência para níquel, cobalto e cromo foi respectivamente 28%, 11.4% e 13.2%. Entre as mulheres abaixo de 40 anos houve predomínio da alergia a níquel, enquanto o cromo predominou em homens acima de 40 anos.

Conclusão: O níquel foi o principal alérgeno da bateria padrão brasileira. A alergia ao cromo foi fortemente associada a atividades na construção civil. A hipersensibilidade a níquel ou cromo foi fator de risco para a hipersensibilidade ao cobalto e, a hipersensibilidade a esses metais foi fator de risco para polissensibilização.

Palavras chaves: níquel; cobalto; cromo; dermatite de contato alérgica; Rio-de-Janeiro Brasil; teste-de-contato; polissensibilização

Introdução

A dermatite de contato alérgica (DCA) é condição frequente na população em geral. Mais de 3700 alérgenos são conhecidos por causar DCA em seres humanos. Níquel, cobalto e cromo são sensibilizantes comuns na lista de alérgenos de contato em todo o mundo (UTER et al., 2016). Assim, é fácil de depreender que algumas pessoas possam apresentar múltiplas alergias. Não existe uma definição formal ou unânime para paciente polissensibilizado, mas diferentes grupos de pesquisa sugerem a reação positiva a três ou mais alérgenos não relacionados estrutural ou quimicamente como múltipla alergia de contato (CARLSEN et al., 2008; DITTMAR et al., 2018), este estudo compartilha deste conceito. A cossensibilização é uma situação particular em que o sujeito sofre sensibilização concomitante pela exposição simultânea aos agentes alergênicos, por exemplo a cromo e cobalto através do cimento ou a níquel e cobalto através de ligas metálicas.

O teste de contato (CDSBG, 2000) é uma importante ferramenta de diagnóstico para confirmar a dermatite de contato alérgica, ainda hoje é o padrão ouro para o diagnóstico. As reações positivas aos padrões podem ser influenciadas por variáveis como sexo, idade ou atopia. O chamado índice MOAHLFA (SCHNUCH et al. 1997; UTER et al. 2004) é a caracterização da população estudada através de sete variáveis, em porcentagem: (M) sexo masculino, (O) dermatite ocupacional, (A) dermatite atópica, (H) dermatite na mão, (L) dermatite na perna, (F) dermatite facial e (A) idade acima de 40 anos. Esta padronização de apresentação de resultados facilita a comparação entre resultados obtidos em diferentes populações.

Ainda que a DCA a metais esteja entre as dermatites de contato mundialmente mais prevalentes, esta ocorrência varia ainda nas diferentes regiões geográficas, por fatores genéticos, ambientais ou regulatórios. O Brasil possui extensa área geográfica, formas diferenciadas de ocupação, tanto no que se refere a composição étnica como acesso a tecnologias produtivas e industriais, diferenciado ingresso a habilitação literária, oportunidades e hábitos de consumo. É justificado que surja o questionamento: embora sob mesma regulamentação sanitária e restrições ocupacionais, regiões tão diversas entre si, apresentam um mesmo perfil de prevalência a estes metais? Este trabalho visa colaborar na composição do panorama da DCA no país através do conhecimento de parte do cenário do Rio de Janeiro, principalmente da DCA a níquel, cobalto e cromo, relações de cossensibilização e polissensibilizações.

Metodologia

O presente trabalho é um estudo transversal, utilizando dados secundários, isto é, informações dos prontuários médicos, de pacientes com no mínimo de 18 anos de idade, submetidos de modo consecutivo a teste de contato com a bateria padrão recomendada pelo Grupo Brasileiro de Estudos em Dermatite de Contato (CDSBG, 2000) e eventualmente outras baterias, em virtude de hipótese clínica de DCA. A população do estudo é proveniente de dois serviços especializados em Dermatologia na cidade do Rio de Janeiro.

Parte do grupo populacional, 882 pacientes, foi atendido em serviço público especializado em doenças relacionadas ao trabalho: o Centro de Estudos de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (Cesteh), um departamento da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no período de 2000 a 2018. A outra parte da população, 583 pacientes, foi atendida em serviço de saúde privado, de baixo custo, atendendo população em geral: o Ambulatório de Dermatologia do Hospital da Gamboa (Gamboa), região central da cidade do Rio de Janeiro, abrangendo aqueles assistidos no período entre 2011 e 2018. Como instituição particular a chegada do paciente é através de demanda espontânea. Este serviço é vinculado a um programa de pós-graduação em dermatologia.

Estes serviços excluem da aplicação do TC em pacientes que atendam qualquer dos impedimentos: gravidez, uso de corticoides tópicos no local de aplicação dos testes há 15 dias ou menos, corticoides sistêmicos ou imunossupressores há 30 dias ou menos, exposição solar há 7 dias ou menos e doenças cutâneas graves em atividade. Na bateria padrão brasileira são utilizados o sulfato de níquel a 5%, o cloreto de cobalto a 1% e o dicromato de potássio a 0,5% veiculados em vaselina sólida, e aplicados em contêntores padronizados no dorso dos pacientes, sempre que possível, ou em outras áreas quando necessário. Outros padrões da bateria brasileira mencionados neste estudo são: timerosal a 0,05% kathon CG 0,5% (mistura de metilcroisotiazolinona e metilisotiazolinona); PPD(mix) (N-isopropil, N-fenil, parafenilenodiamina, N-N difenil, parafenilenodiamina a 0,4%); Hidroquinona a 1%; tiuram (MIX) (tetrametiltiuramdissulfito (TMTD); tetrametiltiuranmonossulfito (TMTM) a 1%); nitrofurazona a 1%; paraben (MIX) (metilparabeno; etilparabeno; propilparabeno; butilparabeno; benzilparabeno a 15%); carba (MIX) (difetilguanidina; Dimetilditiocarbamato de zinco; dietilditiocarbamato de zinco a 3%); prometazina a 1%; colofônio a 20%. Ambos os serviços realizaram leituras do TC em 48h e 96h da aplicação das substâncias, e posteriores quando necessário,

conforme critérios e recomendações do International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG). A Tabela 1 evidencia os critérios de leitura das reações e como foram consideradas. A polissensibilização foi definida como alergia a três ou mais haptenos (DITTMAR et al., 2018; SCHNUCH et al., 1997; SCHNUCH; BRASCH; UTER, 2008) da série de padrões brasileiros.

Os critérios de exclusão foram: paciente menor de 18 anos, ausência de resultado do TC para os metais de interesse na leitura de 96h, não comparecimento posterior do paciente com indicação no prontuário da necessidade de repetição do TC. Assim, foram excluídos 17 prontuários de pacientes do Cesteh e 26 da Gamboa.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CEP) da ESNP com o parecer CEP ENSP: 1.828.833.

Os resultados foram apresentados conforme os indicadores do índice MOAHLFA (masculino, dermatite ocupacional, dermatite atópica, dermatite na mão, dermatite na perna, dermatite facial e idade acima de 40 anos) (Schnuch et al. 1997; Uter et al. 2004). A fim de agregar informações sobre o perfil de reação dos alérgenos, além da prevalência usual, foram calculados: o índice de reação (*reaction index*, RI) (BRASCH; HENSELER, 1992) e a razão de positividade (*positivity ratio*, PR) (GEIER et al., 2003; UTER et al., 2004), como indicadores da qualidade do diagnóstico. Por questão de praticidade optou-se por usar neste trabalho o valor complementar da razão de positividade, isto é, a razão das reações extremas (forte ++ e muito forte +++) por todas as reações positivas (+, ++ e +++)), mais utilizada na literatura, como grau de reatividade.

As informações coletadas foram digitadas em planilhas separadas pelo ambulatório de origem do paciente, conforme as informações disponíveis, no software Microsoft® Excel e, posteriormente reunidas numa mesma planilha, de acordo com as informações em comum. As análises estatísticas foram realizadas com a versão 20.0 do software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). A associação entre variáveis de interesse empregou testes específicos como Qui-quadrado (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário, para variáveis qualitativas. Para testar a heterogeneidade de variáveis independentes quantitativas foi utilizado o teste de Mann-Whitney (ou Teste U), não paramétrico como alternativa ao teste T de Student uma vez que os dados não seguem distribuição normal. A avaliação da influência individual de fatores preditivos por análise múltipla foi realizada através de regressão logística. Foi estabelecido nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

Tabela 1: Codificação da notação padronizada* na leitura do teste de contato.

Notação	Apresentação da reação	Para análise de dados
-	Negativa	Negativa
?	Duvidosa, eritema mal definido	Negativa
+	Fraca, leve eritema definido, infiltração e pápulas	Positiva
++	Forte, eritema, infiltração, pápulas e vesículas	Positiva
+++	Muito forte, eritema, infiltração, pápulas, vesículas confluentes com formação de bolhas	Positiva
RI	Irritativa	Negativa

*ICDRG

Resultados

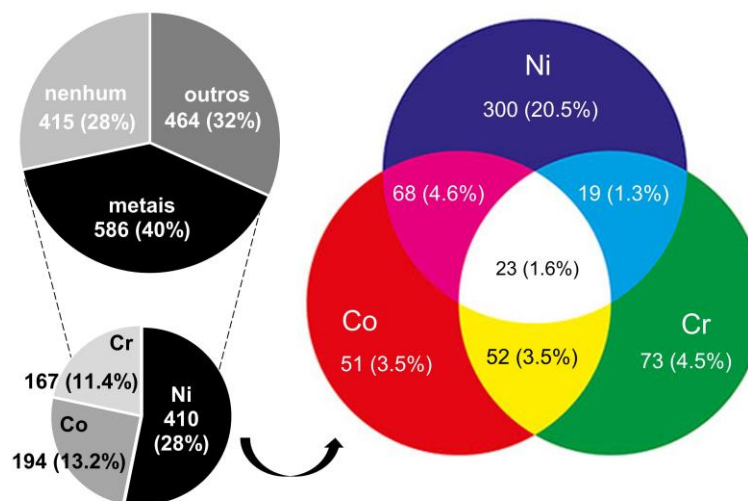
- Resultados gerais e população

A análise final dos prontuários constatou um total de 1465 pacientes submetidos ao TC com a bateria padrão brasileira elegíveis para o estudo sendo, 882 pacientes do Cesteh e 583 pacientes da Gamboa. A faixa etária dos pacientes foi de 18 a 87 anos, os dados demográficos são detalhados na tabela S1 como material suplementar. Houve o predomínio da população feminina (65,1%), não branca (57,8%) (sendo 31.6% de pele parda e 26.2% de pele preta) e residente na região metropolitana (92.3%). A distribuição dos pacientes conforme área de residência é apresentada como material suplementar na tabela S2. Entre os pacientes do Cesteh, apenas 41% foi encaminhado pelo Sistema Único de Saúde Brasileiro (SUS) isto é, sistema público de saúde. Não houve diferença estatística com relação as proporções de resultados positivos/ negativos para os testes da bateria de padrões brasileira entre os dois ambulatorios especializados participantes, incluindo os testes aos metais.

- TC positivo/ negativo, DCA metais, prevalências e variáveis preditivas

Dentre os 1050 (71,7%) pacientes com alguma reação positiva para as preparações testadas na bateria de padrões brasileira, 586 (40%) reagiram a algum desses metais ou mais de um, somando 771 reações positivas a metais. O sulfato de níquel foi o alérgeno de maior prevalência, não apenas entre os metais, mas de toda bateria padrão brasileira: 28% (410/1465). Na sequência os alérgenos mais frequentes foram 18,7% timerosal, 13,4% kathon CG, em quarto lugar o cloreto de cobalto 13.2% (194/1465) e o dicromato de potássio apresentou prevalência de 11,4% (167/1465), quinto mais frequente, figura 1.

Figura 1: Distribuição dos pacientes (n, %) conforme o resultado positivo ao teste de contato: a nenhum agente, a outro agente que não metais, ao menos a um metal e diagrama de Venn ilustra a frequência da cossensibilização.



Entre os pacientes alérgicos a metais a média de idade foi $44,6 \pm 12$ anos (mediana 45, IIQ 35-55), dos quais 189 pacientes (32,3%) eram do sexo masculino, e pelo menos 193 (39,1%) de pele branca. Entre os 28,3% (415) de pacientes para os quais foi observada ausência de reação a todas as substâncias da bateria padrão brasileira a média de idade foi $46,7 \pm 14,8$ anos (mediana 48, IIQ 36-57), sendo 156 (10,6%) do sexo masculino, e pelo menos 155 (10,6%) de pele branca. Das pacientes do sexo feminino 36,4% apresentaram reação ao níquel, sendo esta a única alergia a metais para 28,5% das mulheres neste estudo. Enquanto 25% dos pacientes do sexo masculino apresentou alergia ao cromo, sendo o único alérgeno entre os metais para 11% dos homens. A distribuição estratificada pelo sexo do paciente, tanto do resultado das reações isoladas como da cossensibilização aos metais, pode ser vista na figura S1 como material suplementar.

Os valores das variáveis que compõem o índice MOAHLFA (masculino, dermatite ocupacional, dermatite atópica, dermatite na mão, dermatite na perna, dermatite facial e idade maior de 40 anos) (SCHNUCH et al., 1997; UTER et al., 2004) são apresentados na tabela 2 para toda a população testada, independentemente dos resultados de TC; para os pacientes com resultado negativo a todos os padrões da bateria brasileira; para os pacientes sem reação positiva aos metais mas, com reação positiva a outro alérgeno da bateria padrão brasileira; para os pacientes alérgicos a pelo menos um dos metais estudados; os alérgicos a cada um dos metais separadamente. Incluímos também a variável atopia: rinoconjuntivite, asma brônquica e dermatite atópica, considerada

anteriormente no índice MOAHL (SCHNUCH et al., 1997). A variável dermatite atópica está indicada com restrições: por se tratar de dados secundários e, embora as anotações positivas de dermatite atópica nos prontuários sejam confiáveis, a ausência destas anotações não refletem necessariamente um diagnóstico negativo. Além da própria dificuldade do diagnóstico da dermatite atópica corrobora o reduzido número de consultas de vários pacientes. Entre os grupos de pacientes alérgicos a metais e aqueles alérgicos a outros agentes houve diferença estatística para o eczema nas pernas (p 0,004) e na face (p 0,022).

Os pacientes alérgicos a níquel, cobalto ou cromo apresentaram mediana para a idade respectivamente 43 (IIQ 32-54), 44 (IIQ 35-54) e 50 (IIQ 41-57) anos. O teste de Mann-Whitney demonstrou influência da idade sobre a alergia a níquel (p 0,000) e cromo (p 0,000) mas não sobre a alergia a cobalto (p 0,089). Considerando-se a cor de pele, não houve diferença significativa entre os pacientes com teste positivo para cada um dos metais.

Os pacientes alérgicos a metais apresentaram diferença significativa quanto a distribuição por sexo (p 0,000) em todas as comparações entre cada um dos metais, tabela 2. Quanto a dermatite ocupacional apenas a comparação entre alérgicos a cobalto e os alérgicos a cromo apresentou significância estatística. Não houve associação entre dermatite atópica e reação positiva a nenhum dos metais, tabela 2, indicador A2. O eczema de mãos e a dermatite nas pernas foi significativamente maior entre os alérgicos a cromo.

A tabela 3 apresenta a influência dos fatores preditivos, por análise de regressão logística binária bruta e ajustada para idade, sexo, vínculo ocupacional e eczema de mãos. A alergia ao níquel foi associada significativamente, com idade abaixo de 40 anos (OR 1,339; IC 95% 1,027-1,746), sexo feminino (OR 5,276; IC95% 3,757-7,408) e, os pacientes sensíveis a níquel apresentaram cerca de 2,6 vezes a chance de apresentar sensibilidade a cobalto.

A alergia ao cromo foi associada com idade maior de 40 anos (OR 1,905; IC95% 1,200-3,026), sexo masculino (OR 8,038; IC95% 5,232-12,351), eczema de mãos (OR 8,588; IC95% 5,573-13,236) e, os pacientes sensíveis a cromo apresentam cerca de 8.6 vezes a chance de apresentarem sensibilidade a cobalto.

As lesões mais frequentes ocorreram nas mãos: 61,4%, 49,7% e 47,4% respectivamente para cromo, cobalto e níquel, com diferença estatística entre os três grupos, tabela 2.

Tabela 2: Comparação do índice MOAHLFA na população total e nos grupos de pacientes com teste positivo a algum dos metais e no grupo com testes negativos para metais e positivo para outro padrão da bateria brasileira.

	Toda população	Apenas reações negativas	Outra ^a alérgeno	Metais Ni, Co ou Cr	p ^b valor	Ni	Co	Cr	Ni	Ni	Co
									X Co	X Cr	X Cr
n/n total (%)						n/n total (%)			X ² p valor		
M	511/1465 (34,6)	156/415 (37,6)	166/464 (35,8)	189/586 (37,0)	0,231	63/410 (15,4)	94/194 (48,5)	128/167 (76,6)	0,000	0,000	0,000
O	458/1326 (34,5)	121/382 (31,7)	134/413 (32,4)	203/531 (38,2)	0,066	131/371 (35,3)	72/171 (42,1)	66/154 (42,8)	0,066	0,231	0,011
A¹	148/1465 (10,2)	8/415 (1,9)	53/444 (11,9)	46/582 (7,9)	0,052	36/274 (13,1)	15/97 (15,5)	9/89 (10,1)	0,568	0,277	0,451
H	705/1462 (48,2)	188/415 (45,3)	230/464 (49,6)	287/583 (49,2)	0,913	194/409 (47,4)	96/194 (49,5)	102/167 (61,1)	0,715	0,002	0,000
L	130/1462 (8,9)	166/415 (28,0)	37/464 (8,0)	61/586 (10,4)	0,178	124/309 (30,2)	55/193 (28,4)	67/166 (40,1)	0,000	0,961	0,016
F	411/1462 (2,8)	105/414 (25,3)	152/464 (32,8)	154/586 (26,3)	0,022	113/410 (27,6)	52/194 (26,8)	30/167 (18,0)	0,852	0,030	0,012
A²	982/1465 (67,0)	285/415 (68,7)	319/464 (68,8)	378/586 (64,5)	0,148	245/410 (59,8)	118/194 (60,8)	130/167 (77,8)	0,020	0,000	0,000
Outros fatores											
A³	521/1465 (37,8)	144/384 (37,5)	161/444(36,26)	216/550 (39,3)	0,331	161/365 (44,1)	63/158 (39,9)	48/132 (36,4)	0,367	0,540	0,122
RI						94	66	82			
RP						25	51	31			

Valor de p (teste do qui-quadrado); ^areação positiva no TC para outro alérgeno que não os metais; ^b comparação entre alérgicos a metais e alérgicos a outros agentes; M: sexo masculino, O: ocupacional, A¹: dermatite atópica, H: mão, L: perna, F: face, A²: idade ≥ 40 anos, A³: atopia (rinoconjuntivite e/ou asma brônquica e/ou dermatite atópica). Rio de Janeiro, 2020.

Para os pacientes alérgicos a níquel as demais lesões mais frequentes foram membros superiores (ombros, braços, antebraços e punho) 39,6%, pernas 30,2%, pés 27,9% e face 27,6%. Embora lesões nas orelhas não estivessem entre as mais frequentemente relatadas nos prontuários para alérgicos a níquel (5,6%), houve diferença estatística quando comparados aos não sensíveis a níquel (p 0,033, OR 1,788; IC95%1,040-3,073). Para os pacientes sensíveis a cobalto, outras lesões mais frequentes foram nos membros superiores 48,5%, pernas 28,4% (tabela 2) e, pés 27,8%. Enquanto que para os pacientes sensíveis a cromo, além das mãos, foram mais frequentes as lesões membros superiores 44,6%, nos pés 41,3% e nas pernas 40,1%, tabela 2. A comparação entre pacientes sensíveis e não sensíveis ao cromo apresentou significância estatística: mãos (p 0,023), membros superiores (p 0,022, OR 1,459; IC95% 1,055-2,019); pés (p 0,000; OR 1,875; IC95% 1,322-2,659) e pernas (p 0,016; OR 1,499; IC95% 1,076-2,087).

- DCA metais e ocupação profissional

A localização da lesão nas mãos foi associada com: sexo masculino (p 0,005; OR 1,361; IC95%1,097-1,689), idade maior de 40 anos (p 0,020; OR 1,298 IC95%1,042-1,616) e hipersensibilidade a cromo (p 0,000; OR 1,832; IC95%1,315-2,550), Tabela 3. Houve associação da lesão nas mãos com o trabalho úmido (p 0,003; OR 1,405; IC95% 1,122-1,759) e, com relação aos seguintes ofícios: serviços gerais (p 0,000; OR 1,807; IC95% 1,343-2,433), construção civil (p 0,015; OR 1,587; IC95% 1,091-2,311), cuidador, babá e auxiliares de saúde (p 0,008; OR 2,069; IC95% 1,194-3,585).

Não foi observada associação entre alergia a níquel e fatores ocupacionais (p>0,05), tabela 3. No entanto, atividades ocupacionais exclusivamente com pacientes do sexo feminino, como serviços domésticos mostrou forte associação significativa; enquanto costura (OR 1,80) não apresentou significância, tabela 4, mas foi uma das categorias com maior frequência de alergia a níquel (41,2%). A categoria com maior chance de alergia a níquel foi a de estudantes, composta por 47,2% de alérgicos a níquel, 80,6% do sexo feminino e 97,2% idade abaixo dos 40 anos. Atividade em serviços domésticos e pessoais, a qual exibiu 40,9% de pacientes com reatividade positiva a níquel, apresentou associação significativa mesmo após o ajuste por idade. A atuação com metal/mecânico foi associada a efeito protetor (OR 0,408; IC95% 0,182-0,915), esta categoria era composta por 47 homens (sete dos quais sensíveis a níquel) e três mulheres.

Os resultados positivos de hipersensibilidade a cobalto foram associados a fatores ocupacionais (OR 1,449; IC95% 1,044-2,010), tabela 3, sendo a construção civil a única ocupação associada com a alergia a cobalto (OR 3,70; IC95% 2,455-5,591), tabela 4. A

alergia a cromo apresentou associação com atuação na construção civil e com ocupação relacionada diretamente a metais e/ ou mecânica. A frequência de alergia a cada metal conforme a ocupação, e estratificação por sexo, independente de anotação individual de DCA associada a fatores ocupacionais, pode ser vista na tabela S4 em material suplementar.

Tabela 3: Associação entre fatores preditivos e a hipersensibilidade a níquel, cromo e cobalto, através de *Odds ratio* bruta e ajustada.

Variáveis	TC + ^a	TC - ^b	OR bruta (IC95%)	OR ajustada (IC95%)
	n			
Níquel				
Idade >40 anos	245	737	0,641 (0,505-0,812)****	0,747 (0,573,-0,914) *
Sexo masculino	63	448	0,246 (0,183-0,330)****	0,190 (0,135-,266) ****
Sensibilidade a Co	91	103	2,637 (1,935-3,592)****	3,829 (2,634-5,566)****
Eczema mãos	194	511	0,957 (0,761-1,203) ^{ns}	1,121 (0,868-1,448) ^{ns}
Ocupacional	131	327	1,048 (0,815-1,348) ^{ns}	1,1072 (0,821-1,401) ^{ns}
Cromo				
Idade >40 anos	130	852	1,839 (1,254-2,697)*	1,905 (1,200-3,026) **
Sexo masculino	128	383	7,841(5,370-11,441)****	8,038(5,232-12,351)****
Sensibilidade a Co	75	119	8,077(5,644-11,559)****	8,588(5,573-13,236)****
Eczema de mãos	102	603	1,832 (1,315-2,550)***	1,582 (1,066-2,350) **
Ocupacional	66	392	1,492 (1,061-2,100) *	1,272 (0,855-1,894) ^{ns}
Cobalto				
Idade >40 anos	118	864	0,731 (0,536-0,999) *	0,761 (0,540-1,072) ^{ns}
Sexo masculino	94	417	1,925 (1,419-2,611)****	2,237(1,610-3,107)*****
Eczema de mãos	96	609	1,073 (0,792-1,452) ^{ns}	1,097 (0,790-1,523) ^{ns}
Ocupacional	72	386	1,449 (1,044-2,010) *	1,410 (1,012-1,966) *

^aajustado para idade, sexo, vínculo ocupacional e eczema de mãos; IC: intervalo de confiança; a: número de pacientes com reações positivas a cada metal; b: número de pacientes com reações negativas a cada metal; ^{ns} p > 0,05; * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001; **** p ≤ 0,0001. Rio de Janeiro, 2020.

Tabela 4: Relação entre ocupação e hipersensibilidade a metais. *Odds ratio* bruta^a e ajustada^{b,c}.

Ocupação	OR (IC95%)			
	Análise bivariada ^a	Análise ajustada ^b	Análise bivariada, estratificada	
			Sexo feminino	Sexo masculino
Níquel				
Estudante	2,360 (1,214-4,590) ^{**}	1,380 (0,671-2,838) ^{ns}	1,911 (0,911-4,011) ^{ns}	2,787 (0,529-14,681) ^{ns}
Serviço doméstico	1,955(1,404-2,721) ^{****}	2,155 (1,539-3,017) ^{****i}	1,281(0,911-1,803) ^{ns}	
Costura	1,830(0,915-3,660) ^{ns}	1,989(0,988-4,006) ^{nsi}	1,298(0,642-2,625) ^{ns}	
Comércio e caixa	1,533(1,009-2,327) [*]	1,231(0,797-1,902) ^{ns}	1,399(0,879-2,227) ^{ns}	0,974(0,282-3,364) ^{ns}
Serviços gerais	1,385(1,016-1,889) [*]	1,064(0,772-1,466) ^{ns}	1,066(0,759-1,498) ^{ns}	1,309(0,524-3,269) ^{ns}
Metal/ mecânico	0,408(0,182-0,915) [*]	0,395(0,176-0,889) ^{****i}		1,219(0,521-2,853) ^{ns}
Cromo				
Construção civil	8,681(5,793-13,010) ^{****}	8,595(5,730-12,895) ^{*i}		3,457(2,230-5,358) ^{****}
Metal/ mecânico	2,728(1,418-5,246) ^{***}	2,811(1,458-5,422) ^{*i}		1,114(0,568-2,184) ^{ns}
Cobalto				
Construção civil	3,705(2,455-5,591) ^{****}	3,040(1,887-4,896) ^{****}		3,011(1,872-4,844) ^{****}

^a bruta. ^b ajustado para sexo e idade; ⁱ ajustada por idade; ^{ns} p > 0,05; * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001; **** p ≤ 0,0001. Rio de Janeiro, 2020.

A categoria profissional com maior frequência de reação positiva a metais foi a construção civil, composta por 124 pacientes exclusivamente do sexo masculino. Apresentando hipersensibilidade a cromo, cobalto e níquel, respectivamente: 45,2% e 33,10%. 8,9%. Sendo que 22% deles apresenta cossensibilização a cromo e cobalto, e 4,8% foi cossensibilizado aos três metais. Neste subgrupo, entre aqueles com hipersensibilidade a cromo e/ ou cobalto 71,4% tinha idade maior ou igual a 40 anos. As lesões nas mãos foram as mais frequentes, 59,7%. Pelo menos 5,6% (13/124) eram analfabetos e 44% não terminou o ensino fundamental, havendo diferença significativa (p 0,014; OR 2.407; IC95% 1,561-3,713) comparados com sujeitos do sexo masculino que desempenham outras atividades. Os pacientes que exercem atividade na construção civil apresentaram sensibilização a vários alérgenos, em especial a aceleradores de borracha.

- DCA metais: força de reação e cossensibilização

Dentre os 586 pacientes com reação positiva a algum metal, 162 (26,6%) apresentam cossensibilização, reação positiva a mais de um metal, conforme gráfico de Venn, figura 1. Os valores de índice de reação (RI) e razão de positividade (RP) são apresentados na tabela 2. O grau de reatividade foi 75% para o níquel, 69% para cromo e 49% para cobalto. Tanto para o níquel como para o cromo foi observado maioria de pacientes de sexo masculino apresentando força de reação extrema. A distribuição das reações positivas a níquel e cromo em função de sexo e idade foi colocada como material suplementar, tabela S5. Para pacientes com reações positivas isoladas a cada um dos metais e pacientes cossensibilizados não houve diferença significativa na proporção de reações fracas (+) e extremas (++ e +++). Pacientes cossensibilizados a níquel e cromo apresentaram 94,8% de reações positivas extremas ao níquel. Não houve diferença estatística com relação às reações fracas (p 0,054 teste exato de Fisher; OR 6,438; 0,849-48,830). Estes mesmos pacientes apresentaram 73,4% de reações positivas extremas ao cromo (p 0,573). Cossensibilizados a níquel e cobalto apresentaram 76,4% de reações positivas extremas ao níquel (p 0,730). Cossensibilizados a cromo e cobalto apresentaram 80% de reações positivas extremas ao cromo (p 0,005; OR 2,691 IC 95% 1,333-5,433). Pacientes cossensibilizados aos três metais apresentam 73,9% de reações positivas extremas a níquel (0,285) e 65,2% de reações positivas extremas ao cromo (0,573). A influência de cada metal, separadamente sobre a cossensibilização é apresentada em análise bivariada bruta na tabela 5.

- DCA metais: força de reação e polissensibilização

Um número significativo de pacientes alérgicos a algum dos metais, independente de ocupação, apresentou polissensibilização com outro padrão da bateria brasileira 67,6% (396/ 586, p 0,000) ou da bateria de padrões de cosméticos, 19,1% (109/ 570, p 0,011). Kathon CG, o terceiro alérgeno mais frequente desta população apresentou associação significativa, em análise sem ajustes, apenas com o cromo (p 0,023; OR 0,511; IC95% 0,284-0,919). Observamos que dos 13 pacientes com alergia a cromo e kathon CG, 92% apresentaram reações extremas ao cromo e, 61,5% reações extremas para ambos os alérgenos. Níquel e kathon CG estiveram entre os três padrões com maior proporção de reações extremas (++ e +++), coincidentemente 74,6% em ambos os casos. Dos 66 pacientes com alergia a níquel e kathon CG, 72,7% apresentaram reações extremas a níquel e, 54,5% deles apresentavam reações extremas a ambos.

A Tabela 5 apresenta a associação de cada metal com outros alérgenos, em análise ajustada por sexo e idade. O tratamento dos dados estratificados por sexo, levou a análise de alguns destes padrões em função da ocupação. Assim, foi evidenciada a associação significativa entre a ocupação em serviços domésticos e pessoais e alguns destes alérgenos como: PPD (mix) (p 0,036; OR 1,92; IC95% 1,035-3,833); tiuram (mix) (p 0,020; OR 2,298; IC95% 1,120-4,717); carba (mix) (p 0,046; OR 1,970; IC95% 1,001-3,876) e parafenilendiamina (p 0,001; OR 2,301; IC95% 1,423-3,719). Entretanto, quando estudadas em função da hipersensibilidade a cada metal, estas associações perdem significância estatística.

Considerando todas as possibilidades de alergia a três ou mais haptenos com toda a bateria de padrões brasileira, a polissensibilização atingiu 365 pacientes (24,9%). Quando restringimos a cossensibilização, ou seja, quando mesmo mais de uma reação positiva a metais conta como uma única reação positiva, já que, são reações correlacionadas fruto de exposição simultânea, o número de pacientes polissensibilizados cai para 315 pacientes (21,5%). Considerada a polissensibilização separadamente para cada um dos metais, alternadamente, para não contabilizar a cossensibilização, foi observada diferença significativa em todos os casos, inclusive quando se considera a presença de pelo menos um metal, qualquer que seja. Esta análise, para o níquel foram observados 140 casos de polissensibilização (32,4%), p 0,015; OR 1,353; IC95% 1,059-1,728). A análise com o cobalto observou 91 casos de polissensibilização (21,1%), (p 0,000; OR 2,407; IC95%1,769-3,275). A análise para o cromo observou 84 casos de polissensibilização (19,4%), p 0,000; OR 2,760; IC95%1,990-3,828). E, a análise

considerando pelo menos um metal, qualquer que fosse, observou 229 casos de polissensibilização (53%), (p.0,000; OR 2,133; IC 95% 1,697-2,680).

A influência de cada metal, separadamente sobre a polissensibilização é apresentada em análise bivariada ajustada (por idade e sexo) na tabela 5. O índice MOAHLFA para este subgrupo pode ser visto como material suplementar na tabela S3, assim como análise bivariada bruta da influência de cada uma destas variáveis sobre a polissensibilização. As mulheres apresentaram 1,5 vezes a chance de apresentar polissensibilização, e os pacientes acima de 40 anos apresentaram 1,4 vezes a chance de apresentar polissensibilização. A polissensibilização foi um fator de risco para a dermatite nas mãos (p 0,001; OR 1,475; IC95% 1,162-1,872). A reatividade positiva, a alergia a pelo menos um metal foi um fator de risco para a polissensibilização (p 0,000; OR 8,380; IC95% 6,363-11,036).

Tabela 5: Valores de razão de chances para sensibilidades para os alérgicos a cada um dos metais.

Alérgenos	Níquel	Cobalto	Cromo
	OR (IC95%)		
Padrões Brasileiros			
PPD (mix) ⁺			2,855(1,271-6,414)*
Hidroquinona ⁺	2,437(1,160-5,120)*		
TiuramMix ⁺		3,869(1,894-7,904)****	
Nitrofurazona ⁺	2,126(1,058-4,272)*		
Paraben (mix) ⁺	1,985(1,055-3,736)*		
Carba (mix) ⁺			4,364(2,266-8,405)****
Prometazina ⁺		3,603(1,278-10,168)**	
Colofonio ⁺	2,131(1,146-3,963)*		
Cossensibilização ^a	5,544(4,304-7,139)****	22,361(12,828-38,978)****	11,84(7,327-19,150)****
Polissensibilização ^b	3,390(2,638-4,357)****	10,669(7,602-14,975)****	8,972(6,299-12,780)****

⁺ajustado para idade e sexo. ^{ns} p > 0,05; * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001; **** p ≤ 0,0001; ^a qualquer possibilidade de pelo menos 2 reações positivas, análise bruta ^b qualquer possibilidade de poli sensibilização: 3 reações positivas ou mais, análise bruta.

O tempo médio de tratamento dos pacientes com reação positiva a algum metal foi de 28±48.691 meses e não houve diferença estatística (teste de Mann-Whitney) entre tempos de tratamento para os alérgicos a metais e outros alérgenos. Também não houve diferença nesta população para o tempo de tratamento entre pacientes com reações positivas isoladas para qualquer um dos metais e os pacientes polissensibilizados. Não houve diferença estatística no tempo decorrido até o pedido de realização do TC para

todas as comparações entre os subgrupos mencionados no estudo.

- DCA metais, outras dermatoses ou comorbidades e outros fatores

Não houve registros de pacientes com síndrome sistêmica a níquel na população estudada, mas sim de 18 pacientes (1,2%) alérgicos a níquel cujo tratamento incluiu dieta de baixo níquel por no mínimo 30 dias, com posterior melhora do quadro alérgico em sua maioria e um diagnóstico inconclusivo até a finalização do estudo. A tabela S3 no material suplementar apresenta as variáveis do índice MOAHLFA para este subgrupo, apenas dois pacientes eram do sexo masculino. A proporção de reações extremas (++ e +++) ao níquel foi 83%. Deste subgrupo de pacientes, 11 (61,1%) apresentaram reação positiva apenas ao níquel entre os metais, seis (33,3%) apresentaram cossensibilização ao cobalto e apenas um (5,6%) aos três metais. A polissensibilização ocorreu em seis destes pacientes, um deles apresentando 11 reações positivas no TC além dos metais.

A partir de estudo de relações com comorbidades, foi observado que os pacientes sensíveis a qualquer um dos metais tiveram uma probabilidade significativamente menor de serem diagnosticados com Psoríase (p 0,003; OR 0,350; IC95% 0,173-0,711). Separadamente, apenas com o níquel a associação foi extremamente significativa (p 0,000; OR 0,233; IC95% 0,910-0,595). Outras comorbidades como dermatite de contato irritativa (DCI), dermatite desidrótica, entre outras dermatoses, não apresentaram associação com a dermatite de contato a níquel, cobalto e/ ou cromo neste estudo. A existência de doenças crônicas como hipertensão arterial, diabetes e dislipidemia mostraram associações entre significantes e extremamente significantes, com alergia a níquel e cobalto separadamente. A alergia a níquel ainda foi associada com transtornos psíquicos (ansiedade/depressão) e mostrou uma relação *borderline* com atopia respiratória (rinosinusite, asma bronquica, rinoconjuntivite).

De maneira geral, entre os pacientes com disponibilidade de dados para índice de massa corporal (IMC) (n 513) ou consumo de álcool (n 885) não houve diferença significativa para reação positiva aos metais e/ ou a cada metal separadamente, tanto considerados na totalidade como estratificados por sexo ou faixa etária. Comparando os subgrupos, alérgicos a metais versus alérgicos a outros agentes (p 0,037), ou versus pacientes com todos os resultados negativos (p 0,029), houve diferença estatística quanto a habilidade literária, com maior proporção de pacientes que não chegaram a completar o ensino fundamental (40,1%) entre aqueles com resultado positivo para metais. A habilidade literária foi associada com a alergia a cromo, conforme descrito anteriormente. Houve associação entre carga tabágica e hipersensibilidade a cobalto (p 0,006 teste de

Mann-Whitney) na população em geral e, considerando a subpopulação feminina houve associação com hipersensibilidade a níquel ($p < 0,014$, teste de Mann-Whitney). Por outro lado, não houve associação significativa entre carga tabágica e/ou status tabágico e eczema de mãos ($n = 671$).

Discussão

- DCA metais, prevalência, porção anatômica das lesões

Os resultados do presente estudo demonstraram que a dermatite de contato alérgica abrangeu todas as faixas etárias, etnias e ambos os sexos.

O perfil clínico-ocupacional dos pacientes amostrados, segundo as variáveis analisadas, é semelhante aos descritos na literatura nacional. No entanto, diferentemente de outros estudos brasileiros (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; CALAMITA et al., 2015; DUARTE et al., 2005, 2018, 2013; MIRANDA et al., 2018; REIS; OLIVEIRA; FESTINO, 2012; RODRIGUES et al., 2012) a população amostrada neste estudo é em sua maioria não branca, bastante semelhante a estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para a composição do estado do RJ no ano de 2014 para cor da pele: 47.42% branca, 12.37% preta, 0.77% amarelo, 39.33% parda, 0.10% indígena (IBGE, 2015).

A proporção de pacientes com resultado positivo para ao menos uma preparação da bateria de padrões brasileira encontrada neste estudo foi de 71,7%, fator que aproxima o perfil desta população com a de outras regiões metropolitanas do país: 70,7% e 62,9% em Porto Alegre (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; BRUTTI et al., 2013), 62,8% em Belo Horizonte (RODRIGUES et al., 2012). Enquanto para dois estudos no interior de São Paulo este índice foi de 85% (REIS; OLIVEIRA; FESTINO, 2012) e 91,3% (CALAMITA et al., 2015), este último incluindo crianças e adolescentes. Devido a diferenças entre a bateria brasileira e europeia, não faria sentido comparar esta característica com outros países.

A frequência de pacientes com ao menos um resultado positivo para algum metal foi de 40% neste estudo, superior ao relatado para pacientes em São Paulo, 32% (DUARTE et al., 2018) em ambulatório não especializado em dermatoses ocupacionais; enquanto foi relatado 27,5% entre 2004 e 2008, para pacientes no Irã (KHATAMI et al., 2013). Para população em geral, na Europa, foi relatado 11,4% de resultados positivos para metais em revisão com metaanálise (2007-2017) (ALINAGHI et al., 2019a).

Não encontramos a distribuição das lesões para os alérgicos a cada metal, nos

estudos brasileiros, mas sim relatos sobre a distribuição das lesões para o grupo de alérgicos a qualquer dos metais *versus* outros haptenos. Assim, a região cefálica foi a mais afetada em (DUARTE et al., 2018) 50,5% (2003-2015) e 48,9% em (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011). Naqueles dois estudos as mãos foram a segunda parte do corpo mais afetada, demonstrando crescimento de 37,5% (1995-2002) para 45% (2003-2015) (DUARTE et al., 2018), mesma proporção encontrada 45,1% (2007-2010) por (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011), valores próximos ao que encontramos. No presente estudo, para o grupo alérgico a metais, a proporção de lesão nas mãos foi de 49,2%. A prevalência das mãos e a falta de significância estatística quando comparados o grupo alérgico a outros agentes pode ser um viés de amostragem, com a maioria dos pacientes a partir de ambulatório especializado em saúde ocupacional. Tanto no estudo de Artus (2011) como neste, os membros superiores também estiveram entre as partes mais afetadas. Na Itália, mãos e braços apresentaram frequência de 28,4% (RUI et al., 2013), em concordância com estudos brasileiros, onde membros superiores, membros inferiores e os pés, também foram as lesões mais observadas, com frequências semelhantes entre os estudos (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; DUARTE et al., 2005). A face esteve entre as lesões mais frequentes para alérgicos a metais no presente estudo e para Duarte e colaboradores (2005) 31%.

- DCA níquel, prevalência

Como nas outras regiões do país, o níquel foi o principal alérgeno neste estudo (Rio de Janeiro), 28%, influenciado fortemente por fatores como sexo (OR 5,276 (IC95%3,757-7,408) e idade; pacientes abaixo dos 40 anos apresentaram 1,3 vezes mais chance de serem alérgicos a níquel. Houve concordância com os resultados de pesquisas brasileiras anteriores na área, 33,8% (Artus et al. 2011), 31,4% (RODRIGUES et al., 2012) e 27,98% (Duarte et al. 2018) além de estrangeiras e, como elas também revelou taxas de sensibilização muito mais altas ao sulfato de níquel em mulheres do que nos homens e, mais altas nas mulheres mais jovens do que nas mais velhas (ALINAGHI et al., 2019a; ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011; CALAMITA et al., 2015; CORRÊA-FISSMER et al., 2018; DUARTE et al., 2005, 2018, 2013; REIS; OLIVEIRA; FESTINO, 2012; RODRIGUES et al., 2012; SCHUTTELAAR et al., 2018). Não obstante as marcadas diferenças climática, cultural e de composição étnica, houve grande concordância entre a prevalência a níquel encontrada nos trabalhos brasileiros. Diferenças na seleção de casos (PLOMBOM et al., 2016; REIS; OLIVEIRA; FESTINO, 2012) e alterações metodológicas (CALAMITA et al., 2015) podem justificar flutuações de

valores, ou ainda evidenciar diferenças reais de exposição (AHLSTRÖM et al., 2017; MENNÉ; HOLM, 1983; SCHNUCH; UTER, 2003; TORRES et al., 2009). Esta última, provavelmente a explicação mais plausível para a maior prevalência de níquel, neste mesmo período, nos países onde não existe nenhuma regulação para o níquel, como o Brasil, os pacientes na Turquia (18,3%) (TUNCA; ÇALIŞKAN; YÜREKLI, 2019), no Irã (20%) (KHATAMI et al., 2013) e Índia (43,16%) (SHAIKH e SHAIKH, 2019), população geral na Grécia (25,9%) e com tendência de crescimento como, para os pacientes nos EUA (20,1% em 2013-2014) (WARSHAW et al., 2019) e, aqueles países onde ainda está em implementação: 16,4% na pacientes na Lituânia (BELIAUSKIENE et al., 2011) ou, aqueles onde a regulamentação não é rigorosamente aplicada como Itália (25,9%), Espanha (24,0%) e Polônia (24,2%) (UTER et al., 2016). Em contraste, com a metade desta frequência, 11% na Dinamarca, país que deu início a restrição ao níquel e cuja prevalência vem diminuindo ao longo do tempo (ALINAGHI et al., 2019b; RUI et al., 2013; UTER et al., 2016), e a estimativa para Europa, conforme estudo de metaanálise com dados de 2007 -2017: 16,2% em população geral feminina (ALINAGHI et al., 2019a). Em uma revisão clínica Ahlström e colaboradores (2019) relataram a prevalência de alergia ao níquel na população geral europeia de 8% a 19% em adultos, tendo como as principais causas a exposição ao níquel através de itens de consumo conhecidos, como joias, metais em roupas, e uma grande variedade de itens para uso ocupacional ou privado; exposição esta que se confirma de modo ainda mais ostensivo em produtos utilizados pela população brasileira (PAVESI e MOREIRA, 2020).

Comprovadamente, objetos como chaves e celulares são fonte de exposição a níquel entre brasileiros (AQUINO et al., 2013; HAFNER et al., 2018). Estudos demonstram a associação da alergia a níquel e o uso de brincos entre brasileiros já durante a infância (0 a 12 anos) aumentando a probabilidade de alergia a níquel (BRANDÃO et al., 2010).

- DCA níquel, porção anatômica das lesões

No presente estudo as mãos foram a porção anatômica mais frequente das lesões em pacientes alérgicos ao níquel, o que denota caráter ocupacional (MELO et al., 2019; MIRANDA et al., 2018). A razão disto pode ser o número de trabalhadores com trabalho úmido como serviços gerais e serviço doméstico, ambos apresentaram associação com hipersensibilidade a níquel. Este resultado está em consonância com diversas publicações específicas (Torres et al. 2009; Almutairi and Almutawa 2017; Melo et al. 2019; Agner and Elsner 2020). A frequência para as lesões nas mãos para alérgicos a níquel, 47,4%,

foi maior que a proporção encontrada na Lituânia (21,2%) (BELIAUSKIENE et al., 2011) e mais próxima do relatado no Irã (72,6%) (KHATAMI et al., 2013). Estudo recente com dados de diversos países europeus relata 3,9% de lesões nas mãos para população em geral (SCHUTTELAAR et al., 2018). Pernas (30%), pés (27,9%) e a face (27,6%) foram porções anatômicas de frequentes lesões para os alérgicos a níquel, comparáveis ao observado no Irã: pernas 29% e 38,1% face (KHATAMI et al. 2013) e, bastante superior aos 5,1% para as pernas encontrados na Lituânia (BELIAUSKIENE et al., 2011). Estas lesões não apresentaram associação significativa com o níquel neste estudo, ao contrário de resultados dos EUA (WARSHAW et al., 2019). O uso de bijuterias pode ser a razão para as lesões na face e, principalmente nas orelhas, para as quais observamos diferença estatística. A frequência de lesões na face é semelhante entre os alérgicos a níquel e os alérgicos a cobalto, o que nos leva a questionar se podem ser ocasionadas pelo uso de maquiagem contendo sais destes metais, já que a legislação brasileira regulamenta apenas a presença de chumbo e cádmio em cosméticos. Estudo norte americano lista as 25 principais fontes de níquel (2001-2014), além de bijuterias (primeiro lugar da lista) e acessórios de roupas, inclui cosméticos, produtos de limpeza, sabões e apetrechos de cuidados pessoais (WARSHAW et al., 2019).

- DCA cobalto, prevalência, porções anatômicas das lesões

Depois do níquel, o hapteno com maior prevalência da bateria de padrões brasileira nesta população foi o Timerosal 18,7%, sem que houvesse nenhum caso com relevância clínica. A posição na lista de haptenos e inclusive a frequência relativa do timerosal é bastante semelhante em outros estudos brasileiros: 16,2% (DUARTE et al., 2013) e 18,8% (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011). Ao contrário do Timerosal, o Kathon CG, terceiro lugar na lista, 13,4%, tem apresentado aumento de prevalência e de casos com relevância clínica, ocupacional ou não. Em seguida registramos o cobalto, cuja alta prevalência se justifica pela cossensibilização ao níquel e ao cromo. A sensibilização ao cobalto não ocorre por uma reatividade imunológica cruzada, mas sim pela coexposição a outros metais. Além de níquel e cobalto serem empregados em larga escala na produção de importantes ligas metálicas; desde a mineração, os sais de cobalto aparecem associados aos sais e/ ou minérios de níquel em menor ou maior extensão. Todo minério de níquel tem cobalto e, uma possível separação apresenta grande custo econômico e esforço técnico (CRUNDWELL et al., 2011). O cobalto ainda faz parte da composição do cimento e, penetra a pele sendo solubilizado após a sensibilização da pele pelo cromo, o qual não apenas é abundante no cimento como

altamente solúvel em água (WEINZIERL e WEBB 1972; FREGERT e GRUVBERGER 1978). Estes fatos explicam os valores encontrados em nossa população para associação entre alergia a níquel e alergia a cobalto (OR 3,829; IC95% 2.634-5.566) e entre alergia a cromo e alergia a cobalto (OR 8,588; IC95% 5,573-13,236).

Para a prevalência da alergia a cobalto, o valor encontrado neste estudo de 13,2% e, os de outros trabalhos brasileiros foram bastante semelhantes 13,8% (2003-2015) (DUARTE et al., 2018) e 12,8% (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011); enquanto outros diferiram bastante: 27% (REIS; OLIVEIRA; FESTINO, 2012) e 6,9% (RODRIGUES et al., 2012). Houve semelhança com o encontrado na Polônia (15,3%), a maior prevalência para cobalto relatada no estudo ESSCA (UTER et al., 2016), em virtude de ainda não haver sido plenamente implementada a regulação do cromo. A prevalência relatada em outros países foi, para pacientes: Itália 10,2% (RUI et al., 2010); Irã 8%(KHATAMI et al. 2013); Turquia (5,1%) (TUNCA; ÇALIŞKAN; YÜREKLI, 2019); Dinamarca 3,3% (2002-2017) (ALINAGHI et al., 2019b); Lituânia 4,9% (BELIAUSKIENE et al., 2011); e para população em geral na Grécia 7,53% e no estudo de metaanálise para Europa 2,7% (ALINAGHI et al., 2019a). As frequências das lesões encontradas neste estudo, mãos 49,5%, pernas 28,4% e face 26,8% foram inferiores ao relatado para pacientes no Irã (74,2%, 28,5% e 26,8%) e para pacientes na Dinamarca, onde a alergia ao cobalto cresceu entre 2006-2017 por exposição ao cobalto em sapatos e roupas (57,5% pernas e 12,5% pés) (ALINAGHI et al., 2019b). Encontramos 27,8% dos alérgicos a cobalto com acometimento dos pés e, ainda que a razão disto requeira maiores investigações, justificar como na Dinamarca pelo uso de calçados de couro seria controverso. A favor da causalidade do acometimento dos pés serem o uso de sapatos de couro tratado temos que, uma vez que população advém de saúde pública ou de tratamento de baixo custo, seria esperado maior frequência de calçados já desgastados, talvez com fácil dispersão de cobalto e/ ou cromo liberados. No entanto, o clima extremante quente da região e o hábito local culturalmente difundido do uso de chinelos de borracha, torna mais provável a explicação pelo contato direto com cimento no caso da atividade de construção civil, dadas as características do material: alcalino e higroscópico aliados a abrasão e atrito (ALI, 2010). Uma terceira hipótese é a de que em parte dos casos a sensibilização a aceleradores da borracha sejam corresponsáveis pelas lesões, dada a popularidade local de chinelos de borracha e o uso de botas de serviço e outros sapatos de borracha. A polissensibilização entre os metais e estes padrões foi observado na população. Os alérgicos a cobalto por exemplo, apresentaram 3,9 vezes

mais chance de reações positivas ao tiuram mix, tabela 5, ou o cromo cerca de 4 vezes mais chance de também serem alérgicos a carba mix. A coleta de dados secundários não nos permitiu extrapolar esta discussão, mas espera-se ter um entendimento maior a partir de outro estudo em andamento, com entrevistas a pacientes. Ainda assim, o uso de sapatos antigos não parece explicar totalmente a frequência das lesões.

- DCA cromo, prevalência, porções anatômicas das lesões

O cromo foi o quinto hapteno em frequência de reações positivas da bateria de padrões brasileiros, 11,4%, fortemente associado ao sexo masculino apresentando oito vezes mais chance de alergia a cromo e idade acima de 40 anos apresentando quase duas vezes mais chances (OR 1,905; IC 95% 1,200-3,026), tabela 2, e relacionado a ocupação na construção civil. Estudos brasileiros anteriores apresentaram prevalências semelhantes: 10,34% (DUARTE et al., 2018), 8,1% (RODRIGUES et al., 2012) e 10,5% (ARTUS; BONAMIGO; CAPPELLETTI, 2011) o qual também relata associação com o sexo masculino e ocupação na construção civil, importante questão de saúde laboral que vem sendo totalmente negligenciada, não obstante os dados científicos locais tanto sociais quanto dermatológicos publicados nas últimas décadas (SANTANA e OLIVEIRA 2004; MACEDO et al. 2007; IRIART et al. 2008; MATOS and NÓBREGA 2009; LAZZARINI et al. 2012; MELLO e BARBOSA-BRANCO 2014). Os pacientes com atividade na construção civil serão objeto de um próximo estudo. Em outros países há relatos de valores mais baixos; entre pacientes foram relatados: Irã 6.2% (KHATAMI et al. 2013), Itália 8.7% (RUI et al., 2010), Turquia 4.8% (TUNCA; ÇALIŞKAN; YÜREKLI, 2019), Lituânia 4% (BELIAUSKIENE et al., 2011) e para população em geral: na Grécia 4.76%, e no estudo de metaanálise para Europa 1.8 % (ALINAGHI et al. 2019a), variando até 2.2% na Dinamarca entre 2002 e 2017 (ALINAGHI et al., 2019b). A União Europeia conseguiu reduzir a DCA ao cromo reduzindo a concentração de cromo (VI) para o limite de 2 ppm (0,0002%) através da adição de 0,35% de sulfato ferroso ao cimento. Posteriormente novas regulamentações foram implementadas visando a diminuição da quantidade de cromo (VI) liberada a partir de artigos de couro (SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, 2002; EUROPEAN COMMISSION, 2003; EUROPEAN COMMISSION, 2014).

Com relação a distribuição anatômica das lesões, houve diferença estatística com os não alérgicos a cromo, tanto com relação às mãos (OR 1,582; IC95% 1,066-2,350 ajustado por sexo e idade) como em relação aos membros superiores, pernas e pés. Entre os três metais, o cromo foi o alérgeno mais frequente para os pacientes com lesões nos

pés. Reitera-se aqui, a necessidade de maior investigação para explicar a distribuição das lesões, dada a alta contribuição de cossensibilização cromo/ cobalto. No entanto, dois fatores nos levam a considerar a hipótese de justificar as lesões pelo hábito dos trabalhadores da construção civil atuarem com grande parte do corpo descoberto: o clima excessivamente quente da região e a grande parcela de trabalhadores da construção civil que desenvolve atividade por conta própria, sem necessidade do uso de uniforme de empresa por exemplo ou, sem estar submetido a um serviço de segurança do trabalho, como ocorreria em construtoras corporativas. Novamente houve bastante concordância com as frequências encontradas para as mesmas lesões em pacientes iranianos (KHATAMI et al. 2013). Pacientes italianos também demonstraram prevalência de lesões por cromo nas mãos e braços com diferença estatística com relação a outras lesões (RUI et al., 2010). O estudo europeu ESSCA (OOSTERHAVEN et al., 2019) utilizando metodologia própria, relatou o cromo como um alérgeno de contato comum em pacientes com DCA nas extremidades (braço / mão e perna / pé), e ainda o alérgeno de contato mais frequente em pacientes com DCA dos pés.

- DCA metais, ocupação profissional, polissensibilização

A relevância do níquel como alérgeno ocupacional pode ser difícil de esclarecer, em função de exposição simultânea a compostos irritantes e devido as exposições ao níquel serem muito curtas, mas repetidas muitas vezes, possivelmente de várias fontes. A maior associação causal para dermatite de contato por níquel ocorre em ambiente industrial, especialmente no tratamento de superfície por galvanoplastia. Na região estudada, este tipo de indústria tem pouca expressão e nenhum dos serviços de saúde amostrado chegou a receber nestes anos algum paciente com esta atividade. Foi observada associação da hipersensibilidade a níquel e algumas atividades analisadas: serviços domésticos e pessoais (OR 1,440; IC95% 1,016-2,042), mesmo com análise ajustada por idade, as demais atividades perdem significância na análise ajustada (sexo e idade ou apenas idade) como na análise estratificada pelo sexo. Isto pode ser explicado por estas atividades terem sido desenvolvidas na população estudada preferencialmente ou quase exclusivamente por um dos sexos e, pelo o grande número de atividades diferenciadas diminua o número de sujeitos em cada grupo e subgrupos. Não obstante, estudantes, costura, comércio e caixa, serviços domésticos e pessoais e serviços gerais foram associados com maior chance de sensibilidade a níquel. Estes dois últimos em diversos casos provavelmente relacionados a trabalhos úmidos, favorecendo a sensibilização ocupacional ao níquel (MELO et al., 2019; TORRES et al., 2009). Foram encontradas

associações bastante próximas a análise estratificada por sexo na Itália (RUI et al., 2010) para atividade doméstica e serviços de limpeza (OR 1,12; IC95% 0,95-1,32), ou com tecidos e couro (OR 1,70; IC95% 0,97-2,99), neste estudo “costura”, porém sem diferença estatística. A categoria com maior razão de chances para alergia a níquel, na análise bruta foram os estudantes, uma categoria majoritariamente feminina (80,6%), jovem (97,2% < 40 anos), com crescente utilização de tecnologias eletrônicas que podem ser fonte de níquel (HAFNER et al., 2018), além de possível utilização de aparelho ortodôntico (GALO et al., 2012; PAZZINI et al., 2016). Com relação a comércio e caixas sabe-se que as moedas brasileiras não são fonte de liberação de níquel, entretanto a atividade de costura lida com acessórios (berloques, zíperes, botões) além das próprias agulhas e alfinetes, os quais liberam níquel (WARSHAW et al. 2019; Moreira e Pavesi, no prelo). Por outro lado, a hipótese de que corantes e mordentes metálicos utilizados em tecidos possam liberar cromo ou cobalto em quantidades suficientes para sensibilização está até o momento afastada pelas pesquisas na área (Kawakami et al. 2020). A aparente proteção conferida para a atividades com metais/ mecânica pode ser explicada pela composição do grupo: 47 homens (sete dos quais sensíveis a níquel). Não temos o tempo de permanência na função das três mulheres na atividade, nenhuma delas apresentou hipersensibilidade ao níquel na data do TC. Artus e colaboradores (2011) encontrou maior frequência de sujeitos com atividades na área de limpeza 45,7% com alergia a níquel e cobalto, além de parafenilendiamina e PPD mix entre outros. Alguns dos resultados aqui apresentados coincidem com parte de uma lista de ocupações frequentemente associadas a alergia ao níquel (AHLSTRÖM et al., 2019) entre as quais: mecânicos, serviços de limpeza e funcionários do comércio varejista. Outras das ocupações mencionadas apareceram em pequeno número nesta amostragem e as associações não foram significativas.

A hipersensibilização ao cromo foi fortemente associada a atividade na construção civil e, em análise ajustada por idade, a chance de um trabalhador desta área apresentar alergia a cromo foi cerca de 8,6 vezes maior que de outras ocupações. Conforme discutido anteriormente, a redução da DCA ao cromo está sendo alcançada na União Europeia reduzindo a concentração de cromo (VI) através da obrigatoriedade de adição de sulfato ferroso ao cimento e implementação de medidas complementares (SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, 2002; EUROPEAN COMMISSION, 2003; EUROPEAN COMMISSION, 2014).

Pacientes que exercem atividade na construção civil e em menor proporção em serviços domésticos e pessoais apresentaram sensibilização a aditivos da borracha, além

de princípios ativos comuns em medicamentos e produtos de higiene pessoal. Melo e colaboradores (2019) em estudo sobre dermatite de contato ocupacional (DCO) relata a sensibilização de sujeitos da construção civil para carba-mix (23.9%) e para tiuram-mix (13%), além de neomicina (15.2%). Naquele estudo o acometimento das mãos foi observado em 70.2% dos casos. Artus e colaboradores (2011) relatam para um subgrupo de pacientes de 17 sujeitos com atividade na construção civil as seguintes prevalências: dicromato de potássio 47.1%, cloreto de cobalto 23.5% e tiuram-mix 23.5%. Macedo e colaboradores (2007) para 83 pacientes com atividade na construção civil relata a evolução da dermatite ocupacional ao cromo para a forma crônica mediante a falta de medidas preventivas e expõe as prevalências para os 5 agentes alergênicos mais frequentes: 57% alérgicos a cromo, 34.9% a carba-mix, 30.2% ao cobalto, 27.9% a thiuram-mix, 19.8% a neomicina. Em outro subgrupo de 53 pacientes também da construção civil 24% apresentaram dermatite de contato irritativa e 76% dermatite de contato alérgica, os quais eram sensibilizados a agentes vulcanizadores de borracha (54.7%), ao cromo (64.1%) e ao cobalto (35.8%) (LAZZARINI et al., 2012). A regulamentação sobre a concentração de cromato no cimento através da adição de sulfato ferroso, Diretiva (2003/53/EC) na União Europeia, com iniciativa na Suécia em 1983 reduziu eficientemente a exposição ocupacional ao cromo na construção civil, a ponto da alergia a cromo nos homens suíços apresentar-se em 0.2% e, em Portugal, com implementação tardia da regulamentação apresentar 1.7% para homens, ambos valores na população geral (SCHUTTELAAR et al., 2018). Produtos com compostos epóxi frequentemente são causa de DCO (PONTING et al., 2019), em particular tintas epóxi, materiais de isolamento elétrico, colas epóxi e endurecedores de poliaminas, empregados largamente nas fases de acabamento e revestimento de construções. A prevalência da alergia a resina epóxi entre pacientes de sexo masculino foi de 1.9% na Lituânia (BELIAUSKIENE et al., 2011) e 3.5% em outro estudo brasileiro (MACEDO et al., 2007).

Os resultados deste estudo e da literatura pré-existente evidenciam que o uso de luvas e botas de borracha, ao invés de proteger podem promover o desenvolvimento de dermatites principalmente se a pele estiver previamente lesionada ou utilizados sobre a pele umedecida. Sobre a pele irritada ou fragilizada há maior penetração dos aditivos da borracha que atuam como haptenos para a polissensibilização e, as dermatites se confundem. Desta forma, não apenas são imperativas providencias de higiene do trabalho como fornecer ao trabalhador o equipamento de proteção individual (EPI), ensina-lo a

usar, manter e, exigir o cumprimento das normas de segurança, como se faz necessário garantir que o material deste EPI não seja ele próprio uma agressão a pele. Para isto, a hipersensibilidade do trabalhador deveria ser verificada através da inclusão do teste de contato no exame periódico quando necessário, sobretudo em trabalho úmido ou com agentes cáusticos ou corrosivos, como serviços gerais, serviços domésticos, cuidadores, trabalhadores da saúde e construção civil. Além de maior preparo de médicos do trabalho para identificar as dermatites ocupacionais. E, talvez o mais importante: garantir o acesso do paciente à informação da formulação das luvas e botas, através da própria embalagem.

- DCA metais, força de reação: cossensibilização e polissensibilização

A cossensibilização a metais é bastante comum, pelas razões anteriormente colocadas. A prevalência em casos de cossensibilização deste estudo foi semelhante ao relatado no estudo de Duarte e colaboradores (2018): Ni & Co 4,6% *versus* 6,62%, Cr & Co 3,5% *versus* 2,64%, Cr & Ni 1,3% *versus* 1,4%, Cr & Co & Ni 1,6% *versus* 1,57%. Pacientes iranianos, para os quais também foi encontrada associação significativa entre alergia a cromo e sexo masculino (OR 8,05; IC 95% 4,19-15,47 (KHATAMI et al., 2013) muito semelhante ao nosso estudo, apresentaram cossensibilidade também próximas as do encontradas neste estudo: Ni & Co 3,8%, Cr & Co 1,7%. Os resultados deste estudo com pacientes do Rio de Janeiro contrasta com estudos de pacientes de países onde há não apenas regulamentação quanto ao níquel, mas também quanto a adição de sulfato ferroso ao cimento. A Dinamarca apresenta as frequências de cossensibilização para Ni & Co 1,26%, Cr & Co 0,70%, ambos com relação ao número total de pacientes, assim como os outros estudos mencionados (ALINAGHI et al., 2019b).

Na população estudada houve o predomínio das reações positivas extremas, fortes (++) e muito fortes (+++), sobre as reações positivas fracas (+) para o níquel e o cromo. Assim, a razão de positividade (RP) (GEIER et al. 2003), que verifica a proporção das reações fracas (+) com relação ao total das reações positivas foi 25% para o níquel e 31% para cromo, enquanto o inverso é verificado para o cobalto, com RP 51%. Na prática tem sido mais comum trabalhar com o valor complementar, grau de reação: 75%, 69% e 49% respectivamente para níquel, cromo e cobalto. Alérgenos com menores RP ou, na prática maior proporção de reações extremas com relação às fracas são menos propensos a produzir reações falso-positivas. Os valores de índice de reação (RI) (BRASCH e HENSELER, 1992) 94%, 66% e 82% para níquel cobalto e cromo respectivamente, demonstram a excelente qualidade das leituras dos testes de contato que embasaram os diagnósticos e subsidiaram este trabalho. O menor índice de RI para o cobalto pode ser

compreendido a partir do correspondente RP, isto é, uma vez que predominam as reações fracas sobre as reações extremas, a leitura do TC é dificultada em relação as outras. A importância destes parâmetros pode ser esclarecida quando por exemplo consideramos que nos países em desenvolvimento e, sobretudo no atendimento de saúde pública onde o investimento é baixo, os testes de contato pré-prontos, indubitavelmente melhor padronizados em termos da quantidade de alérgenos aplicados e, portanto, mais reprodutíveis, são economicamente inviáveis. Além de tecnicamente disporem de um número limitado de alérgenos. Infelizmente não temos aplicação dos conceitos de RI e RP na literatura para pacientes brasileiros, sendo este o primeiro trabalho brasileiro, de nosso conhecimento, a apresentar estas informações. O grau de reatividade (+/++/+++) apresenta variação entre países, sendo cogitada por Schuttelaar e colaboradores (2018) a hipótese de influência da cinética da liberação de íons a partir dos objetos metálicos em contato com a pele. O grau de reação mais próximo ao encontrado neste estudo para o níquel (77.5%) foi o observado em Portugal (75%). Não obstante o emprego dos mesmos padrões (sulfato de níquel) e veículos (vasilina sólida) tanto na bateria brasileira como europeia, é preciso fazer a ressalva de que enquanto a população deste estudo é de pacientes, o estudo EDEN Fragrance é composto por população geral (SCHUTTELAAR et al., 2018).

É importante verificar quais as condições que favorecem a polissensibilização, já que além de dificultar o tratamento do paciente, e prejudica a sua qualidade de vida. O sexo feminino, cerca de três em cada cinco pacientes com polissensibilização, dermatite ocupacional e idade acima de 40 anos foram fatores de risco para polissensibilização neste estudo. Carlsen e colaboradores (2008) observaram que quatro em cada cinco pacientes eram do sexo feminino, e ainda um aumento da polissensibilização com o aumento da idade. A população deste estudo apresenta 365 (24,9%) pacientes polissensibilizados, sem restrições de alérgenos. Na Europa foi relatada polissensibilização de 12,7% na Áustria variando até 4,6% na Itália (DITTMAR et al., 2018).

Em geral, a literatura descreve os pacientes polissensibilizados apresentando porcentagem maior de reações positivas extremas (++ e +++) no TC do que os pacientes oligossensibilizados (BRASCH; SCHNUCH; UTER, 2006; CARLSEN et al., 2008; DITTMAR et al., 2018; SCHNUCH; BRASCH; UTER, 2008). As pesquisas evidenciam os sujeitos com múltiplas alergias como uma entidade especial dentro da dermatologia, divididos em dois grupos: característico aumento de susceptibilidade ou, alto risco de exposição (CARLSEN et al., 2008). Entretanto, a análise de resultados deste trabalho não

demonstrou diferença significativa na relação entre o grau de reatividade e a proporção de reações positivas isoladas/ reações com cossensibilização ou polissensibilização. Esta discrepância pode ser devida ao número de participantes desta pesquisa ser inferior aos de estudos multicêntricos publicados e, devido a provável alta exposição dos sujeitos desta pesquisa, inclusive pela ausência de regulamentações restritivas. Desta forma, não seria correto atribuir maior susceptibilidade a DCA a níquel, a cromo e a cobalto a esta população apenas em função da polissensibilização.

Distintamente à análise do cenário geral da polissensibilização (metais e demais padrões da bateria brasileira) para a população estudada, a polissensibilização observada entre metais e os aditivos de borracha e entre os próprios componentes da borracha sugerem que um menor número de reações isoladas e, portanto, maior número de pacientes com polissensibilização aos agentes com maior proporção de reações extremas com relação as reações positivas fracas. Concordando com a mesma tendência observada por outros estudos (BRASCH; SCHNUCH; UTER, 2006; CARLSEN et al., 2008; DITTMAR et al., 2018; SCHNUCH; BRASCH; UTER, 2008).

- DCA metais, outras dermatoses e comorbidades

O subgrupo de pacientes alérgicos a níquel que recebeu indicação de dieta de baixo níquel, apresentou fatores considerados de risco para alergia a níquel (sexo feminino e população mais jovem) mais acentuadas que o total do grupo de alérgico. Conforme comparação do índice MOAHLFA para os que se beneficiaram com a dieta versus os alérgicos a níquel em geral, os primeiros tiveram menos sujeitos do sexo masculino 11,1% x 15,4%, maior contribuição ocupacional 38,9% x 35,3%, dermatite atópica semelhantes 11,1% x 13,1%, tiveram grande diferença quanto a sujeitos acima de 40 anos 38,9% x 59,8%, e algumas diferenças quanto as lesões: 61,1% x 47,4% mãos, 55,6% x 30,2% pernas, e invertendo a tendência 16,7% x 27,6% na face. Talvez a característica mais importante seja que este subgrupo apresentou a força das reações positivas ou, a razão de positividade, cerca de 10% maior que a dos alérgicos em geral, 83% x 75%. Somados a estes fatores pessoais alguns hábitos, que segundo a literatura, aumentam a exposição ao níquel como beber cerveja e fumar. Não tivemos conhecimento do grau de adesão destes pacientes à dieta e ao tratamento, mas parece ter havido benefício, com exceção de uma única paciente cujo diagnóstico permaneceu inconclusivo até o final desta investigação.

Foi observada diminuição de probabilidade de diagnóstico de psoríase para pacientes com alergia a algum dos metais, especialmente a alergia a níquel (OR 0,233;

IC95% 0,91-0,595). Nossos resultados estão em concordância com recentes estudos específicos (CLASSEN et al., 2019) que sugerem associação inversa entre alergia de contato e psoríase para alguns alérgenos, cuja razão parece estar nas respostas imunes induzidas por cada hapteno, já que a resposta imune desencadeada por esses alérgenos difere significativamente das citocinas inflamatórias envolvidas na psoríase. Classen e colaboradores (2019) relatam associações para níquel (OR 0,75; IC95% 0,65-0,86), cobalto (OR 0,70; IC95% 0,56-0,87) e cromo (OR 0,56; IC95% 0,42-0,72). Efeito semelhante foi relatado na América do Norte (WARSHAW et al., 2019); OR 0,77; IC95% 0,69-0,86) alérgicos a níquel versus não alérgicos.

Um melhor conhecimento sobre a prevalência de alérgenos na comunidade é imprescindível para a elaboração de uma boa estratégia que possibilite a melhor abordagem dos casos de dermatite de contato (DC) e sua prevenção.

Pela primeira vez se apresenta um panorama da dermatite de contato alérgico especificamente a metais no estado do Rio de Janeiro. A amostragem realizada neste trabalho conseguiu incluir representação de oito das nove regiões administrativas da Secretaria de Saúde deste estado, o que reflete a importância de ambos os centros de tratamento para a saúde da pele não apenas na cidade, mas também no estado do Rio de Janeiro. A constatação do deslocamento de até 200 km por parte do paciente denota a dificuldade e/ ou a escassez de atendimento especializado em dermatologia. O requerimento de pessoal experiente para a leitura dos testes de contato e, a duração de 96h dificulta a manutenção deste tipo de serviço. Não obstante, a constatação de que um serviço público altamente especializado receba apenas 41% de pacientes encaminhados pelo Sistema Único de Saúde sugere a necessidade de maior divulgação dos serviços prestados pelo próprio sistema de saúde e, ainda a facilitação de subsídio de transporte para acesso por parte dos pacientes que precisam vencer distância e custo a fim obter um diagnóstico imprescindível aos seus tratamentos.

Outra vantagem do nosso estudo é a de que a pelo menos um membro da equipe nos dois ambulatórios realizou as leituras de TC durante todo o tempo, além de uma dermatologista compor as duas equipes.

Limitações do estudo são próprias do tipo de estudo realizado: banco de dados obtido por fontes secundárias (relatórios dos exames e prontuários), ocorrendo o registro incompleto de algumas informações, em especial a respeito de diagnóstico de dermatite atópica. Indisponibilidade de coleta de dados pela falha de anotações originais. Houve dificuldade com relação ao acompanhamento da evolução do quadro e a história prévia

de saúde do paciente, inclusive da relevância do resultado positivo ao TC. Quanto a história prévia de dermatite atópica, era evidente quando anotada a presença, mas sem que a ausência de anotação realmente indique um registro negativo da patologia. Da mesma forma foi prejudicada a informação sobre o status tabágico dos pacientes. Outro fator limitante, também inerente a estudos de base hospitalar é a formação da população por pacientes que procuraram aos serviços de saúde, isto é, nossos resultados podem ser afetados por viés de seleção, já que apenas pacientes realmente incomodados buscaram ajuda médica. Neste sentido, apresentação de resultados seguindo os atuais parâmetros internacionais, em especial índice MOAHALFA, além de RI e PR, permitirá uma comparação mais eficiente de resultados com outros centros de pesquisa.

Conclusões

O níquel foi identificado como o alérgeno mais frequente da bateria de padrões brasileira (28%) além de ser o mais prevalente entre os metais neste estudo. A prevalência do cobalto e do cromo foram respectivamente 13,2% e 11,4%, correspondendo ainda ao quarto e quinto alérgeno mais frequente da bateria de padrões brasileira. As mãos foram as porções anatômicas principalmente afetadas por DCA a metais. Não houve diferença estatística com relação a cor da pele para alérgicos a metais ou para pacientes com alguma reação positiva para a bateria de padrões brasileira. O níquel ocorreu marcadamente na população feminina jovem, manifestando-se antes dos 40 anos de idade e sem associação ocupacional. Ao contrário, o cromo prevaleceu entre os homens acima de 40 anos ativos na construção civil. O principal fator de risco para a hipersensibilidade a cobalto foi a alergia a níquel ou a cromo. Fica evidente a necessidade de maiores investigações quanto ao perfil de exposição de pacientes alérgicos ao cobalto que permanece pouco compreendido.

A hipersensibilidade a metais foi um importante fator de risco para polissensibilização, que afetou 24,9% da população. As polissensibilizações mais importantes com os metais foram aditivos de borracha presentes nos equipamentos de proteção individual, principalmente para os sujeitos com atividade na construção civil. Novo estudo é necessário para esclarecimento das relações de polissensibilização nesta população.

A alergia a níquel não apresentou caráter ocupacional. Estudos posteriores são necessários para confirmar a exposição ao níquel através de bens de consumo como em diversos lugares do mundo. Trabalhadores da construção civil foram hipersensibilizados

não apenas ao cromo e ao cobalto presentes no cimento, mas ainda são polissensibilizados aos componentes dos materiais (EPIs) que deveriam protegê-los.

A falta de regulamentação e normatização de produtos contendo principalmente níquel e cromo em sua composição tanto de modo restritivo como informativo, podem ser as principais causas de adoecimento e o principal obstáculo no tratamento da dermatite de contato alérgica a metais no Brasil.

Referências

AGNER, T.; ELSNER, P. Hand eczema: epidemiology, prognosis and prevention. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 34, n. S1, p. 4–12, 2020.

AHLSTRÖM, M. G. et al. Nickel allergy in a Danish population 25 years after the first nickel regulation. *Contact Dermatitis*, v. 76, n. 6, p. 325–332, jun. 2017.

AHLSTRÖM, M. G. et al. Nickel allergy and allergic contact dermatitis: A clinical review of immunology, epidemiology, exposure, and treatment. *Contact Dermatitis*, v. 81, n. 4, p. 227–241, 2019.

ALI, A. S. *Dermatoses ocupacionais*. [s.l.] Fundacentro, São Paulo, 2010. 412p

ALINAGHI, F. et al. Prevalence of contact allergy in the general population: A systematic review and meta-analysis. *Contact Dermatitis*, v. 80, n. 2, p. 77–85, 2019a.

ALINAGHI, F. et al. Causative exposures and temporal development of cobalt allergy in Denmark between 2002 and 2017. *Contact Dermatitis*, v. 81, n. 4, p. 242–248, out. 2019b.

ALMUTAIRI, N.; ALMUTAWA, F. The role of nickel allergy in hand dermatitis and its impact on handling cupronickel currency coins. A comparative cohort study from Kuwait. *Advances in Dermatology and Allergology*, v. 34, n. 4, p. 313–321, ago. 2017.

AQUINO, M. et al. Mobile Phones: Potential Sources of Nickel and Cobalt Exposure for Metal Allergic Patients. *Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology*, v. 26, n. 4, p. 181–186, 1 dez. 2013.

ARTUS, G.; BONAMIGO, R. R.; CAPPELLETTI, T. Dermatite de contato alérgica: prevalência dos agentes sensibilizantes em amostra de Porto Alegre, Brasil. *Revista da AMRIGS*, v. 55, n. 2, p. 155–159, 2011.

BELIAUSKIENE, A. et al. The European baseline series in Lithuania: results of patch testing in consecutive adult patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 25, n. 1, p. 59–63, 2011.

BRANDÃO, M. H. T. et al. Ear piercing as a risk factor for contact allergy to nickel. *Jornal de Pediatria*, v. 86, n. 2, p. 146–154, abr. 2010.

BRASCH, J.; HENSELER, T. The reaction index: a parameter to assess the quality of patch test preparations. *Contact Dermatitis*, v. 27, n. 3, p. 203–204, set. 1992.

BRASCH, J.; SCHNUCH, A.; UTER, W. Strong allergic patch test reactions may indicate a general disposition for contact allergy. *Allergy*, v. 61, n. 3, p. 364–369, 2006.

BRUTTI, C. S. et al. Occupational and non-occupational allergic contact dermatitis and quality of life: a prospective study. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 88, n. 4, p. 670–671, ago. 2013.

CALAMITA, Z. et al. Main Allergens Observed in Patients with Contact Dermatitis in a Brazilian Population Group. *The Open Dermatology Journal*, v. 9, n. 1, 2 nov. 2015.

CARLSEN, B. C. et al. Patients with multiple contact allergies: a review. *Contact Dermatitis*, v. 58, n. 1, p. 1–8, 2008.

CLASSEN, A. et al. The frequency of specific contact allergies is reduced in patients with psoriasis. *The British Journal of Dermatology*, v. 180, n. 2, p. 315–320, fev. 2019.

CORRÊA-FISSMER, M. et al. Assessment of patch test results carried out during ten years in a city in southern Brazil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 93, n. 6, p. 807–812, dez. 2018.

CRUNDWELL, F. K. et al. Chapter 1 - Overview. In: CRUNDWELL, F. K. et al. (Eds.). *Extractive Metallurgy of Nickel, Cobalt and Platinum Group Metals*. Oxford: Elsevier, 2011. p. 1–18.

DITTMAR, D. et al. European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA): polysensitization, 2009–2014. *Contact Dermatitis*, v. 78, n. 6, p. 373–385, jun. 2018.

DUARTE, I. et al. Metal contact dermatitis: prevalence of sensitization to nickel, cobalt and chromium. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 80, n. 2, p. 137–142, 2005.

DUARTE, I. et al. Nickel, chromium and cobalt: the relevant allergens in allergic contact dermatitis. Comparative study between two periods: 1995–2002 and 2003–2015. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 93, n. 1, p. 59–62, fev. 2018.

DUARTE, I. A. G. et al. Patch test standard series recommended by the Brazilian Contact Dermatitis Study Group during the 2006–2011 period. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 88, n. 6, p. 1015–1018, dez. 2013.

European Commission, 2003 European Commission. Directive 2003/53/EC of the European Parliament and of the Council. OJEU L178/24; 2003.

European Commission, 2014 Commission Regulation (EU) No 301/20 European Commission, 2014. OJEU L90/1–3; 2014.

FREGERT, S.; GRUVBERGER, B. Solubility of cobalt in cement. *Contact Dermatitis*, v. 4, n. 1, p. 14–18, 1978.

GALO, R. et al. Effects of chemical composition on the corrosion of dental alloys. *Brazilian Dental Journal*, v. 23, n. 2, p. 141–148, 2012.

GEIER, J. et al. The positivity ratio – another parameter to assess the diagnostic quality of a patch test preparation. *Contact Dermatitis*, v. 48, n. 5, p. 280–282, 2003.

(GBEDC) Grupo Brasileiro de Estudo em Dermatite de Contato do Departamento Especializado de Alergia em Dermatologia da Sociedade Brasileira de Dermatologia. Estudo multicêntrico para elaboração de uma bateria-padrão brasileira de teste de contato. *Anais Brasileiros de Dermatologia*; 75, 147-56; 2000.

HAFNER, M. DE F. S. et al. Evaluation of nickel and cobalt release from mobile phone devices used in Brazil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 93, n. 1, p. 151–153, fev. 2018.

IRIART, J. A. B. et al. Representações do trabalho informal e dos riscos à saúde entre trabalhadoras domésticas e trabalhadores da construção civil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 13, p. 165–174, fev. 2008.

KHATAMI, A. et al. Allergic contact dermatitis to metal allergens in Iran. *International Journal of Dermatology*, v. 52, n. 12, p. 1513–1518, dez. 2013.

LAZZARINI, R. et al. Allergic contact dermatitis among construction workers detected in a clinic that did not specialize in occupational dermatitis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 87, n. 4, p. 567–571, ago. 2012.

MACEDO, M. S. et al. Contact allergy in male construction workers in Sao Paulo, Brazil, 2000-2005. *Contact Dermatitis*, v. 56, n. 4, p. 232–234, abr. 2007.

MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A. Chromium speciation in cement and cement-related materials from Brazil. *Química Nova*, v. 32, n. 8, p. 2094–2097, 2009.

MELLO, T. A. DE; BARBOSA-BRANCO, A. Prevalência de benefícios auxílio-doença entre trabalhadores da Construção no Brasil em 2009. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v. 39, n. 130, p. 224–238, dez. 2014.

MELO, M. DAS G. M. et al. Sociodemographic and clinical profile of patients with occupational contact dermatitis seen at a work-related dermatology service, 2000 - 2014. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 94, n. 2, p. 147–156, abr. 2019.

MENNÉ, T.; HOLM, N. V. Hand eczema in nickel-sensitive female twins. Genetic predisposition and environmental factors. *Contact Dermatitis*, v. 9, n. 4, p. 289–296, jul. 1983.

MIRANDA, F. M. D. et al. Dermatoses ocupacionais registradas em sistema de notificação na região Sul do Brasil (2007 a 2016). *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, v. 16, n. 4, p. 442–450, 2018.

MOREIRA, J.C.; PAVESI, T. A comprehensive study of nickel levels in everyday items in Brazil; *Contact Dermatitis*, no prelo, 2020

OOSTERHAVEN, J. A. F. et al. European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA): Contact allergies in relation to body sites in patients with allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis*, v. 80, n. 5, p. 263–272, maio 2019.

PAZZINI, C. A. et al. Nickel-free vs conventional braces for patients allergic to nickel: Gingival and blood parameters during and after treatment. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, v. 150, n. 6, p. 1014–1019, 1 dez. 2016.

PLOMBOM, G. Y. et al. Epidemiological analysis of occupational dermatitis notified in Brazil in the period 2007 to 2012. *Anais Brasileiros De Dermatologia*, v. 91, n. 6, p. 732–736, dez. 2016.

PONTING, D. J. et al. Development of New Epoxy Resin Monomers - A Delicate Balance between Skin Allergy and Polymerization Properties. *Chemical Research in Toxicology*, v. 32, n. 1, p. 57–66, 22 2019.

REIS, F. R. D.; OLIVEIRA, J. I. DE; FESTINO, F. S. Perfil clínico-ocupacional e resultados dos testes de contato dos pacientes atendidos em um ambulatório terciário de medicina do trabalho. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, v. 10, n. 1, p. 95–99, 2012.

RODRIGUES, D. F. et al. Results of patch-tests from Santa Casa de Belo Horizonte Dermatology Clinic, Belo Horizonte, Brazil, from 2003 to 2010. *Anais Brasileiros De Dermatologia*, v. 87, n. 5, p. 800–803, out. 2012.

RUI, F. et al. Nickel, cobalt and chromate sensitization and occupation. *Contact Dermatitis*, v. 62, n. 4, p. 225–231, abr. 2010.

RUI, F. et al. Nickel, chromium and cobalt sensitization in a patch test population in north-eastern Italy (1996-2010). *Contact Dermatitis*, v. 68, n. 1, p. 23–31, jan. 2013.

SANTANA, V. S.; OLIVEIRA, R. P. Saúde e trabalho na construção civil em uma área urbana do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 20, n. 3, p. 797–811, jun. 2004.

Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment. Risks to health from chromium (VI) in cement. European Commission Directorate-General Health and Consumer Protection. Chromium VI 270622002. Brussels; 2002.

SCHNUCH, A. et al. National rates and regional differences in sensitization to allergens of the standard series. Population-adjusted frequencies of sensitization (PAFS) in 40,000 patients from a multicenter study (IVDK). *Contact Dermatitis*, v. 37, n. 5, p. 200–209, nov. 1997.

SCHNUCH, A.; BRASCH, J.; UTER, W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. *Allergy*, v. 63, n. 2, p. 156–167, 2008.

SCHNUCH, A.; UTER, W. Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions. *Contact Dermatitis*, v. 49, n. 2, p. 107–108, ago. 2003.

SCHUTTELAAR, M. L. A. et al. Prevalence of contact allergy to metals in the European general population with a focus on nickel sulfate and piercings: The EDEN Fragrance Study. *Contact Dermatitis*, 10 abr. 2018.

SHAIKH, W. A.; SHAIKH, S. W. ALLERGIES IN INDIA- A STUDY OF 6270 PATIENTS. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, v. 8, n. 10, p. 657–661, 11 mar. 2019.

TORRES, F. et al. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology : CCID*, v. 2, p. 39–48, 17 abr. 2009.

TUNCA, M.; ÇALIŞKAN, E.; YÜREKLI, A. Frequent contact allergens in Ankara/Turkey: A retrospective study of patch test results. *TURKDERM*, v. 53, n. 2, p. 49–52, 11 jul. 2019.

UTER, W. et al. Guidelines for the descriptive presentation and statistical analysis of contact allergy data. *Contact Dermatitis*, v. 51, n. 2, p. 47–56, ago. 2004.

UTER, W. et al. ESSCA results with nickel, cobalt and chromium, 2009–2012. *Contact Dermatitis*, v. 75, n. 2, p. 117–121, 2016.

WARSHAW, E. M. et al. Epidemiology of nickel sensitivity: Retrospective cross-sectional analysis of North American Contact Dermatitis Group data 1994-2014. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 80, n. 3, p. 701–713, 1 mar. 2019.

WEINZIERL, S. M.; WEBB, M. Interaction of carcinogenic metals with tissue and body fluids. *British Journal of Cancer*, v. 26, n. 4, p. 279–291, ago. 1972.

Material suplementar

Tabela S1: Dados demográficos da população submetida ao teste de contato, comparando por centro de saúde originário do paciente.

Característica	N (%)	
	Cesteh	Gamboa
Masculino****	356/882 (40.4)	155/583 (26.6)
> 40 anos	597/882 (67.7)	385/583 (66)
Cor da pele ^{a, ns}		
Branca	321/777 (41.3)	172/392 (43.9)
Parda	266/777 (34.2)	103/392 (26.3)
Preta	190/777 (24.5)	117/392 (29.8)
TC positivo ^{b, ns}	230/583 (39.5)	356/882 (40.4)

^a pele branca x não branca; ^balgum resultado positivo para a bateria de padrões brasileira; ^{ns}p>0,05; ****p ≤ 0,0001. Rio de Janeiro, 2020.

Tabela S2: Região de residência dos pacientes atendidos.

Região	%		
	Cesteh	Gamboa	Total
Metropolitana I ^a	94.2	89,0	92.3
Metropolitana II ^b	2.8	8.9	5.1
Centro Sul ^c , Médio Paraíba ^d e Serrana ^e	0.9	1.4	1.1
Baixada Litorânea ^f e Norte ^g	0.3	0.6	0.4
Baía da Ilha Grande ^h	0.2	0,0	1.1
Outro estado	0,0	1.1	0.1

^aMetropolitana I: Belford Roxo, Duque de Caxias, Itaguaí, Japeri, Magé, Mesquita, Nilópolis, Nova Iguaçu, Queimados, Rio de Janeiro, São João de Meriti, Seropédica. ^bMetropolitana II: Itaboraí, Maricá, Niterói, Rio Bonito, São Gonçalo, Silva Jardim, Tanguá. ^cCentro Sul: Areal, Comendador Levy Gasparian, Engenheiro Paulo de Frontin, Mendes, Miguel Pereira, Paracambi, Paraíba do Sul, Paty do Alferes, Sapucaia, Três Rios, Vassouras. ^dMédioParaíba: Barra do Pirai, Barra Mansa, Itatiaia, Pinheiral, Pirai, Porto Real, Quatis, Resende, Rio Claro, Rio das Flores, Valença, Volta Redonda. ^eSerrana: Bom Jardim, Cachoeiras de Macacu, Cantagalo, Carmo, Cordeiro, Duas Barras, Guapimirim, Macuco, Nova Friburgo, Petrópolis, Santa Maria Madalena, São José do Vale do Rio Preto, São Sebastião do Alto, Sumidouro, Teresópolis, Trajano de Moraes. ^fBaixada Litorânea: Araruama, Armação dos Búzios, Arraial do Cabo, Cabo Frio, Casimiro de Abreu, Iguaba Grande, Rio das Ostras, São Pedro da Aldeia, Saquarema. ^gNorte: Campos dos Goytacazes, Carapebus, Conceição de Macabu, Macaé, Quissamã, São Fidélis, São Francisco de Itabapoana, São João da Barra. ^hBaía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Mangaratiba, Paraty. Nordeste: Aperibé, Bom Jesus de Itabapoana, Cambuci, Cardoso Moreira, Italva, Itaocara, Itaperuna, Laje do Muriaé, Miracema, Natividade, Porciúncula, Santo Antônio de Pádua, São José de Ubá, Varre-Sai. Rio de Janeiro, 2020.

Figura S1: Distribuição das reações aos metais individuais e cossensibilização estratificada pelo sexo do paciente.

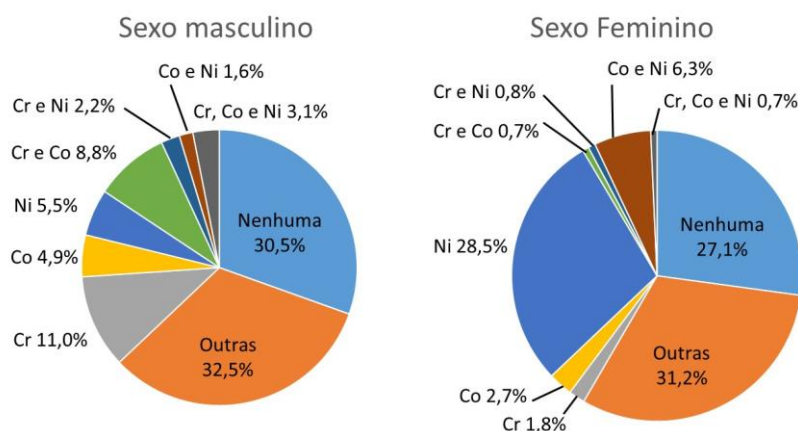


Tabela S3: Índice MOAHLFA para alguns subgrupos considerados no estudo

	Dieta de baixo níquel	Trabalhadores da construção civil	Polissensibilização [‡]	
	%	%	%	OR (IC95%)
M	11,1	100,0	38,4	1,378 (1,047-1,815)*
O	38,9	66,1	36,7	1,126 (0,858-1,477) ^{ns}
A ¹	11,1	0,8	1,6	0,670 (0,256-1,755) ^{ns}
H	61,1	59,7	59,7	1,447(1,126-1,860)**
L	55,6	45,2	35,6	1,229(0,945-1,598) ^{ns}
F	16,7	21,0	26,7	0,918(0,693-1,216) ^{ns}
A ²	38,9	72,6	72,4	1,378(1,047-1,815)*

M: sexo masculino, O: ocupacional, A¹: dermatite atópica, H: mão, L: perna, F: face, A²: idade \geq 40 anos, A3: atopia (rinoconjuntivite e/ou asma brônquica e/ou dermatite atópica). [‡]acima de 3 reações positivas, considerando os três metais como uma única reação; ^{ns} $p > 0,05$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$. Rio de Janeiro, 2020.

Tabela S4: Frequência de reação positiva para cada metal por ocupação do paciente.

Ocupação principal	Masculino			Feminino			Total
	Níquel	Cobalto	Cromo	Níquel	Cobalto	Cromo	
				%			
Beleza				31,10	6,70	6,70	3,3
Camareira				40,0	10,0	20,0	0,9
Comércio e caixa	12,50	29,20	20,80	43,80	13,50	2,50	7,5
Construção civil	8,90	33,10	45,20				9,0
Costura				42,40	9,10		2,5
Cuidador e Auxiliar de saúde	7,10	14,30	14,30	40,0	4,40		4,3
Educação, Administração e Direito	14,80	7,40	14,80	33,30	13,90	2,80	7,2
Estudante	28,60	14,30		51,70	20,70		2,5
Metal/ Mecânico	14,90	10,60	27,70				3,4
Produção e manipulação de alimentos ^b	22,70	13,60	31,80	33,30	13,70	2,0	5,0
Química e tintas	6,70	16,70	4,0	33,30	4,20	12,50	3,9
Recepção e telefonista	15,40	15,40	15,40	33,30	12,50		2,5
Saúde				28,60	14,30		1,1
Serviços domésticos e pessoais				41,20	11,80	5,90	11,7
Serviços gerais	15,80	10,50	23,70	37,50	11,20	4,50	14,7
Transporte	21,70	17,40	26,10				1,7
Outros	4,50	13,60	9,10	18,50	0,0	11,10	5,1
Aposentados	17,5	9,7	7,1	4,9	6,2	7,9	8,1
Desempregados	3,2	2,5	3,1	1,5	1,0	2,6	2,5

Rio de Janeiro, 2020.

Tabela S5: Distribuição de reações positivas (%) para níquel e cromo conforme a força da reação.

Força da reação	Ni			Cr		
	Total	Sexo masculino	> de 40 anos*	Total	Sexo masculino	> de 40 anos*
	N	%	%	N	%	%
Negativa	1055	42,5	69,9	1298	29,5	65,6
Positiva						
Fraca	104	14,4	62,5	52	61,5	75,0
Forte	153	13,7	59,5	48	83,3	77,1
Muito forte	153	17,6	58,2	67	83,6	80,6

*Ambos os sexos. Rio de Janeiro, 2020.

Artigo 3

4.3 “*Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans*”

Thelma Pavesi, Josino Costa Moreira

No momento da entrega do manuscrito desta tese o artigo finalizado já estava disponível em pré-publicação em modo “early view”, no Journal of Applied Toxicology podendo ser acessado através do link: <http://dx.doi.org/10.1002/jat.3965>

A versão a seguir foi submetida, não corresponde em exatidão à versão publicada durante o processo de apresentação e defesa desta tese.

MINIREVIEW**MECHANISMS AND INDIVIDUALITY IN CHROMIUM TOXICITY IN HUMANS**

Short title: Mechanisms and individuality in chromium toxicity

Thelma Pavesi ^a

Josino Costa Moreira ^{a, b}

^a Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz

^b Correspondence: Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, rua: Leopoldo Bulhões, 1480 - Manguinhos, cep 21041-210, Rio de Janeiro – RJ, Brazil. By telephone: +55 21 2598 2820, by e-mail Josino.moreira@fiocruz.br

Keywords: chromium toxicity, chromium susceptibility, polymorphism, formation of DNA-Cr; formation of DNA-protein-Cr adducts.

MECHANISMS AND INDIVIDUALITY IN CHROMIUM TOXICITY IN HUMANS

ABSTRACT

With regards to health, chromium (Cr) is an ambiguous chemical element. Although it is considered to be an important micronutrient, it also is related with several pathologies, including carcinogenicity. The mechanism of action of Cr and its compounds in humans is not yet fully understood. Currently, three possible mechanisms have been proposed for carcinogenesis: Cr(VI)-induced multistage carcinogenesis, genomic instability, and epigenetic modification. Therefore, in addition to the toxicity of this metal and its ions, human susceptibility to Cr-induced pathologies depends on external factors and individual characteristics, such as enzymatic polymorphisms, carriers, endogenous reducing system, adduct formation and stability, and efficiency of DNA repair mechanisms, among other factors. In fact, the variability of individual molecular constitutive factors, such as individual polymorphisms, creates an individualized environment for chromium toxicity. This review contemplates the essential variables in this process.

Keywords: chromium toxicity, chromium susceptibility, polymorphism, formation of DNA-Cr; formation of DNA-protein-Cr adducts.

Running title: Mechanisms and individuality in chromium toxicity

Short Abstract

Chromium is related with several pathologies including carcinogenicity. In addition to the toxicity, human susceptibility to Cr-induced pathologies depends on external factors and individual characteristics, such as enzymatic polymorphisms, carriers, endogenous reducing system, adduct formation and stability, and efficiency of DNA repair mechanisms, among other factors. The variability of individual molecular constitutive factors, such as individual polymorphisms, creates an individualized environment for chromium toxicity. This mini review contemplates the essential variables in this process.

1. INTRODUCTION

Since the first report of cancer in chromium (Cr)-exposed workers approximately 130 years ago, Cr(VI) compounds have been on the list of potential chemical threats to human health in urban areas. Since 1950, numerous epidemiological studies have linked phenotypes of specific diseases, such as bronchogenic carcinoma with Cr(VI) especially in occupational environments. More recently, Cr has been associated in the etiology of stomach cancer (Welling et al., 2015). Currently, Cr exposure is associated with a variety of diseases, from dermal exposure, which induces a hapten sensitization via an inflammasome activation mechanism, to carcinogenicity with various forms of exposure and mechanisms, including genomic instability or epigenetic alterations (Fang et al., 2014; Feng et al., 2018), and respiratory, hepatic, renal, and reproductive problems and neurological disorders (IARC 1990).

There has been a recent increase in the number of genetic and epigenetic studies in order to clarify the different phases of the interaction of Cr with the human body. Specifically, they have looked for an association between individual candidate genes and certain pathologies (Hansen et al., 2005; Yamada et al., 2000; Wang et al., 2007; Arakawa et al., 2012; Anoushirvani et al., 2019) or the variety of responses due to polymorphic variations (Lee et al., 2005; Halasova et al., 2012; Zhang et al., 2012; Wang et al., 2016) and epigenetic factors (Ali et al., 2011; Feng et al., 2018).

The relationship between human susceptibility and health disorders associated with exposure to a toxic agent is not direct; rather, it is an individual characteristic. The major determinants for this variability are the polymorphisms in enzyme genes, which metabolize drugs and xenobiotics, besides other factors such as health state and age (Feng et al., 2018). The genomic and epigenomic variations justify the distinct organic responses generated by similar Cr exposure in different subjects.

There are several specific and scattered studies that address particular Cr biotransformation steps and polymorphisms. Currently, we do not know of any review that even partially integrates these genetic considerations into a global overview of the Cr toxicity/detoxification process. The genotoxic and epigenetic damage and alterations caused by Cr exposure have been increasingly studied, while relatively little is known about possible influences of genetic variation/polymorphisms on Cr detoxification in the body. Owing to the diversity and complexity of the factors that comprise Cr toxicity, the objective of this work is to present a mini review that integrates the elements that determine individual

variability to Cr found scattered in literature. Genetic questions related to Cr penetration in the cells, reduction systems of Cr(VI), formation of Cr adducts with macromolecules, and DNA repair systems are discussed from a chemical and toxicological perspective. The authors intend to present what is known about the effect of possible interindividual molecular diversity that constitutes variability upon exposure to Cr.

2. SOURCES OF HUMAN EXPOSURE

Environmental exposure to natural concentrations of Cr hardly ever presents a hazard to human health. Owing to its natural occurrence in soils and plants and its inclusion in animal feed Cr(III) is part of the human diet. The amount of Cr, as well as the available species, varies by natural geological matrix and the effect of proximity to industrial facilities. However, due to its full industrial usage in the twenty-first century, Cr compounds are considered to be an ubiquitous element and a pervasive environmental contaminant with great importance for human health.

For the general population, exposure to Cr(VI) occurs via air emissions (industrial, automobile emissions, cigarette smoke, and others) and water contamination through industrial release and wastewater leaching, resulting from the incorrect disposal of Cr industry waste reaching local populations (Welling et al., 2015). Water contamination is the most critical exposure route because compared to inhalation, which is generally limited to occupational exposure, oral exposure via contaminated water affects the entire population.

The most significant anthropogenic and occupational sources that release Cr into the environment come from cement manufacturing and its handling in construction sites (about 70% of the amount of steel produced). Chromium sulfate is present in approximately 90% of all tanned leather produced worldwide. Workers are exposed to Cr in more than 80 different industries. In addition to construction (the highest number of workers) and tanning, occupational exposure to Cr is important among electroplating (greatest severity of diseases), metal finishing, welding, wood preservatives, and production of textiles, dyes, and pigments (IARC 1990).

3. CHROMIUM SPECIES TOXICITY, TRANSMEMBRANE TRANSPORT, AND DNA INTERACTIONS

In nature, the most stable oxidation states of Cr are Cr(III) and Cr(VI) (IARC 1990). Regardless of the routes of Cr absorption, its toxic effects are greatly influenced by the chemical species bioavailability, oxidation state, and solubility. Once absorbed, Cr compounds may undergo alkylation, an alteration in their oxidation state, and coordination with biological molecules.

From a biochemical point of view, Cr(VI) is linked with a series of pathologies, while Cr(III) has been considered an essential micronutrient that plays an important role in insulin-dependent glucose metabolism (Mertz & Schwarz 1955; Schwarz & Mertz 1959); lately, this matter has become questionable and is still atter of debate (A. Ali et al., 2011; Xia et al, 2016; Vincent 2017, 2019). According to the National Institutes of Health (2019), “chromium is a mineral that humans require in trace amounts” opinion not shared by some authors and by the European Food Safety Authority (EFSA, 2014). So, there is still uncertainty to decide its essentiality (Maret, 2019).

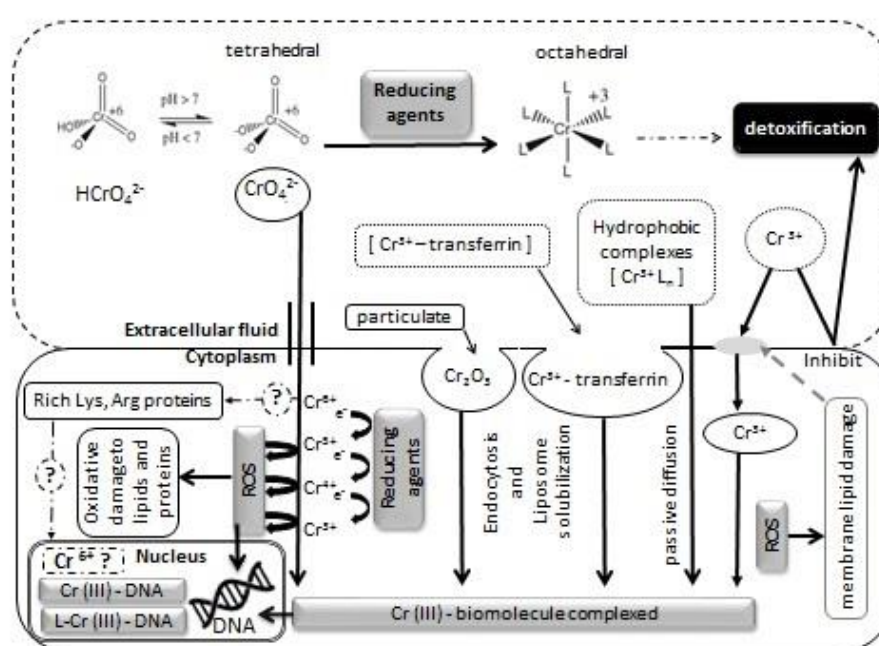
While Cr(III) can react with biomolecules such as DNA, its poor ability to pass through cell membranes has been implicated in its low biological and toxicological activities. At present, there are no studies that definitively prove the essentiality of Cr in biomolecular or physiological process.

Cr(III) penetration in the cell through passive diffusion or phagocytosis is a slow process, and its study is often neglected, **Figure 1** (IARC 1990; Levina et al. 2016). Due to its low membrane permeability, Cr(III) can be accumulated within the cells up to several hundred times, creating a high chemical potential for intracellular reactions that involve this species. In addition, it can induce morphological alterations of the membrane, disrupt cellular functions and integrity, and finally cause DNA damage (Fang et al., 2014).

Cr(III) transmembrane transportation may be mediated by transferrin (Tf), followed by receptor-mediated endocytosis. Tf is a serum protein, a β -globulin, that is the major iron(III) transport protein in the bloodstream. It acts in the transportation other metals, including Cr(III) due to its similarity in size and charge to the ferric ion, **Figure 1** (Edwards et al., 2019). However, *in vitro* assays using HepG2 (human hepatoma) cells, which are rich in Tf receptors, suggest that Tf acts as a natural mechanism of protection against the toxicity and genotoxicity of Cr consumed through the diet by blocking cellular accumulation of Cr(III). One observation through interferometry is that Cr(III) exclusion and efflux is due to

a lower affinity of cell receptors for Cr₂Tf compared to Fe₂Tf, a crucial step in the Tf cycle. There is no consensus about that the rate release of Cr(III) from serum Tf is sufficient or too slow to be biologically relevant (Edwards et al., 2019; Levina et al., 2016). The Tf gene is highly polymorphic with—at least—38 identified variants. The allelic and genotypical distribution varies according to the population ethnicity. We are not aware of studies on the effect of Tf genetic variation and Cr(III) transport (Edwards et al., 2019).

Figure 1: Simplified schematics of chromium (Cr) penetration in the cell and the intracellular and extracellular reduction processes



Most studies indicate that Cr(VI) can not react directly with DNA, and genotoxic effects are not observed when experimental conditions do not favor reduction (DeLoughery et al. 2014; Wakeman et al. 2017). The intracellular reduction with the generation of intermediate species—Cr(V) and Cr(IV)—seems to play an essential role in the pathologies triggered by this element and is called “uptake-reduction model”, **Figure 1** (DeLoughery et al., 2014; Quievryn et al., 2003). Aspects of Cr reduction will be discussed in the next topic.

Cr(VI) compounds, such as the chromate anion (CrO₄²⁻) that occurs at physiological pH in the form of tetrahedron ions, penetrate cells more easily through protein channels for unspecified anionic transport. Cr(VI) uptake appears to be a combination of saturable transport and passive diffusion. The same anion carrier protein, called band III protein (AE1), also transports chromate, sulfate, and phosphate ions through the anion channels (QU et al., 2008).

Studies have found an association between Cr in erythrocytes and polymorphisms in genes that encode proteins that carry anions or integral membrane protein of the endoplasmic reticulum, such as the *EPB3* gene. Band 3 protein (AE1) is one of the best studied transmembrane proteins thanks to its great abundance in human erythrocytes (approximately 1.2×10^6 copies/erythrocyte) and its role in anion cell transport, with consequences for tissue pH via CO₂ transport. Many polymorphic variants and various mutations are described in the literature, including Ia Memphis (evolutionarily older form), Tuscaloosa, and the Pst I polymorphism. Higher erythrocyte Cr levels are reported in subjects with the wild-type compared to variant alleles (QU et al., 2008). Thus, the extracellular reduction of Cr(VI) is vital to limit its absorption by the organism, owing to the formation of complexes or species that are poorly bioavailable (Reynolds et al., 2007). *In vitro* experiments show that the reducing agents present in the extracellular medium, such as ascorbic acid/ascorbate (Asc), play an essential role in this process, although this role is still controversial (Feng et al., 2018).

There is *in vitro* evidence that Cr(VI) can react with some histones and is transported to the nucleus (Levina et al., 2006). This evidence may suggest another model for DNA damage. Histone modifications, such as reduced deacetylation and increased biotinylation—both induced by Cr(VI) exposure—have been suggested as important mechanism for cancer development (Xia et al. 2014). Nevertheless, there is no significant Cr(VI) binding under the same conditions for other extracellular and intracellular proteins. The formation of kinetically inert octahedral complexes by Cr(III) drastically decreases the likelihood that it will cross the nuclear membrane. Although most of the cell-absorbed Cr(VI) is reduced to Cr(III) in the cytoplasm, a small fraction of Cr(VI) might reach the nucleus via an active protein transport mechanism bound to lysine- or arginine-rich peptides, sequences of histones, or nuclear proteins. The nature of these binding, electrostatic attractions and hydrogen bonds are reversible. Additionally, during chromatin formation, the association of histones with DNA polyanions is thermodynamically more favorable. Cr(VI) dissociates from the protein to generate reactive Cr(V/IV) intermediates in the cell nucleus and, ultimately, highly genotoxic Cr(III)-DNA adducts (Levina et al., 2006; Wakeman et al., 2017).

It is possible that Cr(VI) induces cytoplasmic factors that influence the uptake and subsequent binding to nuclear protein complexes. The mapping of animal cells produced using the X-ray emission by synchrotron radiation (SRIXE) demonstrated the presence of Cr in a region enriched with P (indicative of the nucleus). This finding suggests its ability to

attack DNA. In fact, Cr-DNA complexes tend to occur preferentially in the nuclear matrix, where diverse processes occur, including DNA replication, transcription, and RNA processing (Khorsandi & Rabbani-Chadegani, 2014). Thereby, it is necessary to identify the proteins that participate in Cr-induced DNA-protein complexes and the nature of their interaction with DNA.

Broadly speaking, it is possible to perceive the involvement of metals in vital processes through two primary mechanisms: mimicry (the competition between essential and nonessential metals) and the link with nucleophile centers of biomolecules. Cr and transition metals generally perform biological functions characterized by the easy loss of electrons, a phenomenon that justifies the importance of the physiological role of the metal's oxidation state of metal and its ability to react with organic molecules—the coordination geometry—among other thermodynamic factors (Quievryn et al., 2003). Thus, over the past decades, scientific work that sought to clarify Cr toxicity was based on the chemical knowledge available at the time, including Pearson's description of hardness and softness of acids and bases, as well as coordination chemistry).

Chromium is a multi-system toxicant. The physiological effects of chromium exposure (specially to Cr(VI) soluble compounds) may affect several systems including skin (allergic reactions, skin rash, skin irritants, dryness and swelling), respiratory tract (ulceration and perforation of nasal septum, irritation of the pharynx and larynx, asthmatic bronchitis, nose irritations, nose bleeding and lung cancer), gastrointestinal system (upset stomachs and ulcer), renal (acute tubular necrosis and chronic renal injury), cardiovascular (change in the myocardium alteration), hepatic (elevated liver enzymes and liver damages), genetic (genotoxicity, mutagenicity and carcinogenicity), hematological (changes in blood parameters) and reproductive effects (IARC 1990, Langård 1990; Wang et al. 2017, Teklay 2016). These effects are produced by Cr(VI) reactivity with biological molecules and irritant and corrosive properties. The severity of these effects is related with the extension of the exposure: single exposure may cause irritation, inflammation and eventually ulcers but repeated exposure may produce skin and respiratory tract allergies, inflammation of the lungs, kidney damage, cancers and effects on reproduction and development of unborn babies (Teklay 2016).

In reality, Cr(VI) toxic actions come from complex physiological processes that involve multiple routes and interactions with a large number of biological molecules, including proteins, nucleic acids and DNA (DeLoughery et al., 2014). Many of those biological macromolecules present polymorphisms with distinct individual physicochemical

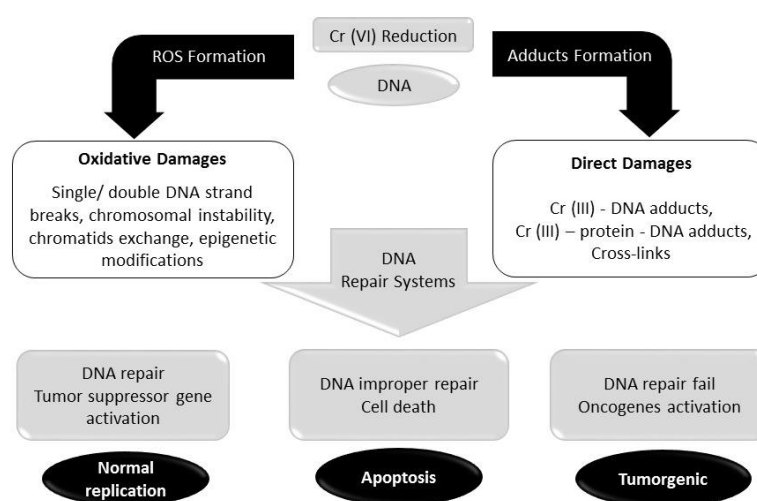
and dynamic characteristics, making one organism different from another and with unique behavior. Although the function of the detoxification enzymatic system is to metabolize toxicants to form less toxic and more water-soluble metabolites, in some cases it activates the original substance and produces more reactive and toxic agents.

4. CHROMIUM(VI) REDUCTION IN THE HUMAN BODY

There is a consensus among several researchers that Cr(III) formation from the intracellular reduction of Cr(VI) and the subsequent oxidation of intracellular biomolecules, such as DNA, is crucial. Indeed, it might be the responsible factor for Cr mutagenicity and carcinogenicity (Wakeman et al., 2017). Thus, Cr genotoxic effects are strongly influenced by the intracellular Cr(VI) reduction pathway due to the formation of transient species, reactive intermediates, and by-products.

Concomitant to Cr(VI) reduction, Fenton and Haber-Weiss reactions produce reactive oxygen species (ROS), such as hydroxyl radicals, hydrogen peroxide, and superoxide anion radicals, as well as Cr(V) and Cr(IV) intermediate species, which are potential sources of cellular damage, **Figure 2** (IARC 1990; DeLoughery et al. 2014). The intracellular reduction may or may not be enzymatic, depending on the tissue and the physiological conditions.

Figure 2: Cr adducts formation and their biological implications.



The enzymatic processes require several enzymatic systems: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) reductase, cytochrome *c* reductase, P450 cytochrome, NAD(P)H quinone oxide reductase (NQO1), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST

M1 and T1), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GSH-Rd) (Shi & Dalal, 1989; Kelsey et al., 1997; Lee et al., 2005), superoxide dismutase (SOD), thioredoxin reductase (TR, TrxR), heme oxygenase biliverdin reductase (HMOX1), and DT-diaphorase (Kelsey et al., 1997; Shi & Dalal, 1989; Lee et al., 2005, Wang, 2011).

The NADPH oxidase (NOX) family, a polymorphic family of enzymes containing 7 isoforms, plays an important role in Cr(VI)-induced ROS generation and in Cr(VI)-induced oxidative stress and carcinogenesis (Wang et al., 2011; Altenhöfer et al., 2012; Dao et al. 2020). NADPH is an important superoxide generator when studying the pathogenesis of pulmonary diseases, regardless of the chromium participation and its isoforms are aberrantly expressed in several cells derived from human cancers (Cheng et al., 2001). The imbalance of oxidant/antioxidant equilibrium affects the redox-sensitive transcription factors, such as pro-inflammatory NF- κ B (nuclear factor κ B) and antioxidant Nrf2 (nuclear factor-erythroid 2 p45 subunit-related factor 2), which involvement in the pathogenesis of several lung diseases (Chapman et al., 2005; Bedard & Krause, 2007; Griffith et al., 2009; Bernard et al., 2014). Polymorphisms in this family may cause a variability in ROS generation in the human population and consequently their relationship to health and disease (Bedard & Krause, 2007).

The genetic basis for inflammation and innate immunity is object of numerous reviews and meta-analyzes (Lazarus et al., 2002; Lee et al., 2006; Guo et al. 2012; O'Neil et al., 2015; Ma et al. 2019; Jafari-Nedooshan et al., 2019; Stock et al. 2020).

The Cr reducing enzymatic systems present genetic variability that may affect the kinetics and efficiency of the enzymatic processes. These dynamics contribute to the interindividual differences observed in health outcomes related to Cr exposure.

The GST enzymes are involved in the metabolic detoxification of various environmental carcinogens. A considerable portion of human GSTM1 and GSTT1, the most relevant GST isoenzymes, are nonfunctional due to deletion of a portion of the gene. There is evidence that they play an important role in cancer susceptibility. In a North Indian population, the null allele of a GSTM1 deletion polymorphism isoform is associated with higher vulnerability to the development of dermal irritation and allergies, one of the main toxic effects that results from dermic contact with Cr (Sharma et al., 2012). The null genotype of the GSTT1 isoform polymorphic variation also showed an association with cutaneous hypersensitivity in Cr-exposed workers (Wang et al., 2007). Wu and coworkers (2000) did not find the same association among 35 workers exposed to Cr, possibly due to the small number of samples.

Human NQO1 (or DT-diaphorase), reported above to be involved in catalysis of the two electron reduction Cr(VI), is coded by the *NQO1* gene. There are well-known polymorphic forms of *NQO1* in the human population. At least two polymorphic forms from specific ethnic groups (p.R139W and p.P187S) are associated with cancer. A transition of C to T at codon 609 results in no detectable NQO1 activity, a phenomenon that might affect the rate of Cr(VI) reduction (Kelsey et al., 1997).

The formation of Cr(IV)-glutathione (GSH) is favored in the cytoplasm, while Cr(V)-NADPH formation occurs inside the mitochondria/endoplasmic reticulum. This distinction is because the GSH concentration inside cells is approximately 3 orders of magnitude higher than NADPH/NADH in the cytoplasm (Wakeman et al., 2017).

The Cr(VI) ion may receive directly transferred electrons from cellular antioxidants, such as Asc, which is the primary intracellular reducing agent of Cr(VI), cysteine, hydrogen peroxide, and vitamins such as riboflavin (vitamin B2) and α -tocopherol (vitamin E). *In vivo* studies show that Asc is responsible for 80–90% of Cr(VI) reductions (:), presenting a reduction speed of 60- and 10-times higher than the reduction by GSH and cysteine, respectively. Furthermore, Cr(VI) reduction by Asc produces significantly lower quantities of Cr(V) and other oxidants compared to the action of GSH and cysteine (Quievryn et al., 2003).

The Cr(V) ion has been considered as the predominant genotoxic and carcinogenic species of Cr. It may directly oxidize DNA bases, resulting in the formation of 8-OHdG, and of DNA adducts and also the DNA chain rupture (Lee et al., 2005; O'Brien et al., 2005, 2009).

In contrast to the potentially protective action in the extracellular environment, Cr(VI) reaction with intracellular Asc contributes to the occurrence of cytotoxic and genotoxic damage, as demonstrated through the formation of binary DNA adducts, i.e., Cr(III)-DNA, ternary adducts, such as Cr(III)-Asc-DNA (Reynolds et al., 2007), DNA oxidation products like 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG or 8-OHdG), DNA inter-strand crosslinks and single-strand breaks (SSBs), inducing DNA double strand breaks and chromosome instability.

After entering the cell, Cr (VI) can suffer a series of reactions producing Cr (V), Cr (IV), Cr (II) and generating ROS. Vitamin C and other antioxidants do play a significant role in scavenging ROS and in association with DNA repair and apoptosis protect and modulate DNA. Apparently low/normal doses, vitamin C act in a “protective mode” for normal/cancer cells, while high doses of vitamin C act in a “destructive mode” for cancer cells only (Wang

et al., 2017; Garcia-Rodriguez et al., 2017; Chong et al., 2019; Ngo et al., 2019; Bakalova et al., 2020). It has been reported that supplementation of vitamin C can reduce the incidence of some types of cancers especially the stomach, lung and colorectal cancer. On the other hand, low serum vitamin C concentrations in high-risk populations may contribute to increased risk of gastric metaplasia or chronic gastritis, which are both precancerous lesions (Garcia-Rodriguez et al., 2017).

In vitro studies showed that in the absence of thiol groups (-SH), which are present in Asc, GSH, and cysteine to reduce Cr(VI), different reactive intermediates are produced, such as thiyl and hydroxyl radicals and other oxygenated species, besides Cr(V) and Cr(IV) (O'Brien et al., 2005, 2009). It is estimated that reduction by GSH generates approximately 75% of the Cr(V)-GSH complex and 25% of free Cr(V), whereas reduction by cysteine produces only free Cr(V) (DeLoughery et al., 2014). While the reduction by cysteine occurs through two steps, transferring one electron in each step, reduction by GSH may occur via transfer of two electrons in one step, forming Cr(IV), or even through the transfer of one electron for each of the two steps. The latter predominates under physiological conditions (Fang et al., 2014; Reynolds et al., 2007). The difference is essential in Cr genotoxicity because metal binding to DNA relates to the concentration and stability of the formed Cr(V) ions (Borges et al., 1991; Levina et al., 2003). Another difference in the results of DNA damage is the formation of crosslinks or inter-strand DNA-DNA crosslinks reported to be reduced by cysteine, although they are rare and limited to high doses of Cr(VI) when the reduction is via GSH (DeLoughery et al., 2014; Quievryn et al., 2003).

The Cr(III) ion also seems to participate in genotoxicity because it can react with DNA phosphate groups in the intracellular environment, jeopardizing replication and transcription processes. Furthermore, Cr(III) can form stable complexes with amino acids, proteins, RNA, and DNA to generate damage such as breakage in the DNA strands, the formation of Cr-DNA adducts, Cr-protein-DNA, and crosslinks, besides chromosome aberrations, DNA and RNA polymerase sequestration, mutagenesis, altered gene expression, and apoptosis (DeLoughery et al., 2014; O'Brien et al., 2005, 2009).

Among these reactive species formed from possible Cr(VI) reduction pathways, some conclusions can be drawn from the experimental research: a) Cr(IV) is apparently more mutagenic than Cr(V); b) mammalian cells only respond to Cr(V)-induced DNA damage; c) Cr(VI) and Cr(V), but not Cr(IV), initiate cell cycle checkpoints and apoptosis; d) under chronic exposure conditions, even a low Cr(VI) concentration may promote DNA breakage, cell arrest, and apoptosis. During Cr(VI) reduction, DNA inter-strand crosslinks (ICLs) and

SSBs may form. ICLs act as physical barriers to DNA replication and transcription events, thus inducing apoptosis. In the absence of cell apoptosis, the cells that contain damaged DNA may suffer further DNA changes and genetic plasticity. Cr(V) and Cr(IV) may produce DNA damage, and only Cr(IV) does not lead to apoptosis. This finding suggests that Cr(IV) is the most potent carcinogenic Cr species (Wakeman et al., 2017).

5. REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) IN CHROMIUM(VI) REDUCTION AND THEIR EFFECTS

The ROS species that form may, after Cr(VI) reduction, generate other reactive forms like organic radicals. These intermediates can oxidize purine and pyrimidine bases or directly oxidize guanine DNA bases. Guanine, due to its greater oxidation potential, reacts more easily than cytosine, thymine, and adenine, and can produce lesions, all of which are conducive to mutagenesis. The most frequent and studied oxidative lesions are 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-hydroxyguanosine, and 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG), considered a marker of toxicity and carcinogenicity involving ROS (DeLoughery et al., 2014; Quievryn et al., 2003).

Cr transient species, as well as the ROS that are formed, trigger a cascade of events that alters normal cellular functions, damages nucleic acids, oxidizes proteins, causes lipid peroxidation, and promotes gene expression alterations. DNA damage caused by oxidative stress includes several lesions, including DNA base modifications, abasic sites, sugar lesions, DNA SSBs or double-strand break (DSB), DNA-protein crosslinks (DPCs), and DNA-DNA crosslinks (DDC). These dysfunctions indicate their genotoxic properties and their mutagenic and carcinogenic nature (Bagchi et al., 2001). The Cr(V) and Cr(IV) that are produced during Cr(VI) intracellular reduction can promote this variety of genotoxic lesions described above. However, because mammalian cells do not respond properly to Cr(IV)-induced DNA damage, these intermediates seem to be responsible for Cr(VI)-induced carcinogenesis (Wakeman et al., 2017).

The marker for the evaluation of oxidative DNA damage, 8-OHdG, can be repaired by human 8-oxoguanine glycosylase I (OGG1). It presents polymorphic forms, with a C to G transition at nucleotide position 1245 in exon 7 that is associated with the substitution of cysteine (Cys) for serine at codon 326. This change affects the hOGG1 protein biological activity. Evidence indicates that for *OGG1* the homozygous Cys326/Cys326 genotype is deficient with regards to 8-OHdG repair activity. This genotype is a potential biomarker for

individual susceptibility to lung cancer risk for individuals who have occupational exposure to Cr(VI) (Lee et al., 2005). Studies from human B lymphoblastoid cell line (LCL) cell treatment demonstrated that potassium dichromate downregulates *OGGI* messenger RNA (mRNA). Occupational exposure in electroplating workers to Cr(VI) was associated with increased levels of DNA damage and significantly decreased *OGGI* expression compared with controls (Xia et al. 2019). Thus, conditioning the repair of 8-OHdG to individual characteristics, such as the mRNA expression in exposed populations, can contribute to Cr(VI)-induced DNA damage.

In vivo experiments showed that epigenetic alterations, such as DNA methylation and histone modification, occur through the action of reactive intermediates (ROS) formed from Cr(VI) reduction (DeLoughery et al. 2014). Epigenetic modifications that alter the patterns of gene expression are critical factors for cancer development due to exposure to Cr and other carcinogenic agents (Schnekenburger et al., 2007). Microarray experiments reported selective gene deregulation induced by Cr(VI) exposure. These findings highlight the potential future utilization of this type of gene modification as biomarkers in monitoring biological alterations that result from Cr exposure (Hansen et al., 2005).

According to Linqing et al. (2016), the *MT-TF* and *MT-RNR1* genes in mitochondrial DNA (mtDNA) are hypomethylated in the presence of Cr. The methylation level is negatively associated to blood Cr concentration, data that suggest it is an alternative effect biomarker for chromium exposure. No methylation changes were observed in the long interspersed nucleotide element-1 gene in nuclear DNA.

The heme oxygenase 1 (*HMOXI*) gene is significantly increased after exposure to both low and high doses of Cr(VI) in normal human lung LL 24 cells (Dubrovskaya & Wetterhahn, 1998). Due to non-uniform treatment protocols and because the effect can be tissue specific, there is no agreement of this result among research groups, and this relationship remains unclear. Besides, *HMOXI*, which confers cytoprotection against oxidative stress, is indeed highly polymorphic. It shows a microsatellite polymorphism as follows: short alleles (S: < 27 GT), middle alleles (M: 2732 GT), and long alleles (L: ≥ 33 GT). These forms might be related to gene expression and activity. Although the mechanism remains unclear, the polymorphism in the *HMOXI* gene promoter was associated with susceptibility to pulmonary emphysema in a population of subjects with L allele (Yamada et al., 2000). Therefore, one might hypothesize that, if *HMOXI* expression changes according to the number of (GT)_n repeats, the microsatellite polymorphism may be associated with the development of oxidative stress-induced diseases and anti-inflammatory actions.

6. FORMATION OF ADDUCTS

Cr-DNA adducts are the primary genetic lesions produced by Cr(VI) exposure in mammalian cells. If they are not repaired, they might lead to matching and replication errors, pre-mutagenic lesions, mutations, and ultimately cellular death or cancer, Figure 2.

Evidence suggests that N7 that is found in guanine participates in the formation of adducts, especially ternary adducts with mutagenic abilities. An essential linking site between Cr and DNA in adducts is the phosphate group, which provides a weak and reversible electrostatic link where the Cr(III) ion coordination sphere remains intact. Moreover, the Cr(III) ion directly coordinates with four DNA bases to generate highly stable products with irreversible inter-strand DNA-DNA crosslinks (Arakawa et al., 2012). The stability of this complex is attributed to slow kinetics of binder exchange of the newly formed octahedral coordination compound and follows this order: guanine > cytosine > thymine \approx adenine, from which guanine is the most vulnerable to oxidative damages by Cr³⁺ (Arakawa et al., 2012; Zhou et al., 2016).

In vitro assays revealed that, in the intracellular environment, Cr(VI) and Cr(V) alter genomic DNA to generate the oxidized 2'-deoxyguanosine (dG) and 2'-deoxyadenosine (dA) forms and Cr(III)-DNA adducts. The proposed interaction performed by linking Cr(V) to the N-7 of dA or dG, intact or oxidized (complex: Cr(V)-dA-DNA, and Cr(V)-dG-DNA), results in the reduction of Cr(V) to Cr(III) (Arakawa et al. 2012;). The mutations related to Cr(VI) and Cr(V) are equally distributed at adenine (45%) and guanine (55%) bases (Arakawa et al., 2012).

Cr-DNA adducts may or may not have intra-strand and/or inter-strand crosslinks. Cr(VI) intracellular reduction predominantly leads to the formation of ternary adducts (L-Cr-DNA) with crosslinking such as GSH-Cr-DNA, cysteine-Cr-DNA, histidine-Cr-DNA, and the complex of Asc-Cr-DNA. *In vitro* experiments show that 50–70% of adducts generated by Cr are binary complex and extremely mutagenic. Accounting for more than 90% of Cr-induced mutagenesis, Cr(III)-DNA-Asc adducts are more mutagenic than Cr(III)-DNA adducts, while ternary cysteine-Cr(III)-DNA adducts are 4–5 times more mutagenic than Cr(III)-DNA binary adducts (Quievryn et al., 2003). The generation of pre-mutagenic ternary Cr-DNA-Asc adducts appears to be imperative because under physiological conditions Asc is the major Cr(VI) reductant. Furthermore, these adducts might be linked to the increased number of mismatch-repair-resistant cells observed in Cr-induced lung tumors

(IARC 1990).

Once formed in the highly replicated regions of DNA, adducts and crosslinking may interfere in the euchromatin/heterochromatin balance (Schnekenburger et al., 2007). This balance is vital to the regulation of genomic transcription and stability, and exposure to Cr(VI) may alter it. *In vitro* experiments demonstrated that the results of chromatin remodeling depend on the kind of exposure (acute or chronic), as well as the concentration of Cr(VI). Thus, different mechanisms of action and different repair mechanisms are likely (O'Brien et al., 2005, 2009).

7. DNA REPAIR MECHANISMS

There is insufficient information about cellular mechanisms that are involved in the removal of Cr adducts with DNA, but nucleotide excision repair (NER) is the primary mechanism used by human cells; it is critical for chemotherapy resistance (Anoushirvani et al., 2019). This mechanism is of paramount importance in the prevention of induced mutagenesis and neoplastic transformation, and it can remove damages in the phosphate chain, as well as the DNA structure (O'Brien et al., 2005, 2009). DSBs are a highly detrimental form of DNA damage. The improper junction of broken DNA ends due to repair system failure can introduce in structural abnormalities chromosomes, such as deletions or translocations, that constitute an important mechanism of structural chromosomal instability. The DNA repair ability may suffer alterations because various enzymes involved with the cellular mechanisms for repairing DNA damages (and thus can control genetic functions) present functional genetic polymorphisms. These enzymes include: XRCC1 and OGG1 (via base excision repair [BER]) XPD, XPC (via NER), and hMLH1 (via mismatch repair [MMR] or mismatched bases repair system).

miR-200a modulates *OGG1* expression and can decrease levels of the critical enzyme for 8-OH-dG repair, OGG1-2a, and plays a role in aging of primary human keratinocytes. Overexpression also upregulates the NLRP3 inflammasome and interleukin 1beta (IL-1 β) expression (Tinaburri et al., 2018). There is evidence that activation of the NLRP3 inflammasome, and consequent increase in IL-1 β , is related to Cr-induced toxicity mechanisms (and probably skin sensitization). NLRP3 activation relies on Cr(VI)-induced ROS. Studies with inhibitors of the NLRP3/IL-1 axis may be a new option to prevent occupational chromium and nickel toxicity and allergy, as both activate this mechanism (Buters & Biedermann, 2017).

Genetic variability influences the occurrence of the outcomes related to Cr exposure, including cancer. Different studies demonstrated the association between specific alleles for DNA damage repair and an increased risk for cancer development. Lung cancer studies have focused on identifying the effects of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in candidate genes, among which DNA repair genes are increasingly being studied (Halasova et al., 2012).

The presence of particular genotypes of polymorphic genes, including XPD Lys751Gln, XPG Asn114His, XPC Lys939Gln, hOGG1 Ser326Cys, and XRCC1 Arg399Gln, was analyzed in welders exposed to Cr. All had a direct connection to the increase in vulnerability to adverse effects resulting from Cr exposure (Halasova et al., 2012). Zhang and coworkers (2012) proposed the use of the functional polymorphism of XRCC1 as a susceptibility genetic biomarker for Cr-induced DNA lesions.

Another investigation that involved subjects with lung cancer due to Cr exposure and healthy controls, showed a significant increase in the risk of lung cancer development for carriers of XPD Lys/Gln genotype, as well as the gene-gene interaction XPD Lys/Gln-XPC Lys/Gln and XPD Lys/Gln-XPC Gln/Gln (Sarlinova et al., 2015). When comparing Cr-exposed patients to control subjects, there was an apparent association between the presence of the homozygous AA genotype of *MLH1* and an increased risk of lung cancer (Halasova et al., 2016; Halasova et al., 2012).

Evidence indicates that genetic polymorphisms can affect the epigenetic state. For example, the *MLH1* epimutation is caused by a polymorphism in its 5' untranslated region (UTR) that reduces transcriptional activity and predisposes individuals to aberrant somatic DNA methylation in each generation (Cortessis et al., 2012).

Li et al. (2019) presented a meta-analysis review of the 14 genetic variants of DNA repair pathway genes and lung cancer risk, regardless of cause. They propose the *ERCC2*-rs13181 polymorphism a risk factor to lung cancer. They identified higher susceptibility for Caucasian populations in allele, homozygote, and recessive models, while Asian populations showed higher susceptibility in the heterozygote and dominant models.

As the key component of the NER pathway, *ERCC1* presents a significant correlation between the C8092A (rs3212986) polymorphism and the clinicopathological aspects among patients with non-small cell lung cancer, including metastasis and tumor grade. A worse prognosis was associated to the rs3212986 CA genotype and A allele (Anoushirvani et al. 2019).

8. CHROMIUM CARCINOGENICITY

The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) considers Cr(VI) compounds as a major occupational cause of lung cancer. Cr(VI) exposure via the respiratory tract may affect respiratory function and even lead to lung cancer. The US Environmental Protection Agency (US EPA) and the International Cancer Research Agency (IARC) classify Cr(VI) as a human carcinogen (IARC 1990).

Advances in research disproved the hypothesis that Cr carcinogenicity is attributed to prolonged occupational exposures at high concentrations. Furthermore, it highlighted the importance of the inverse correlation between carcinogenicity and solubility of Cr(VI) salts. Low concentrations of Cr(VI) might promote DNA breakage. More recent risk assessments estimate 10–50 cancer deaths per 1,000 workers exposed to the current $5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ limit established by the Occupational Safety and Health Administration (OSHA) in 2006. There is evidence of a significant increase in the risk of lung cancer for moderately soluble compounds (IARC 1990; Beyersmann and Hartwig 2008).

Tissue damage is appointed as an important cause of lung cancer. Deposition of particulate compounds of Cr (VI) are indicated by several epidemiological studies as the most potent carcinogen which deposited and persisting at lung bifurcation sites in the respiratory tract, dissolving slowly over time, resulting in a chronic exposure of lung cells and Cr accumulation of in tissues. As result, the exceedance of clearance mechanism and cellular absorption of this metal favors DNA damages, tissue irritation, inflammation and cytotoxicity leading to carcinogenesis (Proctor et al 2014, Ishikawa et al. 1994, Browning and Wise 2017).

The genetic basis for inflammation and innate immunity is object of numerous reviews and meta-analyzes (Lazarus et al., 2002; Lee et al., 2006; Guo et al. 2012; O'Neil et al., 2015; Yang et al. 2019; Jafari-Nedooshan et al., 2019; Stock et al. 2020).

Initially, only the inhalation exposure to Cr(VI) was a matter of great concern; subsequently, however, it was observed that digestive absorption could also lead to carcinogenic activity. Although the effects of oral exposure are diminished due to the chemical reduction of Cr(VI) in the intestines, this phenomenon does not prevent the target-tissues from being reached, thus allowing the disease to develop (Welling et al., 2015). In fact, epidemiologic studies conducted with a population that consumed contaminated water revealed an increased risk for multiple kinds of cancer, including stomach, gastrointestinal, kidney, urogenital, bone, leukemia, lymphoma, brain, nasal, and lung. Cr(VI) induces a

broad spectrum of DNA damage and favors the induction of neoplasia in several organs besides the respiratory system due to its biotransformation ability in all kinds of cells (Arakawa et al., 2012; Welling et al., 2015). As discussed in previous sections, when inside the human body, Cr(VI) can react with cellular reductants to produce Cr(V), Cr(IV), and ultimately Cr(III). The latter can lead to highly genotoxic Cr(III)-DNA adducts in the cell nucleus. All of these intermediates may cause DNA damage or DNA-protein crosslinks.

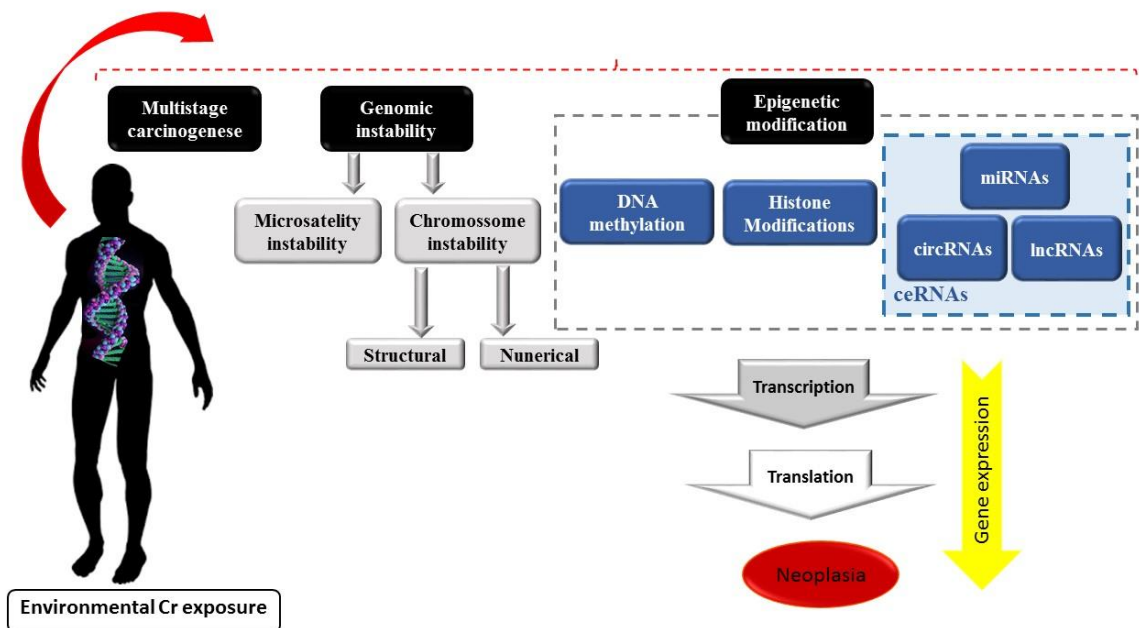
Several mechanisms are being proposed to explain the Cr-induced carcinogenicity. In fact, Cr-induced carcinogenesis seems to depend on tissue, cell type, Cr(VI) concentration, time of exposure and isoforms of some heat shock proteins (Ferreira et al. 2019); chromosomal instability (Wise et al. 2018); Nupr1 induction (Chen et al. 2016), DNA adduct and free radicals formation (Dubrovskaya & Wetterhahn 1998, DeLoughery et al. 2014); reactivity of the intermediate Cr(V) and Cr(IV) (Lee et al., 2005; O'Brien et al., 2005, 2009) etc. Epigenetic alteration of gene expression has been considered as a key element of the carcinogenesis.

The more stable Cr valences, Cr(VI) and Cr(III), are recognized as carcinogens by *in vitro* experiments via Cr-induced DNA-protein complexes (Wang et al. 2017). *In vivo* experiments demonstrated that Cr(III) carcinogenicity is uncertain and remains to be investigated (Fang et al., 2014). Although the mechanism of Cr carcinogenicity is not fully understood, it is accepted that it fundamentally develops through DNA damage/genomic instability and ROS generation. Both Cr(VI) and Cr(III) are capable of producing ROS, which is an most important phenomenon in triggering cancer. Figure 3 outlines the three main mechanisms with regards to xenobiotic-induced carcinogenesis, in this case Cr-induced carcinogenesis: multistage carcinogenesis, genomic instability, and epigenetic modifications. Based on its genetic toxicity, Cr(VI) is an initiator of carcinogenesis and has mutagenic and teratogenic properties (IARC 1990). However, multistage carcinogenesis is not a consensus among researchers due to the random occurrence of mutagenesis. Furthermore, it is not specifically the preferred occurrence of a mutation in oncogenes or in the tumor suppressor promoter region. Exposure of cells grown under physiological conditions to Cr(VI) demonstrated the occurrence of mutations and other chromosomal damage, with a variety of genotoxic lesions, compared to control cells (Reynolds et al., 2007).

The fact that DNA damage and crosslinking occurs preferentially in locations where active DNA replication and transcription processes occur indicates that disruption of transcription regulation is one of the most important mechanisms in Cr carcinogenicity.

Cr(VI) impairs the expression of inducible genes that have active promoters without blocking the transcription of constitutively expressed genes. More than 350 genes have been identified to undergo Cr(VI)-induced modulation. With advanced biomolecular technology and spectroscopy, there have been more *in vitro* assays on Cr interaction with chromatin and histones in the last decade. There are studies showing that exposure to Cr disrupts chromatin architecture, causes shifts in chromatin accessibility, leads to local and genome-wide nucleosomal position shifts and occupancy changes, and alters mechanisms that modify gene transcription.

Figure 3: The bulky lesions from Cr (VI) exposure shifts the chromatin accessibility, altering its configuration, arising conflicting epigenetic marks (altered DNA methylation, histone modifications, and non-coding RNA profiles) that inhibit transcription of inducible genes and unsettle the global transcription machinery.



Transcriptional regulation of gene expression requires post-translational modification of histone proteins, which, in concert with chromatin-remodeling factors, modulate chromatin structure. Environmental toxicant exposure may interfere with specific histone modifications and render normal patterns of gene expression impossible. Exposure to Cr often has a repressor effect on the transcription of inducible genes—which have a permissive chromatin structure that provides a better target—but does not affect the expression of maintenance genes (Schnekenburger et al., 2007).

DNA methylation is a well-studied epigenetic mark that responds dynamically to diverse environmental factors. It is important to modulate gene expression and maintain genomic stability. According to studies in human lung cancer samples, Cr(VI) silences the tumor suppressor genes p16 INK4a and MUTL homolog 1 (*MLH1*) through promoter hypermethylation. *MLH1* gene promoter methylation was increased in 63% of tumors of subjects occupationally exposed to Cr(VI) compared to unexposed, *MLH1* inactivation is strongly related to microsatellite instability (A. H. K. Ali et al., 2011; Kondo et al., 2006).

Recently, the function of vitamin C in regulating the demethylation of DNA and histone likely has been investigated (Chong et al. 2019, Ngo et al., 2019, Bakalova et al., 2020).

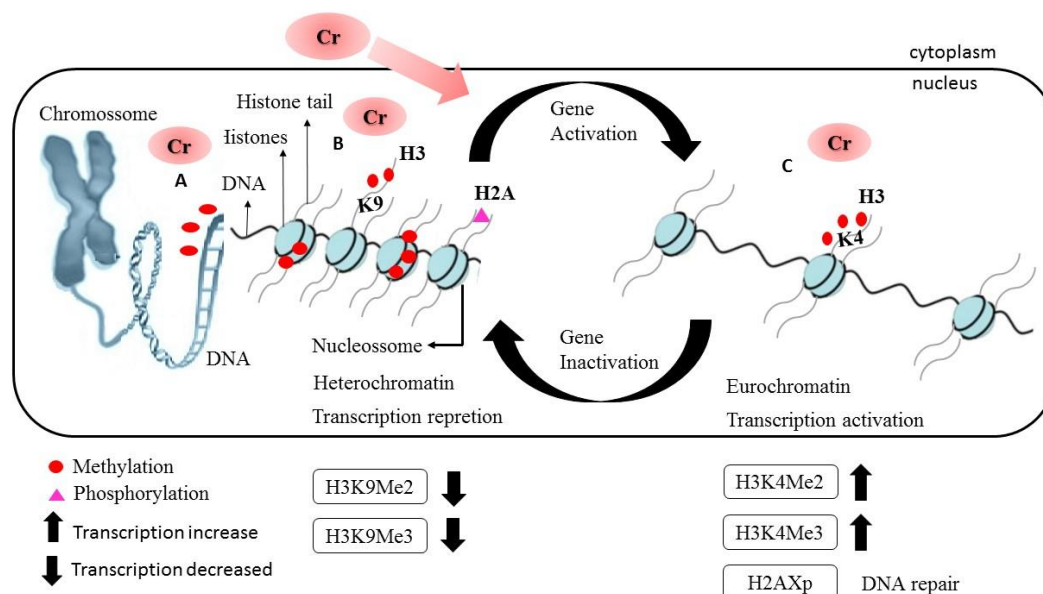
Several possible mechanisms have been proposed for Cr(VI) carcinogenesis that involve its effects on histones in different regions in the nucleus. Low doses of Cr(VI) (≤ 0.6 μM) elevate the level of histone biotinylation in human bronchial epithelial cells *in vitro* (B. Xia et al., 2014). There is evidence that Cr(VI) may target histone methyltransferases and demethylases, which in turn affect global and specific histone methylation of the gene promoter. This phenomenon might lead to the silencing of specific tumor suppressor genes acetylation or methylation, post-translational histone modifications play a crucial role in regulating chromatin accessibility and transcription. Figure 4 illustrates that exposure to Cr promotes (A) DNA methylation and alters specific histone tags: Cr interacts with the histone residues arginine and lysine by increasing the expression of H3K9-specific methyltransferase (DNMTs) G9a associated with (B) H3K9Me2/Me3 and (C) H3K4Me3. The occurrence of methylation of H3K9 in the promoter region of *HLHI*, a mismatch repair enzyme of DNA, suppresses the expression of this gene. Findings such as these show that the relationship between epigenetic alterations by exposure to Cr and carcinogenesis (Khorsandi & Rabbani-Chadegani, 2014; Levina et al., 2006).

Cr(VI) reduces the histone H4K16 acetylation level in human bronchial epithelial cells, whereas exposure to low doses increases the biotnylated histone concentration. P16 protein hypermethylation in the CpG, CpG1, CpG31, and CpG32 islands also occurs in the same cell type after exposure to Cr(VI), with a positive correlation between the extent of CpG1 methylation in p16 and cell damage, and a negative correlation with p16 expression level. Thus, the level of p16 CpG1 methylation has been suggested to be an epigenetic biomarker of Cr(VI) exposure (Hu et al., 2016).

Human lung A549 cells treated with Cr present a decrease in global levels of H3K27Me3 and H3R2Me2 and an increase in global H3K9Me2, H3K9Me3 and H3K4Me3

levels compared to control cells. In human bronchial epithelial cells (BEAS-2B), there are 409 differentially expressed cells in Cr(VI)-treated compared to control cells (Sun et al., 2009).

Figure 4: Overview illustrating the control of gene expression by epigenetic mechanisms in response to Cr exposure.



We believe that the reversibility of epigenetic changes will lead to research with increasing therapeutic and pharmacological perspectives either by treating or at least blocking disease progression through early methylation/demethylation or acetylation/deacetylation. Viewed in this way, the antagonistic effect of Asc (vitamin C) has already produced initial results in *in vitro* assays. Cr(VI) exposure decreases the expression of *MLH1*, a mismatch repair gene, which limits the DNA repair capacity. Furthermore, Cr(VI) induces G9a, the histone methyltransferase responsible for global H3K9 dimethylation, causes increased silencing of H3K9Me2, and simultaneously increases the activation of H3K4Me3 in the *MLH1* promoter for A549 cells. Interestingly, in addition to Asc being the main intracellular reducing agent of Cr(VI), it also acts as a cofactor for the histone demethylase activity, which can partially reverse the H3K9 dimethylation induced by Cr (Sun et al., 2009). Sun and coworkers conclude these studies by suggesting that Cr(VI) might target histone methyltransferases and demethylases, which in turn would affect both global and gene promoter specific histone methylation, leading to the silencing of specific tumor suppressor genes such as *MLH1*.

Others mechanisms of epigenetic modification are the endogenous non-coding RNAs, including circular RNAs (circRNAs), long non-coding RNAs (lncRNAs) and microRNAs (miRNAs). Given the evidence that mRNAs, lncRNAs, circRNAs, and possibly other RNA forms compete for binding to the same miRNA, researchers are currently working on the hypothesis of competitive endogenous RNAs (ceRNA). This competition for binding to the same miRNA results in decreased inhibition of mRNAs that would be targeted by determinant miRNAs and, consequently, the level of expression of the target gene could be increased. In other words, this competition regulates several biomolecular factors such as tumorigenesis (Poliseno & Pandolfi, 2015). circRNAs are extensively studied as potential biomarkers for various types of cancer. There are reports of differential expression of circRNAs in cancer tissues. However, we have not found any studies relating Cr exposure and circRNAs to date.

lncRNAs are structurally similar to mRNAs; they are more than 200 nucleotides long and can silence certain RNA and regulate certain genes transcription process such as chromatin remodeling. lncRNAs and miRNAs and play an important role in cell cycle regulation and apoptosis and may be key participants in the response to DNA damage such as increased genome instability caused by Cr exposure and DSBs, the most difficult DNA damage to repair, by homologous recombination. Prolonged Cr(VI) exposure inhibits the nuclear import of RAD51C, an essential protein in homologous repair that facilitates the search for a homologous sequence, which results in the cytoplasmic accumulation of RAD51 (Browning & Wise, 2017). The nuclear import of tumor suppressor proteins or DNA repair proteins is crucial to their DNA repair, and thus this nuclear import inhibition can play a key role in Cr carcinogenic mechanism.

miRNAs regulate broad transcriptional pathways because they are a large family of short oligonucleotides that silence target gene expression by degradation linked to mRNA. There is also evidence that Cr(VI) disrupts certain transcriptional pathways through direct deregulation of the miRNA expression profile. Cr exposure is negatively associated with miR-146a in peripheral blood leukocytes, miR-143 in human epithelial cells, and miR-3940-5p plasma levels, among several other correlations. *XRCC2*, a DNA repair gene, is regulated by miR-3940-5p. In a study of 117 Chinese workers (men and women), 87 workers exposed to chromate and 30 subjects with no direct contact with Cr as a control group, miR-3940-5p was negatively associated with exposure to Cr(VI) and expression of *XRCC2* can improve DSB repair by reaching a determined Cr(VI) concentration (Li et al., 2014).

Recently, Wise and coworkers (2018) reported that Cr(VI) induces permanent and

heritable chromosome translocations, aneuploidy and polyploidy, centrosome amplification and DNA repair defects. The resulted phenotype favored growth of cancer cells as a consequence of the imbalance promoted by heredity and permanent character of chromosomal translocations.

However, most carcinogenesis processes remain poorly understood and an in-depth discussion of these studies is beyond the scope of this review.

9. CONCLUSION

The impact that Cr exposure and compounds exert on human health has been demonstrated by the increased number of pathologies and the growing inclusion of affected populations. These diseases might originate from distinct mechanisms that require clarification. However, intracellular reducing agents that act on Cr(VI), namely Asc and GSH, are crucial for the process because they are relevant to the constitution of differentiated relative intermediates. The human body has protective mechanisms against those damages, and the efficiency of these mechanisms depends upon each individual's characteristics.

There will be an interaction of three factors in all cases of Cr toxicity: the active chemical species, external factors regarding the exposure, and the individual factor, that is, his or her genetic and epigenetic. Considering the fact that some polymorphisms may contribute to the increase in risk of a pathology to a specific population group (ethnic, labor, and family) but not necessarily to others, epidemiologic studies about associated genetics for specific populations (whites, non-whites, Indians, populations with more people of Afro descent, and mixed populations) are required.

The individual characteristics involve internal factors such as polymorphism carriers, metabolism, DNA repair enzymes, the composition of the internal antioxidant system, and external personal factors, for instance, diet and smoking. The genetic factors, considered to be an effect modifier for the relationship between pathology and the level of exposure, requires some knowledge of the level of environmental exposure to Cr and strict control of it, based on the understanding of the genetic tendency.

The possibility of monitoring the variations of Cr toxicity through genetic analysis is still speculative. The identification of polymorphisms—and particularly the enzymes polymorphisms of DNA repair systems—indicate the potential for a customized therapeutic plan as the main benefit. The molecular diagnosis of a patient's status as a unique individual should allow for compensation of potential genetic disadvantages by re-establishing

genomic integrity and identifying lethal synthetic interactions. Ameliorating these issues should increase an individual's response to chemotherapy drugs that are widely prescribed.

In addition, the role of interaction among Cr species with nuclear proteins and histones, and their effects on chromatin and non-coding RNAs, has been a very active field of research. However, several of its aspects remain unclear. Future studies that characterize the methylome response to Cr(VI) of the entire genome will contribute details relating the genomic sites of methylation changes and other possible epigenetic and gene transcription changes. There is the need to develop useful and unequivocal biomarkers for monitoring biological alterations resulting from Cr exposure and prevent Cr-induced diseases. With regards to personal characteristics, it is crucial to determine the toxicological effects of Cr exposure in humans, genetic and related disciplines may complement the chemistry, and biochemistry data to understand the role of Cr in human toxicology and should be addressed in a multi/transdisciplinary manner.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Ana C. Simões Rosa, Sabrina da S. Santos, and Simone N. Mitri for reading the manuscript and providing suggestions. Josino Costa Moreira thanks Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ORCID

Thelma Pavesi: <https://orcid.org/0000-0001-6980-5403>

Josino Costa Moreira: <http://orcid.org/0000-0002-7457-2920>

REFERENCES

- Ali, A., Ma, Y., Reynolds, J., Wise, J. P., Inzucchi, S. E., & Katz, D. L. (2011). Chromium effects on glucose tolerance and insulin sensitivity in persons at risk for diabetes mellitus. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 17(1),

- 16–25. <https://doi.org/10.4158/EP10131.OR>
- Ali, A. H. K., Kondo, K., Namura, T., Senba, Y., Takizawa, H., Nakagawa, Y., ... Tangoku, A. (2011). Aberrant DNA methylation of some tumor suppressor genes in lung cancers from workers with chromate exposure. *Molecular Carcinogenesis*, 50(2), 89–99. <https://doi.org/10.1002/mc.20697>
- Altenhöfer, S., Kleikers, P. W. M., Radermacher, K. A., Scheurer, P., Rob Hermans, J. J., Schiffers, P., ..., Schmidt, H. H. H. W. (2012). The NOX toolbox: Validating the role of NADPH oxidases in physiology and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*: 69(14), 2327–2343. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1010-9>
- Anoushirvani, A. A., Aghabozorgi, R., Ahmadi, A., Arjomandzadegan, M., Khalili, S., Sahraei, M., ... Khademi, Z. (2019). The Relationship Between rs3212986C>A Polymorphism and Tumor Stage in Lung Cancer Patients. *Cureus*, 11(4): e4423. <https://doi.org/10.7759/cureus.4423>
- Arakawa, H., Weng, M., Chen, W., & Tang, M. (2012). Chromium (VI) induces both bulky DNA adducts and oxidative DNA damage at adenines and guanines in the p53 gene of human lung cells. *Carcinogenesis*, 33(10), 1993–2000. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs237>
- Bagchi, D., Bagchi, M., & Stohs, S. J. (2001). Chromium (VI)-induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 222(1–2), 149–158. <http://doi:10.1023/A:1017958028256>
- Bakalova, R., Zhelev, Z., Miller, T., Aoki, I. & Tatsuya Higashi. (2020). New Potential Biomarker for Stratification of Patients for Pharmacological Vitamin C in Adjuvant Settings of Cancer Therapy. *Redox Biology*. 28: 101357. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101357>
- Bedard, K., and Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*. 87, 245–313.
- Bernard, K., Hecker, L., Luckhardt, T. R., Cheng, G., & Thannickal, V. J. (2014). NADPH oxidases in lung health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(17), 2838–2853. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5608>
- Beyersmann, D., & Hartwig, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: Recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Archives of Toxicology*, 82(8), 493–512. <https://doi.org/10.1007/s00204-008-0313-y>
- Browning, C. L., & Wise, J. P. (2017). Prolonged exposure to particulate chromate inhibits RAD51 nuclear import mediator proteins. *Toxicology and Applied Pharmacology*,

- 331, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.030>
- Buters, J., & Biedermann, T. (2017). Chromium(VI) Contact dermatitis: getting closer to understanding the underlying mechanisms of toxicity and sensitization! *Journal of Investigative Dermatology*, 137(2), 274–277. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.11.015>
- Chapman, K. E., Sinclair, S. E., Zhuang, D., Hassid, A., Desai, L. P., & Waters, C. M. (2005). Cyclic mechanical strain increases reactive oxygen species production in pulmonary epithelial cells. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 289(5), L834–841. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00069.2005>
- Chen, D., Kluz, T., Fang, L., Zhang, X., Sun, H., Jin, C., & Costa, C. (2016). Hexavalent Chromium (Cr(VI)) down-regulates acetylation of histone H4 at lysine 16 through induction of stressor protein Nupr1. *Plos One*, 11 (6): e0157317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157317>
- Cheng, G., Cao, Z., Xu, X., van Meir, E. G., & Lambeth, J. D. (2001). Homologs of gp91phox: Cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5. *Gene*. 269(1–2), 131–140. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00449-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00449-8)
- Chong, T.L., Ahearn, E.L., & Cimmino, L. (2019). Reprogramming the Epigenome With Vitamin C. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7: 128. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00128>
- Cortessis, V. K., Thomas, D. C., Levine, A. J., Breton, C. V., Mack, T. M., Siegmund, K. D., ... Laird, P. W. (2012). Environmental epigenetics: prospects for studying epigenetic mediation of exposure–response relationships. *Human Genetics*, 131(10), 1565–1589. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1189-8>
- Dao, V. T.-V., Elbatreek, M. H., Altenhöfer, S., Casas, A. I., Pachado, M. P., Neullens, C. T., ..., Schmidt, H. H. H. W. (2019). Isoform-selective NADPH oxidase inhibitor panel for pharmacological target validation. *Free Radical Biology & Medicine*, 148, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.038>
- DeLoughery, Z., Luczak, M. W., & Zhitkovich, A. (2014). Monitoring Cr intermediates and reactive oxygen species with fluorescent probes during chromate reduction. *Chemical Research in Toxicology*, 27(5), 843–851. <https://doi.org/10.1021/tx500028x>
- Dubrovskaya, V. A., & Wetterhahn, K. E. (1998). Effects of Cr(VI) on the expression of the oxidative stress genes in human lung cells. *Carcinogenesis*, 19(8), 1401–1407. <https://doi.org/10.1093/carcin/19.8.1401>

- Edwards, K. C., Kim, H., & Vincent, J. B. (2019). Release of trivalent chromium from serum transferrin is sufficiently rapid to be physiologically relevant. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 202, 110901. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110901>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2014). Scientific Opinion on dietary reference values for chromium. *European Food Safety Authority journal*. 12(10):3845, 1-25. <https://doi:10.2903/j.efsa.2014.3845>
- Fang, Z., Zhao, M., Zhen, H., Chen, L., Shi, P., & Huang, Z. (2014). Genotoxicity of tri- and hexavalent chromium compounds in vivo and their modes of action on DNA damage in vitro. *Plos One*. 9(8), e103194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103194>
- Feng, H., Liu, J., Hu, G., & Jia, G. (2018). The role of epigenetics in the toxic effects induced by hexavalent chromium. *Reactive Oxygen Species*, 5(14), 107–117. <https://doi.org/10.20455/ros.2018.821>
- Garcia-Rodriguez, M.C., Gordillo-Garcia, A., & Altamirano-Lozano, M. (2017). The role of vitamin C in the protection and modulation of genotoxic damage induced by metals associated with oxidative stress. In *Vitamin C*. Amal Hamza, Egypt <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68686>
- Halasova, E., Matakova, T., Skerenova, M., Krutakova, M., Slovakova, P., Dzian, A., ...
- Hamzik, J. (2016). Polymorphisms of selected DNA repair genes and lung cancer in chromium exposure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 911, 17–22. https://doi.org/10.1007/5584_2016_218
- Halasova, E., Matakova, T., Musak, L., Polakova, V., Letkova, L., Dobrota, D., & Vodicka, P. (2012). Evaluating chromosomal damage in workers exposed to hexavalent chromium and the modulating role of polymorphisms of DNA repair genes. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 85(5), 473–481. <https://doi.org/10.1007/s00420-011-0684-x>
- Hansen, M. B., Skov, L., Menné, T., & Olsen, J. (2005). Gene transcripts as potential diagnostic markers for allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis*, 53(2), 100–106. <https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2005.00658.x>
- Hu, G., Li, P., Li, Y., Wang, T., Gao, X., Zhang, W., & Jia, G. (2016). Methylation levels of P16 and TP53 that are involved in DNA strand breakage of 16HBE cells treated by hexavalent chromium. *Toxicology Letters*, 249, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.03.003>
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1990) Chromium, nickel and welding. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, 49, 1–648.

Accessed <https://publications.iarc.fr/67>

- Ishikawa, Y., Nakagawa, K., Satoh, Y., Kitagawa, T., Sugano, H., Hirano, T., & Tsuchiya, E. (1994). "Hot spots" of chromium accumulation at bifurcations of chromate workers bronchi. *Cancer Research*, 54(9), 2342–2346. PubMed: 8162579. Accessed in Feb 4th, 2020. Available in <https://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/54/9/2342.full.pdf>
- Jafari-Nedooshan, J., Moghimi, M., Zare, M., Heiranizadeh, N., Morovati-Sharifabad, M., Akbarian-Bafghi, M., ..., Neamatzadeh, H. (2019). Association of Promoter Region Polymorphisms of IL-10 Gene with Susceptibility to Lung Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 20(7): 1951-1957. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.7.1951
- Kelsey, K. T., Ross, D., Traver, R. D., Christiani, D. C., Zuo, Z. F., Spitz, M. R., ... Wiencke, J. K. (1997). Ethnic variation in the prevalence of a common NAD(P)H quinone oxidoreductase polymorphism and its implications for anti-cancer chemotherapy. *British Journal of Cancer*. 76(7), 852–854. <https://doi.org/10.1038/bjc.1997.474>
- Khorsandi, K., & Rabbani-Chadegani, A. (2014). Investigation on the chromium oxide interaction with soluble chromatin and histone H1: A spectroscopic study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.018>
- Kondo, K., Takahashi, Y., Hirose, Y., Nagao, T., Tsuyuguchi, M., Hashimoto, M., Ochiai, A., Monden, Y., & Tangoku, A. (2006). The reduced expression and aberrant methylation of p16(INK4a) in chromate workers with lung cancer. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 53(3), 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2006.05.022>
- Lazarus, R., Vercelli, D., Palmer, L.J., Klimecki, W.J., Silverman, E.K., Richter, B., ..., Martinez, F.D. (2002). Single nucleotide polymorphisms in innate immunity genes: abundant variation and potential role in complex human disease. *Immunological Reviews*. 190, 9-25. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2002.19002.x>
- Lee, A. J., Hodges, N. J., & Chipman, J. K. (2005). Interindividual variability in response to sodium dichromate-induced oxidative DNA damage: Role of the Ser326Cys polymorphism in the DNA-repair protein of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine DNA glycosylase 1. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14(2), 497–505. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0295>

- Lee, P. L., West, C., Crain, K., & Wang, L. (2006). Genetic polymorphisms and susceptibility to lung disease. *Journal of Negative Results in Biomedicine*, 5, 5. <https://doi.org/10.1186/1477-5751-5-5>
- Lee, I-T. & Yang, C-M. (2012), Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases, *Biochemical Pharmacology*. 84, 581–590
- Levina, A., Harris, H. H., & Lay, P. A. (2006). Binding of chromium(VI) to histones: Implications for chromium(VI)-induced genotoxicity. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 11(2), 225–234. <https://doi.org/10.1007/s00775-005-0068-3>
- Levina, A., Pham, T. H. N., & Lay, P. A. (2016). Binding of Chromium(III) to Transferrin Could Be Involved in Detoxification of Dietary Chromium(III) Rather than Transport of an Essential Trace Element. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(28), 8104–8107. <https://doi.org/10.1002/anie.201602996>
- Li, W., Zhang, M., Huang, C., Meng, J., Yin, X., & Sun, G. (2019). Genetic variants of DNA repair pathway genes on lung cancer risk. *Pathology - Research and Practice*, 215(10), 152548. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152548>
- Li, Y., Li, P., Yu, S., Zhang, J., Wang, T., & Jia, G. (2014). MiR-3940-5p associated with genetic damage in workers exposed to hexavalent chromium. *Toxicology Letters*, 229(1), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.06.033>
- Linqing, Y., Bo, X., Xueqin, Y., Hong, D., Desheng, W., Huimin, Z., ... Zhixiong, Z. (2016). Mitochondrial DNA hypomethylation in chrome plating workers. *Toxicology Letters*, 243, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.11.031>
- Ma, Y., Yang, X., Xie, Y., Yi, C., Zhao, F., Huang, Y. (2019). Association of Matrix Metalloproteinase1-1607 1G>2G Polymorphism and Lung Cancer Risk: An Update by Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 20, 1841-1847. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.6.1841
- Maret, W. (2019). Chromium in Human Health, Metabolic Syndrome, and Diabetes, in: “Essential Metal in Medicine the Clinic: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic”, P. L. Carver guest ed., Vol. 19 of ‘Metal Ions in Life Sciences’, A. Sigel, E. Freisinger, R. K. O. Sigel, eds.; W. de Gruyter, Berlin, Germany, 231-251.
- Mertz, W., and K. Schwarz. (1955). Impaired intravenous glucose tolerance as an early sign of dietary necrotic liver degeneration. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 58 (2), 504–6. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(55\)90151-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(55)90151-x)
- National Institutes of Health (NIH) (2019), Office of Dietary Supplements Chromium

- Supplement Fact Sheet, updated in July 9, 2019, accessed in Feb 5th, 2020 and available in <https://ods.od.nih.gov/factsheets/chromium>
- Ngo, B., Van Riper, J.M., Cantley, L.C., Yun, J. (2019). Targeting cancer vulnerabilities with high-dose vitamin C. *Nature Reviews Cancer*, 19(5), 271–282. <http://doi:10.1038/s41568-019-0135-7>
- O'Brien, T. J., Brooks, B. R., & Patierno, S. R. (2005). Nucleotide excision repair functions in the removal of chromium-induced DNA damage in mammalian cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 279(1–2), 85–95. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-8225-0>
- O'Brien, T. J., Witcher, P., Brooks, B., & Patierno, S. R. (2009). DNA polymerase zeta is essential for hexavalent chromium-induced mutagenesis. *Mutation Research*, 663(1–2), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.01.012>
- Poliseno, L., & Pandolfi, P. P. (2015). PTEN ceRNA networks in human cancer. *Methods* (77–78), 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.01.013>
- Proctor, D. M, Suh, M., Campleman and Thompson, C. M. (2014). Assessment of the mode of action for hexavalent chromium-induced lung cancer following inhalation exposures, *Toxicology* 325, 160–179. <http://doi:10.1016/j.tox.2014.08.009>
- Qu, Q., Li, X., An, F., Jia, G., Liu, L., Watanabe-Meserve, H., ... Yan, L. (2008). CrVI exposure and biomarkers: Cr in erythrocytes in relation to exposure and polymorphisms of genes encoding anion transport proteins. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 13(5), 467–477.
- Quievryn, G., Peterson, E., Messer, J., & Zhitkovich, A. (2003). Genotoxicity and mutagenicity of chromium(VI)/ascorbate-generated DNA adducts in human and bacterial cells. *Biochemistry*, 42(4), 1062–1070. <https://doi.org/10.1021/bi0271547>
- Reynolds, M., Stoddard, L., Bepalov, I., & Zhitkovich, A. (2007). Ascorbate acts as a highly potent inducer of chromate mutagenesis and clastogenesis: Linkage to DNA breaks in G2 phase by mismatch repair. *Nucleic Acids Research*, 35(2), 465–476. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl1069>
- Sarlinova, M., Majerova, L., Matakova, T., Musak, L., Slovakova, P., Skereňová, M., ... Halašová, E. (2015). Polymorphisms of DNA repair genes and lung cancer in chromium exposure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 833, 1–8. https://doi.org/10.1007/5584_2014_82
- Schnekenburger, M., Talaska, G., & Puga, A. (2007). Chromium cross-links histone

- deacetylase 1-DNA methyltransferase 1 complexes to chromatin, inhibiting histone-remodeling marks critical for transcriptional activation. *Molecular and Cellular Biology*, 27(20), 7089–7101. <https://doi.org/10.1128/MCB.00838-07>.
- Schwarz, K., & W. Mertz. (1959). “Chromium(III) and the glucose tolerance factor.” *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 85, 292–295. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90479-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90479-5).
- Sharma, P., Bihari, V., Agarwal, S. K., Goel, S. K., Sharma, P., Bihari, V., ... Goel, S. K. (2012). Genetic Predisposition for Dermal Problems in Hexavalent Chromium Exposed Population, *Journal of Nucleic Acids*, e968641. <https://doi.org/10.1155/2012/968641>, 10.1155/2012/968641
- Shi, X. L., & Dalal, N. S. (1989). Chromium (V) and hydroxyl radical formation during the glutathione reductase-catalyzed reduction of chromium (VI). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 163(1), 627–634. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(89\)92183-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(89)92183-9)
- Stock, C.J.W., De Lauretis, A., Visca, D., Daccord, C., Kokosi, M., Kouranos, V.,..., Renzoni, E.A. (2020). Defining genetic risk factors for scleroderma-associated interstitial lung disease. *Clinical Rheumatology*. <https://doi.org/10.1007/s10067-019-04922-6>
- Sun, H., Zhou, X., Chen, H., Li, Q., & Costa, M. (2009). Modulation of histone methylation and MLH1 gene silencing by hexavalent chromium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 237(3), 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.008>
- Teklay, A. (2016) Physiological Effect of Chromium Exposure: A Review. *International Journal Food Science Nutrition Dietetics*, S7:001, 1-11. <http://dx.doi.org/10.19070/2326-3350-SI07001>
- Tinaburri, L., D’Errico, M., Sileno, S., Maurelli, R., Degan, P., Magenta, A., & Dellambra, E. (2018). MiR-200a modulates the expression of the DNA repair protein OGG1 playing a role in aging of primary human keratinocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2018/9147326>
- Vincent, J. B., (2017). New evidences against chromium as an essential trace element. *The Journal of Nutrition*, 147, 2212–2219. <https://doi.org/10.3945/jn.117.255901>
- Vincent, J. B. (2019). Effects of chromium supplementation on body composition, human and animal health, and insulin and glucose metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 22(6), 483–489. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000604>

- Wakeman, T. P., Yang, A., Dalal, N. S., Boohaker, R. J., Zeng, Q., Ding, Q., & Xu, B. (2017). DNA mismatch repair protein Mlh1 is required for tetravalent chromium intermediate-induced DNA damage. *Oncotarget*, 8(48), 83975–83985. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20150>
- Wang, B. J., Shiao, J. S., Chen, C. J., Lee, Y. C., & Guo, Y. L. (2007). Tumour necrotizing factor- α promoter and GST-T1 genotype predict skin allergy to chromate in cement workers in Taiwan. *Contact Dermatitis*, 57(5), 309–315. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2007.01242.x>
- Wang, X., Son, Y.-O., Chang, Q., Sun, L., Hitron, J. A., Budhraj, A., Zhang, Z., Ke, Z., Chen, F., Luo, J., and Shi, X., (2011). NADPH Oxidase Activation Is Required in Reactive Oxygen Species Generation and Cell Transformation Induced by Hexavalent Chromium. *Toxicological Sciences* 123(2), 399–410
- Wang, C. D., Sun, Y., Chen, N., Huang, L., Huang, J.W., Zhu, M., Wang, T., & Ji, Y. L. (2016). The Role of Catalase C262T Gene Polymorphism in the Susceptibility and Survival of Cancers. *Scientific Reports*, 6, 26973. <https://doi.org/10.1038/srep26973>
- Wang, Y., Su, H., Gu, Y., Song, X., & Zhao, J. (2017). Carcinogenicity of chromium and chemoprevention: A brief update. *OncoTargets and Therapy*, 10, 4065–4079. <https://doi.org/10.2147/OTT.S139262>
- Welling, R., Beaumont, J. J., Petersen, S. J., Alexeeff, G. V., & Steinmaus, C. (2015). Chromium VI and stomach cancer: A meta-analysis of the current epidemiological evidence. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(2), 151–159. <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102178>
- Wise, S.S., Aboueissa, A.E.-M., Martino, J., Wise, J.P. (2018). Hexavalent Chromium-induced chromosome instability drives permanent and heritable numerical and structural changes and a DNA repair-deficient phenotype. *Cancer Research*. 78 (15). 4203–4214. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0531>
- Wu, F. Y., Tsai, F. J., Kuo, H. W., Tsai, C. H., Wu, W. Y., Wang, R. Y., & Lai, J. S. (2000). Cytogenetic study of workers exposed to chromium compounds. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 464(2), 289–296. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00206-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00206-5)
- Xia, B., Ren, X., Zhuang, Z., Yang, L., Huang, H., Pang, L., ... Zou, F. (2014). Effect of hexavalent chromium on histone biotinylation in human bronchial epithelial cells. *Toxicology Letters*, 228(3), 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.010>

- Xia, W., Hu, J., Zhang, B., Li, Y., Wise, J. P., Bassig, B. A., ..., Xu, S. (2016). A case-control study of maternal exposure to chromium and infant low birth weight in China. *Chemosphere*, 144, 1484–1489. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.006>
- Yamada, N., Yamaya, M., Okinaga, S., Nakayama, K., Sekizawa, K., Shibahara, S., & Sasaki, H. (2000). Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema. *American Journal of Human Genetics*, 66(1), 187–195. <https://doi.org/10.1086/302729>
- Zhang, X., Zhang, X., Zhang, L., Chen, Q., Yang, Z., Yu, J., ... Zhu, Y. (2012). XRCC1 Arg399Gln was associated with repair capacity for DNA damage induced by occupational chromium exposure. *BMC Research Notes*, 5, 263. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-263>
- Zhou, W., Yu, T., Vazin, M., Ding, J., & Liu, J. (2016). Cr³⁺ Binding to DNA Backbone Phosphate and Bases: Slow Ligand Exchange Rates and Metal Hydrolysis. *Inorganic Chemistry*, 55(16), 8193–8200. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b01357>

SUPPORTING INFORMATION

Table 1: Proteins and enzymes involved in Chromium biotransformation.

Step Cr biotransformation	Protein	EC*	Gene	Gene by HGNC*	Protein principal functions
Transmembrane transportati on CrIII	Ferritin (Tf)	-	Ferritin (Tf)	Tf, 11740	Transmembrane transporter activity. Plasma transferrin is a crucial player in iron metabolism.
Transmembrane transportati on Cr VI	Band 3 protein (AE1)	-	EPB3	SLC4A 1, 11027	Anion exchanger, romotes the correct folding and translocation of the exchanger.
Cr(VI) reduction	Quinone oxide reductase (NQO1)	1.7.5.1	NQO1	NQO1, 2874	Ensure quinone reduction to hidroquinone, scaverges superoxide.
Cr(VI) reduction	Heme oxygenase-1	-	HO-1	HMOX 1, 5013	Catalyses degradation of heme group to monoxide.
Cr(VI) reduction	Catalase (CAT)	1.11.1.6	CAT	CAT, 1516	Key antioxidant enzyme in the bodies defense against oxidative stress. Catalyses hydrogen peroxide into oxygen and water.
Cr(VI) reduction	Superoxide dismutase (SOD)	1.15.1.1	SOD	SOD1, 11179	Responsible for destroying free superoxide radicals in the body. Convert superoxide radicals to molecular oxygen and hydrogen peroxide.
Cr(VI) reduction	Glutathione S-transferase (GSTT1)	2.5.1.18	GSTT1	GSTT1, 4641	Promotes the nucleophilic attack by glutathione on electrophilic molecules.

Continue on next page

*Enzyme Committed; **HUGO Gene nomenclature committee: approved symbol, ID HGNC

Table 1 (Continued)

Step Cr biotransformation	Protein	EC*	Gene	Gene by HGNC*	Protein principal functions
Cr(VI) reduction	Glutathione S-transferase (GSTM1)	2.5.1.18	GSTM1	GSTM1, 4632	Promotes the detoxification of electrophilic compounds and products of oxidative stress.
Cr(VI) reduction	Glutathione peroxidase (GPX)	1.11.1.9	GPX	GPX3, 4555	Catalyzes the reduction of organic hydroperoxides and hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)
Cr(VI) reduction	Cytochrome P450 system	-	Cyp1a1	Cyp1a1, 2595	The cytochrome P450 proteins catalyzes drug and xenobiotic metabolism
Cr(VI) reduction	Thioredoxin system (Trx1)	1.8.1.9	TrXR1	TXNRD1, 12437	Play a key role in redox homoeostasis.
Cr(VI) reduction	Thioredoxin system (Trx2)	1.8.1.9	TrXR2	TXNRD2, 18155	Play a key role in redox homoeostasis.
Cr(VI) reduction	Thioredoxin system (Trx3)	1.8.1.9	TrXR3	TXNRD3, 20667	Play a key role in redox homoeostasis. Participate in both Trx and glutathione systems
Cr(VI) reduction	Peroxiredoxin (Prx1)	1.11.1.15	Prx1	PRDX1, 9352	Antioxidant enzymes, which reduce hydrogen peroxide and alkyl hydroperoxides. Contribute to the antiviral activity of CD8(+) T-cells.
Cr(VI) reduction	Peroxiredoxin (Prx3)	1.11.1.15	Prx3	PRDX3, 9354	Antioxidant function.

Continue on next page

*Enzyme Commission; **HUGO Gene nomenclature committee: approved symbol, ID HGNC

Table 1 (Continued)

Step Cr biotransfo rmation	Protein	EC*	Gene	Gene by HGNC*	Protein principal functions
DNA repair	MutL homolog 1 (hMLH1)	-	hMLH1	hMLH1, 7127	part of the DNA mismatch repair system.
DNA repair	X-ray repair cross- complemti ng protein 1 (XRCC1)	-	XRCC1	XRCC1, 12828	Corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. Participates in the base excision repair pathway.
DNA repair	Xeroderma pigmentosu m group D protein(XPD)	-	XPB	ERCC2, 3434	Cellular response to DNA damage stimulus in transcription- coupled nucleotide excision repair, 5'-3' DNA helicase activity
DNA repair	xeroderma pigmentosu m, complement ation group G protein (XPG)	-	XPG	ERCC5, 3437	Endonuclease that makes the 3' incision in DNA excision repair, also function in RNA polymerase II transcription, and transcription-coupled DNA repair.
DNA repair	Xeroderma pigmentosu m group C protein (XPC)	-	XPC	XPC, 12816	Plays an important role in the early steps of global genome nucleotide excision repair (NER), for damage sensing and DNA binding, and shows a preference for single-stranded DNA.

*Enzyme Committed; **HUGO Gene nomenclature committee: approved symbol, ID HGNC

5. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho abordou diversos aspectos da interação toxicológica de alguns metais, da identificação da exposição até a individualidade pessoal em função da genética ou epigenética. Foi imprescindível iniciar esta discussão descrevendo possibilidades da exposição, uma vez que na maioria das vezes, ao contrário do que ocorre na exposição por via respiratória com o cromo na exposição ocupacional, a exposição cutânea aos metais está acontecendo de forma velada e inadvertida. É indispensável que a exposição seja não apenas conhecida, mas minimamente controlada ou, pesquisas mais aprofundadas e medidas terapêuticas mais sofisticadas não terão eficácia e sentido, já que, a toxicidade é o resultado do deslocamento deste delicado equilíbrio entre a capacidade de defesa do organismo humano e a oferta destes íons metálicos no ambiente. Esta situação de equilíbrio é por vezes sustentada ou deteriorada por inúmeros fatores que competem fortemente na modificação deste impacto do ambiente sobre a saúde, tal como quando, por exemplo, um indivíduo se torna menos susceptível a adquirir uma alergia por tratar-se de exposição a alérgeno de baixa potência, ou mais susceptível a adquirir determinada sensibilidade em função de uma condição de insuficiência venosa, entre outros. Afinal, é preciso uma condição em que a própria exposição não seja de alto risco ou, em outras palavras, determinante, para que se possa identificar e caracterizar a individualidade que torna certos sujeitos ou grupos mais susceptíveis ou, mais resistentes a um agente específico.

Com base nos estudos que compõem o presente trabalho é possível depreender a importância do conhecimento e avaliação dos parâmetros preditivos para a ocorrência da dermatite de contato junto a diferentes populações do país, diversas comunidades e subgrupos. Assim como conhecer as suas características socioculturais e ocupacionais, maximizando a eficácia de ações preventivas e de controle nas situações de alergia deflagradas, contando com maior adesão do paciente. Neste sentido, o emprego do índice MOAHLFA, da razão de positividade, e do índice de reação possibilitam a comparabilidade entre as diferentes populações nacionais e com populações estrangeiras, verificando inclusive o efeito de possíveis intervenções.

Além disso, importa também estudos e medidas práticas visando diminuir a subnotificação destas enfermidades de cunho ocupacional, como por exemplo a dermatite de contato a cromato em trabalhadores da construção civil, entre outras. O diagnóstico da dermatite de contato e estabelecer a sua causalidade é tarefa sem dúvida bastante complexa.

Por outro lado, estudos como a aplicação de um teste simples de triagem, como a

identificação da liberação de íons níquel com a dimetilglioxima mostrou-se uma forma fácil e eficaz para identificação de risco, em ferramentas de trabalho e objetos pessoais pelo próprio paciente. A utilização de utensílios ou de ferramentas feitas em ligas de níquel é uma das principais fontes de alergias a este metal. De fato, testes realizados com a utilização da dimetilglioxima como reagente seletivo identificou a liberação de íons Ni^{+2} sobre 91% dos utensílios regularmente usados no Brasil. Para a maioria dos utensílios, não há substitutos no mercado ou proteção adequada além de luvas.

Embora não exista uma regulamentação restritiva para os níveis de níquel no Brasil, é essencial que os consumidores estejam cientes da composição de objetos e utensílios, inclusive caráter preventivo, evitando a sensibilização e elicitação.

Novos estudos identificando a liberação de cromo e cobalto podem ser realizados em breve complementando a este.

A alergia de contato causada pelos metais estudados é um problema que merece atenção no Brasil, como demonstrado pela prevalência observada na cidade do Rio de Janeiro: níquel 28%, cobalto 13,2% e cromo 11,4%.

As manifestações alérgicas atingem igualmente a todas as etnias mas, no caso do níquel, as mulheres abaixo de 40 anos foram as mais predispostas. Para o cromo, prevaleceu a origem ocupacional, enquanto o cobalto demonstrou um aumento do risco associado a sensibilidade ao níquel e ao cromo, devido a cossensibilização.

Sensibilizando tanto a homens como mulheres, associado a atividade da construção civil e também a exposição ambiental, ficou evidente a necessidade de maiores investigações quanto ao perfil de exposição de pacientes alérgicos ao cobalto que permanece pouco compreendido.

Foi observado que pacientes sensíveis a metais, particularmente a níquel, apresentaram redução significativa de chance de apresentar psoríase em 76,7%. As alergias a níquel e cobalto foram associadas a doenças crônicas como hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes.

A sensibilização a metais não apenas representa um problema em si, mas ainda um fator de risco para a polissensibilização dos sujeitos. A alergia ao cromo aumentou em 8,9 vezes a chance do paciente apresentar múltiplas alergias (polissensibilização). Na população estudada 24,9% apresentou polissensibilização. Nestes casos, os agentes mais associados a alergia aos metais foram os aceleradores de borracha presentes nos equipamentos de proteção individual, principalmente para os sujeitos com atividade na construção civil.

Os sujeitos com atividade na construção civil mostraram-se um subgrupo de maior

vulnerabilidade, com menor habilitação literária (44% não completou o ensino fundamental), dificuldade de acesso aos serviços de saúde pela carência econômica, sofreram intensiva exposição ao cimento, com múltiplas alergias além de alergia a cromo, incluindo aditivos dos equipamentos de proteção, comprometendo principalmente mãos e pés.

Os mecanismos que provocam as diversas patologias associadas à exposição ao cromo, bem como aos demais metais, ainda necessitam maiores esclarecimentos. Foi evidenciada a importância de fatores externos e de ordem individual, especialmente genéticas e epigenéticas, nessas manifestações patológicas.

A possibilidade de monitorar as variações da toxicidade do cromo através da análise genética ainda é especulativa, mas a identificação das características individuais, particularmente os polimorfismos de enzimas dos sistemas de reparo de DNA - sugerem o potencial de um plano terapêutico personalizado para a prevenção e o tratamento dessas manifestações. A geração desses conhecimentos, no entanto, exige inúmeros saberes de modo que deve ser realizada por equipes multiprofissionais. Somente assim, acredita-se que os conhecimentos gerados por disciplinas como a genética, a epigenética e relacionadas, a química, a bioquímica e a toxicologia podem ser conjuntamente avaliados para o melhor entendimento dos mecanismos das patologias humanas. As tecnologias necessárias para isto já estão disponíveis ou sendo disponibilizadas.

A tendência atual das disciplinas que compõem a área de saúde passa pela determinação dos fatores individuais que determinam o comportamento dos organismos frente as ameaças patogênicas. O advento das tecnologias ômicas associada ao desenvolvimento da informática colocou à disposição dos profissionais instrumentação capaz de produzir e avaliar simultaneamente grande quantidade de dados facilitando a transposição de uma ciência monodisciplinar e totalmente reducionista para uma mais integradora. Trabalhos futuros devem caminhar nesse sentido, sendo propostas como linhas de pesquisa atuações: 1) Identificação de fatores genéticos e epigenéticos que favoreçam a sensibilização a estes metais, em população polissensibilizada em condições de baixa exposição; 2) Identificação de fatores genéticos e epigenéticos que comprometam a pele enquanto função de barreira; 3) Identificação de padrões de distribuição de citocinas entre populações sensibilizadas; 4) Estudo de biomarcadores da suscetibilidade humana a cromo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACGIH. Threshold Limit Values (TLVs) for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices for 2003. 2003.

_____. Threshold Limit Values (TLVs) for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices for 2013. 2013.

ADMIN. CIMENTO NO MUNDO. Cimento.Org - **O Mundo do Cimento**, 7. set. 2014. Disponível em: <<http://cimento.org/cimento-no-mundo/>>. Acesso em: 11/8/2016.

AGNER, T.; ELSNER, P. Hand eczema: epidemiology, prognosis and prevention. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 34, n. S1, p. 4–12, 2020.

AHLSTRÖM, M. G. et al. Nickel allergy and allergic contact dermatitis: A clinical review of immunology, epidemiology, exposure, and treatment. **Contact Dermatitis**, v. 81, n. 4, p. 227–241, 2019.

AHLSTRÖM, M. G. et al. Nickel allergy in a Danish population 25 years after the first nickel regulation. **Contact Dermatitis**, v. 76, n. 6, p. 325–332, jun. 2017.

ALCHORNE, A. de O. DE A.; ALCHORNE, M. M. de A.; SILVA, M. M. Dermatoses Ocupacionais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 2, p. 137–147, abr. 2010.

ALI, A. H. K., KONDO, K., NAMURA, T., SENBA, Y., TAKIZAWA, H., NAKAGAWA, Y., ... TANGOKU, A. (2011). Aberrant DNA methylation of some tumor suppressor genes in lung cancers from workers with chromate exposure. **Molecular Carcinogenesis**, 50(2), 89–99. <https://doi.org/10.1002/mc.20697>

ALI, A. S. *Dermatoses ocupacionais*. 2ª ed., São Paulo, Editora da Fundacentro, 2010.

ALINAGHI, F. et al. Causative exposures and temporal development of cobalt allergy in Denmark between 2002 and 2017. **Contact Dermatitis**, v. 81, n. 4, p. 242–248, out. 2019b.

ALINAGHI, F. et al. Prevalence of contact allergy in the general population: A systematic review and meta-analysis. **Contact Dermatitis**, v. 80, n. 2, p. 77–85, 2019a.

ALMUTAIRI, N.; ALMUTAWA, F. The role of nickel allergy in hand dermatitis and its impact on handling cupronickel currency coins. A comparative cohort study from Kuwait. **Advances in Dermatology and Allergology**, v. 34, n. 4, p. 313–321, ago. 2017.

ALVES, H. Educação para a Saúde-A contribuição de Rotary-Espaço Lusofonia-CPLP. IV Seminário Rotário dos Países de Língua Portuguesa, 21-22 junho 2013, 2013.

ANDERSEN, K. E.; HJORTH, N.; MENNÉ, T. The baboon syndrome: systemically-induced allergic contact dermatitis. **Contact Dermatitis**, v. 10, n. 2, p. 97–100, fev. 1984.

ANOUSHIRVANI, A. A., AGHABOZORGI, R., AHMADI, A., ARJOMANDZADEGAN, M., KHALILI, S., SAHRAEI, M., ... KHADEMI, Z. (2019).

The Relationship Between rs3212986C>A Polymorphism and Tumor Stage in Lung Cancer Patients. *Cureus*. *Cureus* 11(4): e4423. <https://doi.org/10.7759/cureus.4423>

AQUINO, M.; ROSNER, G. Systemic Contact Dermatitis. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 56, n. 1, p. 9–18, 1 fev. 2019.

AQUINO, M. et al. Mobile Phones: Potential Sources of Nickel and Cobalt Exposure for Metal Allergic Patients. **Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology**, v. 26, n. 4, p. 181–186, 1 dez. 2013.

Arakawa, H., Weng, M., Chen, W., & Tang, M. (2012). Chromium (VI) induces both bulky DNA adducts and oxidative DNA damage at adenines and guanines in the p53 gene of human lung cells. *Carcinogenesis*, 33(10), 1993–2000. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs237>

ARRUDA, S. C. C. et al. Two-dimensional difference gel electrophoresis applied for analytical proteomics: fundamentals and applications to the study of plant proteomics. **Analyst**, v. 136, p. 4119-4126, 2011.

ARTUS, G.; BONAMIGO, R. R.; CAPPELLETTI, T. Dermatite de contato alérgica: prevalência dos agentes sensibilizantes em amostra de Porto Alegre, Brasil. **Revista da AMRIGS**, v. 55, n. 2, p. 155–159, 2011.

ASLAN, A. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. Determination of heavy metal toxicity of finished leather solid waste, v. 82, n. 5, p. 633–638, 2009.

ASTDR. Toxicological Profile for Nickel. Syracuse: U.S. Department of Health & Human Services 2000.

_____. Toxicological profile for cobalt 2004.

_____. Toxicological profile for chromium. Syracuse: U.S. Department of Health & Human Services 2012.

AUGUSTIN, M. et al. Cost-of-illness of patients with chronic hand eczema in routine care: results from a multicentre study in Germany. **The British Journal of Dermatology**, v. 165, n. 4, p. 845–851, out. 2011.

AVNSTORP, C. Follow-up of workers from the prefabricated concrete industry after the addition of ferrous sulphate to Danish cement. **Contact Dermatitis**, v. 20, n. 5, p. 365-371, 1989.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. *Metais: gerenciamento da toxicidade*. São Paulo: Atheneu, 2003. 554.

BACCAN N, Introdução à semimicroanálise qualitativa. Campinas: Editora da UNICAMP; 1980: 193.

BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, S. J. (2001). Chromium (VI)-induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 222(1–2), 149–158.

BARCELOUX, D. G.; BARCELOUX, D. D. Cobalt. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 201–216, 1 jan. 1999.

BELIAUSKIENE, A. et al. The European baseline series in Lithuania: results of patch testing in consecutive adult patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 25, n. 1, p. 59–63, 2011.

BENITE, A. M. C.; DE P. MACHADO, S.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. *Química Nova*, v. 30, n. 8, p. 2062, 2007.

BEYERSMANN, D., & HARTWIG, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: Recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Archives of Toxicology*, 82(8), 493–512. <https://doi.org/10.1007/s00204-008-0313-y>

BIESTERBOS, J.; YAZAR, K.; LIDÉN, C. Nickel on the Swedish market: follow-up 10 years after entry into force of the EU Nickel Directive. *Contact Dermatitis*, v. 63, n. 6, p. 333–339, dez. 2010.

BOONSTRA, M. B. et al. Patch test results of hand eczema patients: relation to clinical types. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 29, n. 5, p. 940–947, 2015.

BRANDÃO, M. H. T. et al. Ear piercing as a risk factor for contact allergy to nickel. *Jornal de Pediatria*, v. 86, n. 2, p. 146–154, abr. 2010.

BRASCH, J.; HENSELER, T. The reaction index: a parameter to assess the quality of patch test preparations. *Contact Dermatitis*, v. 27, n. 3, p. 203–204, set. 1992.

BRASCH, J.; SCHNUCH, A.; UTER, W. Strong allergic patch test reactions may indicate a general disposition for contact allergy. *Allergy*, v. 61, n. 3, p. 364–369, 2006.

BRASIL. Ministério do Trabalho. Secretaria de Relações do trabalho. Aprovação da Normas Regulamentadoras -, da Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho. Portaria nº3.214 de 8 de jun. 1978.

BRASIL. Ministério do Trabalho. Secretaria de Relações do trabalho. Alteração da redação da Norma Regulamentadora – 7 – Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. Portaria nº24 de 29 de dez. 1994.

BREGNBAK, D. et al. Characteristics of chromium-allergic dermatitis patients prior to regulatory intervention for chromium in leather: a questionnaire study. *Contact Dermatitis*, v. 71, n. 6, p. 338–347, 1 dez. 2014.

BREGNBAK, D. et al. Chromium allergy and dermatitis: prevalence and main findings. *Contact Dermatitis*, v. 73, n. 5, p. 261–280, nov. 2015.

BROWNING, C. L., & Wise, J. P. (2017). Prolonged exposure to particulate chromate inhibits RAD51 nuclear import mediator proteins. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 331, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.030>

BRUTTI, C. S. et al. Occupational and non-occupational allergic contact dermatitis and quality of life: a prospective study. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 88, n. 4, p. 670–671, ago. 2013.

BUTERS, J.; BIEDERMANN, T. Chromium(VI) Contact Dermatitis: Getting Closer to Understanding the Underlying Mechanisms of Toxicity and Sensitization! **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, n. 2, p. 274–277, fev. 2017.

CALAMITA, Z. et al. Main Allergens Observed in Patients with Contact Dermatitis in a Brazilian Population Group. **The Open Dermatology Journal**, v. 9, n. 1, 2 nov. 2015.

CAPORALI, S.; BARDI, U. Corrosion Mechanism in Artificial Sweat Solution of In-Bearing White Bronze Alloy. **CORROSION**, v. 68, n. 2, p. 025001-1- 025001–8, fev. 2012.

CARLSEN, B. C. et al. Patients with multiple contact allergies: a review. **Contact Dermatitis**, v. 58, n. 1, p. 1–8, 2008.

CEMPEL, M.; NIKEL, G. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 3, p. 375–382, 2006.

CHEN, Y.-X. et al. Survey of Occupational Allergic Contact Dermatitis and Patch Test among Clothing Employees in Beijing. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.

CHRISTENSEN, O. B.; MÖLLER, H. Nickel allergy and hand eczema. **Contact Dermatitis**, v. 1, n. 3, p. 129–135, jun. 1975.

CHRISTENSEN, J. M. Human exposure to toxic metals: factors influencing interpretation of biomonitoring results. **Science of The Total Environment**, v. 166, n. 1, p. 89–135, 21 abr. 1995.

CLASSEN, A. et al. The frequency of specific contact allergies is reduced in patients with psoriasis. **The British Journal of Dermatology**, v. 180, n. 2, p. 315–320, fev. 2019.

CONAMA, Resolução. 430, de 13 de maio de 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. Brasil, 2011.

CORRÊA-FISSMER, M. et al. Assessment of patch test results carried out during ten years in a city in southern Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 6, p. 807–812, dez. 2018.

CORTESSIS, V. K., THOMAS, D. C., LEVINE, A. J., BRETON, C. V., MACK, T. M., SIEGMUND, K. D., ... LAIRD, P. W. (2012). Environmental epigenetics: Prospects for studying epigenetic mediation of exposure–response relationships. **Human Genetics**, 131(10), 1565–1589. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1189-8>

CRÉPY, M.-N. Skin diseases in musicians. **European journal of dermatology: EJD**, v. 25, n. 5, p. 375–383, out. 2015.

CRUNDWELL, F. K. et al. Chapter 1 - Overview. In: CRUNDWELL, F. K. et al. (Eds.). *Extractive Metallurgy of Nickel, Cobalt and Platinum Group Metals*. Oxford: Elsevier, 2011. p. 1–18.

CZARNEK, K.; TERPIŁOWSKA, S.; SIWICKI, A. K. Selected aspects of the action of cobalt ions in the human body. **Central-European Journal of Immunology**, v. 40, n. 2, p. 236–242, 2015.

DA SILVA, C. S. *Um Estudo crítico sobre a saúde dos trabalhadores de Galvânicas, por meio das Relações entre as Avaliações Ambientais, Biológicas e Otorrinolaringológicas*. São Paulo: Fundacentro, 2003. 196.

DAYAN, A. D.; PAINE, A. J. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000. **Human & Experimental Toxicology**, v. 20, n. 9, p. 439–451, set. 2001.

DEKOVEN, J. G. et al. North American Contact Dermatitis Group Patch Test Results: 2015-2016. **Dermatitis: Contact, Atopic, Occupational, Drug**, v. 29, n. 6, p. 297–309, dez. 2018.

DELOUGHERY, Z., LUCZAK, M. W., & ZHITKOVICH, A. (2014). Monitoring Cr Intermediates and Reactive Oxygen Species with Fluorescent Probes during Chromate Reduction. **Chemical Research in Toxicology**, 27(5), 843–851.

DIEPGEN, T. L. et al. Cost of illness from occupational hand eczema in Germany. **Contact Dermatitis**, v. 69, n. 2, p. 99–106, ago. 2013.

DITTMAR, D. et al. European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA): polysensitization, 2009-2014. **Contact Dermatitis**, v. 78, n. 6, p. 373–385, jun. 2018.

DORJAY, K. et al. Study of morphological patterns and identification of contact sensitizers of hand eczema by patch test. **Journal of Pakistan Association of Dermatology**, v. 29, n. 2, p. 151–158, 6 out. 2019.

DUARTE, I. A. G. et al. Patch test standard series recommended by the Brazilian Contact Dermatitis Study Group during the 2006-2011 period. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 6, p. 1015–1018, dez. 2013.

DUARTE, I. et al. Metal contact dermatitis: prevalence of sensitization to nickel, cobalt and chromium. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 2, p. 137–142, 2005.

DUARTE, I. et al. Nickel, chromium and cobalt: the relevant allergens in allergic contact dermatitis. Comparative study between two periods: 1995-2002 and 2003-2015. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 1, p. 59–62, fev. 2018.

DUARTE, I.; ROTTER, A.; LAZZARINI, R. Frequency of occupational contact dermatitis in an ambulatory of dermatologic allergy. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 455–459, ago. 2010.

DUBROVSKAYA, V. A., WETTERHAHN, K. E. (1998). Effects of Cr(VI) on the expression of the oxidative stress genes in human lung cells. **Carcinogenesis**, 19(8), 1401–1407.

EDWARDS, K. C., KIM, H., VINCENT, J. B. (2019). Release of trivalent chromium from serum transferrin is sufficiently rapid to be physiologically relevant. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 202, 110901. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110901>

EPA. Toxicological Review of Hexavalent chromium. Washington: EPA 2010.

EUROPEAN COMMISSION, 2003 European Commission. Directive 2003/53/EC of the European Parliament and of the Council. OJEU L178/24; 2003.

EUROPEAN COMMISSION, 2014 Commission Regulation (EU) No 301/20 European Commission, 2014. OJEU L90/1–3; 2014.

FANG, Z., ZHAO, M., ZHEN, H., CHEN, L., SHI, P., HUANG, Z. (2014). Genotoxicity of Tri- and Hexavalent Chromium Compounds In Vivo and Their Modes of Action on DNA Damage In Vitro. *Plos One* 9(8), e103194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103194>

FENG, H., LIU, J., HU, G., & JIA, G. (2018). The Role of Epigenetics in the Toxic Effects Induced by Hexavalent Chromium. **Reactive Oxygen Species**, 5(14), 107–117. <https://doi.org/10.20455/ros.2018.821>

FISCHER, T.; RYSTEDT, I. Hand eczema among hard-metal workers. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 8, n. 4–5, p. 381–394, 1985.

FOURNIER, P.-G.; GOVERS, T. R. Contamination by nickel, copper and zinc during the handling of euro coins. *Contact Dermatitis*, v. 48, n. 4, p. 181–188, abr. 2003

FREGERT, S.; GRUVBERGER, B. Solubility of cobalt in cement. *Contact Dermatitis*, v. 4, n. 1, p. 14–18, 1978.

FRIBERG, L.; NORDBERG, G. F. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Amsterdam: Elsevier, 1979.

FRIIS, U. F. et al. Allergic nickel dermatitis caused by playing the guitar: case report and assessment of nickel release from guitar strings. **Contact Dermatitis**, v. 67, n. 2, p. 101–103, ago. 2012

GALO, R. et al. Effects of chemical composition on the corrosion of dental alloys. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, n. 2, p. 141–148, 2012.

GAWKRODGER, D. J.; LEWIS, F. M.; SHAH, M. Contact sensitivity to nickel and other metals in jewelry reactors. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, n. 1 Pt 1, p. 31–36, jul. 2000.

GBEDC - Grupo Brasileiro de Estudo em Dermatite de Contato do Departamento Especializado de Alergia em Dermatologia da Sociedade Brasileira de Dermatologia. Estudo multicêntrico para elaboração de uma bateria-padrão brasileira de teste de contato. **Anais Brasileiros de Dermatologia**; 75, 147-56; 2000.

GEIER, J. et al. The positivity ratio – another parameter to assess the diagnostic quality of a patch test preparation. **Contact Dermatitis**, v. 48, n. 5, p. 280–282, 2003.

GONÇALVES, B. D. Liberação de Níquel em Ligas de Aço Niquelado Utilizadas em Encordoamentos de Guitarras Elétricas. p. 63, 2017.

GONZALEZ, K. R.; Toxicologia Do Níquel. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental E Sociedade** 9 (2). <http://revistarevinter.com.br/index.php/toxicologia/article/view/242>, accessed August 19, 2016.

GUTTMANN, D. et al. Reduction with glutathione is a weakly mutagenic pathway in chromium (VI) metabolism. **Chemical research in toxicology**, v. 21, n. 11, p. 2188–2194, 2008.

HAFNER, M. DE F. S. et al. Evaluation of nickel and cobalt release from mobile phone devices used in Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 1, p. 151–153, fev. 2018.

HALASOVA, E., MATAKOVA, T., MUSAK, L., POLAKOVA, V., LETKOVA, L., DOBROTA, D., & VODICKA, P. Evaluating chromosomal damage in workers exposed to hexavalent chromium and the modulating role of polymorphisms of DNA repair genes. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 85(5), 473–481, 2012

HALASOVA, E., MATAKOVA, T., SKERENOVA, M., KRUTAKOVA, M., SLOVAKOVA, P., DZIAN, A., ... HAMZIK, J. Polymorphisms of Selected DNA Repair Genes and Lung Cancer in Chromium Exposure. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 911, 17–22, 2016.

HAMANN, C. R. et al. The cost of nickel allergy: a global investigation of coin composition and nickel and cobalt release. **Contact Dermatitis**, v. 68, n. 1, p. 15–22, 1 jan. 2013.

HANSEN, M. B., SKOV, L., MENNÉ, T., & OLSEN, J. (2005). Gene transcripts as potential diagnostic markers for allergic contact dermatitis. **Contact Dermatitis**, 53(2), 100–106.

HANSEN, M. B.; JOHANSEN, J. D.; MENNÉ, T. Chromium allergy: significance of both Cr(III) and Cr(VI). **Contact Dermatitis**, v. 49, n. 4, p. 206–212, 1 out. 2003.

HAUDRECHY, P. et al. Nickel release from nickel-plated metals and stainless steels. **Contact Dermatitis**, v. 31, n. 4, p. 249–255, out. 1994.

HELM, L.; MERBACH, A. E. Inorganic and Bioinorganic Solvent Exchange Mechanisms. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 6, p. 1923–1960, 1 jun. 2005.

HEMINGWAY, J. D.; MOLOKHIA, M. M. The dissolution of metallic nickel in artificial sweat. **Contact Dermatitis**, v. 16, n. 2, p. 99–105, 1987.

HU, G., LI, P., LI, Y., WANG, T., GAO, X., ZHANG, W., & JIA, G. (2016). Methylation levels of P16 and TP53 that are involved in DNA strand breakage of 16HBE cells treated by hexavalent chromium. **Toxicology Letters**, 249, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.03.003>

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC) Chromium, nickel and welding. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 49, 1–648, 1990.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Chromium, Nickel and Welding. Lyon: IARC, 1990.

_____. Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. v. 86, 1992.

IRIART, J. A. B. et al. Representações do trabalho informal e dos riscos à saúde entre trabalhadoras domésticas e trabalhadores da construção civil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 165–174, fev. 2008.

JENSEN, C. S. et al. Experimental systemic contact dermatitis from nickel: a dose-response study. **Contact Dermatitis**, v. 49, n. 3, p. 124–132, set. 2003.

JOHANSEN, J. D.; WERFEL, T. Highlights in allergic contact dermatitis 2018/2019. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 19, n. 4, p. 334, ago. 2019.

KALIMO, K. et al. Is it possible to improve the prognosis in nickel contact dermatitis? **Contact Dermatitis**, v. 37, n. 3, p. 121–124, set. 1997.

KRAFT, M. et al. Contact dermatitis and sensitization in professional musicians. **Contact Dermatitis**, 29 nov. 2018.

KELSEY, K. T., ROSS, D., TRAVER, R. D., CHRISTIANI, D. C., ZUO, Z. F., SPITZ, M. R., ... WIENCKE, J. K. (1997). Ethnic variation in the prevalence of a common NAD(P)H quinone oxidoreductase polymorphism and its implications for anti-cancer chemotherapy. **British Journal of Cancer**, 76(7), 852–854.

KHATAMI, A. et al. Allergic contact dermatitis to metal allergens in Iran. **International Journal of Dermatology**, v. 52, n. 12, p. 1513–1518, dez. 2013.

KHORSANDI, K., & RABBANI-CHADEGANI, A. (2014). Investigation on the chromium oxide interaction with soluble chromatin and histone H1: A spectroscopic study. **International Journal of Biological Macromolecules**, 70, 57–63.

KIM, H. S.; KIM, Y. J.; SEO, Y. R. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. **Journal of Cancer Prevention**, v. 20, n. 4, p. 232–240, dez. 2015.

KONDO, K., TAKAHASHI, Y., HIROSE, Y., NAGAO, T., TSUYUGUCHI, M., HASHIMOTO, M., OCHIAI, A., MONDEN, Y., & TANGOKU, A. The reduced expression and aberrant methylation of p16(INK4a) in chromate workers with lung cancer. **Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)**, 53(3), 295–302, 2006.

KRIDIN, K. et al. Chromate allergy in northern Israel in relation to exposure to cement and detergents. **Dermatitis**, v. 27 n. 3 p. 131–136, 2016.

KUMAR, V. Robbins & Cotran *Patologia - Bases Patológicas das Doenças*. [s.l.] Elsevier Health Sciences Brazil, 2011.

LACHAPELLE, J.-M.; MAROT, L. High nickel release from 1- and 2-euro coins: are there practical implications? **Dermatology** (Basel, Switzerland), v. 209, n. 4, p. 288–290, 2004.

LAZZARINI, R. et al. Allergic contact dermatitis among construction workers detected in a clinic that did not specialize in occupational dermatitis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 87, n. 4, p. 567–571, ago. 2012.

LAZZARINI, R.; DUARTE, I.; FERREIRA, A. L. Patch tests. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 6, p. 879–888, 2013.

LEE, A. J., HODGES, N. J., & CHIPMAN, J. K. Interindividual variability in response to sodium dichromate-induced oxidative DNA damage: Role of the Ser326Cys polymorphism in the DNA-repair protein of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine DNA glycosylase 1. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention** 14(2), 497–505, 2005. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0295>

LEES, P. S. Chromium and disease: review of epidemiologic studies with particular reference to etiologic information provided by measures of exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 92, p. 93–104, maio 1991.

LEUNG, D. Y. M.; BIEBER, T. Atopic dermatitis. **Lancet** (London, England), v. 361, n. 9352, p. 151–160, 11 jan. 2003.

LEVINA, A., HARRIS, H. H., LAY, P. A. Binding of chromium(VI) to histones: Implications for chromium(VI)-induced genotoxicity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, 11(2), 225–234, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00775-005-0068-3>

LEVINA, A., PHAM, T. H. N., LAY, P. A. Binding of Chromium(III) to Transferrin Could Be Involved in Detoxification of Dietary Chromium(III) Rather than Transport of an Essential Trace Element. **Angewandte Chemie International Edition**, 55(28), 8104–8107, 2016. <https://doi.org/10.1002/anie.201602996>

LEYSSENS, L. et al. Cobalt toxicity in humans—A review of the potential sources and systemic health effects. **Toxicology**, v. 387, p. 43–56, 15 jul. 2017.

LI, W., ZHANG, M., HUANG, C., MENG, J., YIN, X., SUN, G. Genetic variants of DNA repair pathway genes on lung cancer risk. **Pathology - Research and Practice**, 215(10), 152548. 2019 <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152548>

LI, Y., LI, P., YU, S., ZHANG, J., WANG, T., JIA, G. MiR-3940-5p associated with genetic damage in workers exposed to hexavalent chromium. **Toxicology Letters**, 229(1), 319–326, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.06.033>

LIDÉN, C.; JOHANSSON, S. Nickel on the Swedish market before the Nickel Directive. **Contact Dermatitis**, v. 44, n. 1, p. 7–12, 2001.

LIDÉN, C.; NORBERG, K. Nickel on the Swedish market. Follow-up after implementation of the Nickel Directive. **Contact Dermatitis**, v. 52, n. 1, p. 29–35, 1 jan. 2005.

LIDÉN, C. Metal Allergy: Nickel. In: CHEN, J. K.; THYSSEN, J. P. (Eds.). . *Metal Allergy: From Dermatitis to Implant and Device Failure*. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 423–434.

LIM, H. W. et al. The burden of skin disease in the United States. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 76, n. 5, p. 958- 972.e2, maio 2017.

LINQING, Y., BO, X., XUEQIN, Y., HONG, D., DESHENG, W., HUIMIN, Z, ZHIXIONG, Z. (2016). Mitochondrial DNA hypomethylation in chrome plating workers. **Toxicology Letters**, 243, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.11.031>

MACEDO, M. S. et al. Contact allergy in male construction workers in Sao Paulo, Brazil, 2000-2005. **Contact Dermatitis**, v. 56, n. 4, p. 232–234, abr. 2007.

MAHLER, V. Hand dermatitis--differential diagnoses, diagnostics, and treatment options. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG*, v. 14, n. 1, p. 7–26; quiz 27–28, jan. 2016.

MAHLER, V.; DICKEL, H. [Most important contact allergens in hand eczema]. *Der Hautarzt; Zeitschrift Fur Dermatologie, Venerologie, Und Verwandte Gebiete*, v. 70, n. 10, p. 778–789, out. 2019.

MARCUSSEN, P. V. Ecological considerations on nickel dermatitis. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 17, p. 65–68, jan. 1960.

MARSHALL, J. W., BANGERT, S.K. Clinical biochemistry metabolic and clinical aspects. In: MARSHALL, W. J.;LAPSLEY, M., *et al* (Ed.). *Clinical biochemistry metabolic and clinical aspects*. New York: Churchill Livingstone, 1995. p.182-183.

MARTIN, S. F. Immunological mechanisms in allergic contact dermatitis. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 15, n. 2, p. 124–130, abr. 2015.

MARTINS, L. E. A. M.; REIS, V. M. S. DOS. Imunopatologia da dermatite de contato alérgica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 419–433, jun. 2011.

MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A. Chromium speciation in cement and cement-related materials from Brazil. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2094–2097, 2009.

MELLO, T. A. DE; BARBOSA-BRANCO, A. Prevalência de benefícios auxílio-doença entre trabalhadores da Construção no Brasil em 2009. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 39, n. 130, p. 224–238, dez. 2014.

MELO, M. DAS G. M. Estudo de dermatoses em trabalhadores de uma indústria farmacêutica. 1999.

MELO, M. DAS G. M. et al. Sociodemographic and clinical profile of patients with occupational contact dermatitis seen at a work-related dermatology service, 2000 - 2014. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 94, n. 2, p. 147–156, abr. 2019.

MENNÉ, T.; HOLM, N. V. Hand eczema in nickel-sensitive female twins. Genetic predisposition and environmental factors. **Contact Dermatitis**, v. 9, n. 4, p. 289–296, jul. 1983.

MILOŠEV, I.; KOSEC, T. Metal ion release and surface composition of the Cu 18Ni 20Zn nickel silver during 30 days immersion in artificial sweat. **Applied Surface Science**, v. 254, p. 644–652, 1 nov. 2007

MINH, P. P. T. et al. Using Patch Testing to Improve Therapeutic Outcome in the Treatment of Hand Eczema in Vietnamese Patients. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 2, p. 204–207, 30 jan. 2019.

MIRANDA, F. M. D. et al. Dermatoses ocupacionais registradas em sistema de notificação na região Sul do Brasil (2007 a 2016). **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 16, n. 4, p. 442–450, 2018.

MORTZ, C. G.; BINDSLEV-JENSEN, C.; ANDERSEN, K. E. Nickel allergy from adolescence to adulthood in the TOACS cohort. **Contact Dermatitis**, v. 68, n. 6, p. 348–356, jun. 2013.

MUÑOZ, A.; COSTA, M. Elucidating the mechanisms of nickel compound uptake: A review of particulate and nano-nickel endocytosis and toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 260, n. 1, p. 1–16, 1 abr. 2012.

MTE. Convenção coletiva de melhoria das condições de trabalho em prensas e equipamentos similares, injetoras de plástico e tratamento galvânico de superfícies nas indústrias metalúrgicas no estado de São Paulo. p. 1-52, 2003

NEMERY, B. et al. Survey of cobalt exposure and respiratory health in diamond polishers. **Am Rev Respir Dis**, v. 145, n. 3, p. 610-6, Mar 1992. ISSN 0003-0805

NIELSEN, N. H. et al. Effects of repeated skin exposure to low nickel concentrations: a model for allergic contact dermatitis to nickel on the hands. **The British Journal of Dermatology**, v. 141, n. 4, p. 676–682, out. 1999.

NIOSH. Occupational Hazard Assessment - Criteria for Controlling Occupational Exposure to Cobalt. 1981.

NORDBERG, M.; NORDBERG, G. F.; Fowler, B. A.; Friberg, L.; *Handbook on the Toxicology of Metals*; Amsterdam: Elsevier, 3 ed., 2007.

NRC. *Recommended dietary allowances*. In: (Ed.). Washington: National Academy Press, 1989. p.267-268.

O'Brien, T. J., Brooks, B. R., Patierno, S. R. (2005). Nucleotide excision repair functions in the removal of chromium-induced DNA damage in mammalian cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 279(1–2), 85–95. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-8225-0>

O'Brien, T. J., Witcher, P., Brooks, B., Patierno, S. R. (2009). DNA polymerase zeta is essential for hexavalent chromium-induced mutagenesis. **Mutation Research**, 663(1–2), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.01.012>

OOSTERHAVEN, J. A. F. et al. European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA): Contact allergies in relation to body sites in patients with allergic contact dermatitis. **Contact Dermatitis**, v. 80, n. 5, p. 263–272, maio 2019.

ORR, S. E.; BRIDGES, C. C. Chronic Kidney Disease and Exposure to Nephrotoxic Metals. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, 12 maio 2017.

OSHA. Hexavalent chromium. p. 1-28, 2006.

PACHECO, K. A. Allergy to Surgical Implants. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 56, n. 1, p. 72–85, fev. 2019.

PALAZZOLO, D. L. et al. Trace Metals Derived from Electronic Cigarette (ECIG) Generated Aerosol: Potential Problem of ECIG Devices That Contain Nickel. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 663, 2016.

PAPPAS, R. S. Toxic Elements in Tobacco and in Cigarette Smoke: Inflammation and Sensitization. **Metallomics : integrated biometal science**, v. 3, n. 11, p. 1181–1198, nov. 2011.

PAVESI, T.; MOREIRA, J.C. A comprehensive study of nickel levels in everyday items in Brazil; **Contact Dermatitis**, 2020a, doi: 10.1111/cod.13534.

PAVESI, T.; MOREIRA, J.C. Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans, **J Appl Toxicol**. 2020b. doi: 10.1002/jat.3965.

PAZZINI, C. A. et al. Nickel-free vs conventional braces for patients allergic to nickel: Gingival and blood parameters during and after treatment. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 150, n. 6, p. 1014–1019, 1 dez. 2016.

PEISER, M. et al. Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, n. 5, p. 763–781, mar. 2012.

PIGATTO, P. D. et al. Systemic allergic contact dermatitis associated with allergy to intraoral metals. **Dermatology Online Journal**, v. 20, n. 10, 15 out. 2014.

PLOMBOM, G. Y. et al. Epidemiological analysis of occupational dermatitis notified in Brazil in the period 2007 to 2012. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 91, n. 6, p. 732–736, dez. 2016.

POLISENO, L., PANDOLFI, P. P. (2015). PTEN ceRNA networks in human cancer. **Methods (San Diego, Calif.)**, 77–78, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.01.013>

PONTING, D. J. et al. Development of New Epoxy Resin Monomers - A Delicate Balance between Skin Allergy and Polymerization Properties. **Chemical Research in Toxicology**, v. 32, n. 1, p. 57–66, 22 2019.

QIN, R.; LAMPEL, H. P. Review of Occupational Contact Dermatitis—Top Allergens, Best Avoidance Measures. **Current Treatment Options in Allergy**, v. 2, n. 4, p. 349–364, 30 set. 2015.

QU, Q., LI, X., AN, F., JIA, G., LIU, L., WATANABE-MESERVE, H., YAN, L. CrVI exposure and biomarkers: Cr in erythrocytes in relation to exposure and polymorphisms of genes encoding anion transport proteins. **Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals**, 13(5), 467–477, 2008.

QUIEVRYN, G., PETERSON, E., MESSER, J., & ZHITKOVICH, A. Genotoxicity and mutagenicity of chromium(VI)/ascorbate-generated DNA adducts in human and bacterial cells. **Biochemistry**, 42(4), 1062–1070, 2003. <https://doi.org/10.1021/bi0271547>

REIS, F. R. D.; OLIVEIRA, J. I. DE; FESTINO, F. S. Perfil clínico-ocupacional e resultados dos testes de contato dos pacientes atendidos em um ambulatório terciário de medicina do trabalho. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 10, n. 1, p. 95–99, 2012.

REYNOLDS, M., STODDARD, L., BESPALOV, I., & ZHITKOVICH, A. (2007). Ascorbate acts as a highly potent inducer of chromate mutagenesis and clastogenesis: Linkage to DNA breaks in G2 phase by mismatch repair. **Nucleic Acids Research**, 35(2), 465–476. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl1069>

REZIĆ, I.; ĆURKOVIĆ, L.; UJEVIĆ, M. Metal ion release from electric guitar strings in artificial sweat. **Corrosion Science**, v. 51, n. 9, p. 1985–1989, 1 set. 2009.

REZIĆ, I.; ĆURKOVIĆ, L.; UJEVIĆ, M. Investigation of metal ion release from violin, viola and cello strings after dissolution in corrosive solution. **Materials and corrosion**, v. 65, n. 9, p. 931–934, 17 set. 2014.

RICHARDSON, C. et al. Mobile Phone Dermatitis in Children and Adults: A Review of the Literature. **Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology**, v. 27, n. 2, p. 60–69, 1 jun. 2014.

RINGBORG, E.; LIDÉN, C.; JULANDER, A. Nickel on the market: a baseline survey of articles in ‘prolonged contact’ with skin. **Contact Dermatitis**, v. 75, n. 2, p. 77–81, ago. 2016

RYCROFT, R. J. G. et al. (EDS.). *Textbook of Contact Dermatitis*. 3. ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2001.

RYSTEDT, I.; FISCHER, T. Relationship between nickel and cobalt sensitization in hard metal workers. **Contact Dermatitis**, v. 9, n. 3, p. 195–200, maio 1983.

RODRIGUES, D. F. et al. Patch test results in children and adolescents. Study from the Santa Casa de Belo Horizonte Dermatology Clinic, Brazil, from 2003 to 2010. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 90, n. 5, p. 671–683, out. 2015.

RODRIGUES, D. F. et al. Results of patch-tests from Santa Casa de Belo Horizonte Dermatology Clinic, Belo Horizonte, Brazil, from 2003 to 2010. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 87, n. 5, p. 800–803, out. 2012.

ROSMANINHO, I.; MOREIRA, A.; SILVA, J. P. M. DA. Dermatite de contacto: revisão da literatura. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**, v. 24, n. 4, p. 197–209, 2016.

RUFF, C. A.; BELSITO, D. V. The impact of various patient factors on contact allergy to nickel, cobalt, and chromate. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 55, n. 1, p. 32–39, jul. 2006.

RUI, F. et al. Concurrent sensitization to metals and occupation. **Contact Dermatitis**, v. 67, n. 6, p. 359–366, 2012.

RUI, F. et al. Nickel, chromium and cobalt sensitization in a patch test population in north-eastern Italy (1996–2010). **Contact Dermatitis**, v. 68, n. 1, p. 23–31, jan. 2013.

RUI, F. et al. Nickel, cobalt and chromate sensitization and occupation. **Contact Dermatitis**, v. 62, n. 4, p. 225–231, abr. 2010.

RYSTEDT, I.; FISCHER, T. Relationship between nickel and cobalt sensitization in hard metal workers. **Contact Dermatitis**, v. 9, n. 3, p. 195–200, maio 1983.

SAITO, M. et al. Molecular Mechanisms of Nickel Allergy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, 2 fev. 2016.

SANTANA, V. S.; OLIVEIRA, R. P. Saúde e trabalho na construção civil em uma área urbana do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 3, p. 797–811, jun. 2004.

SARLINOVA, M. ET AL.. Polymorphisms of DNA repair genes and lung cancer in chromium exposure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 833, 1–8, 2015. https://doi.org/10.1007/5584_2014_82

SCHNEKENBURGER, M., TALASKA, G., PUGA, A. Chromium cross-links histone deacetylase 1-DNA methyltransferase 1 complexes to chromatin, inhibiting histone-remodeling marks critical for transcriptional activation. **Molecular and Cellular Biology**, 27(20), 7089–7101, 2007. <https://doi.org/10.1128/MCB.00838-07>

SCHNUCH, A. et al. National rates and regional differences in sensitization to allergens of the standard series. Population-adjusted frequencies of sensitization (PAFS) in 40,000 patients from a multicenter study (IVDK). **Contact Dermatitis**, v. 37, n. 5, p. 200–209, nov. 1997.

SCHNUCH, A.; BRASCH, J.; UTER, W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. **Allergy**, v. 63, n. 2, p. 156–167, 2008.

SCHNUCH, A.; UTER, W. Decrease in nickel allergy in Germany and regulatory interventions. **Contact Dermatitis**, v. 49, n. 2, p. 107–108, ago. 2003.

SCHUTTELAAR, M. L. A. et al. Prevalence of contact allergy to metals in the European general population with a focus on nickel sulfate and piercings: The EDEN Fragrance Study. **Contact Dermatitis**, 10 abr. 2018.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, Ecotoxicity and the Environment. Risks to health from chromium (VI) in cement. European Commission Directorate-General Health and Consumer Protection. Chromium VI 270622002. Brussels; 2002.

SEISHIMA, M.; OYAMA, Z.; ODA, M. Cellular phone dermatitis with chromate allergy. **Dermatology** (Basel, Switzerland), v. 207, n. 1, p. 48–50, 2003.

SEISHIMA, M.; OYAMA, Z.; YAMAMURA, M. Cellular phone dermatitis. *Archives of Dermatology*, v. 138, n. 2, p. 272-273, 2002.

SHAIKH, W. A.; SHAIKH, S. W. ALLERGIES IN INDIA- A STUDY OF 6270 PATIENTS. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, v. 8, n. 10, p. 657–661, 11 mar. 2019.

SHARMA, P., ET AL. Genetic Predisposition for Dermal Problems in Hexavalent Chromium Exposed Population, Genetic Predisposition for Dermal Problems in Hexavalent Chromium Exposed Population. *Journal of Nucleic Acids, Journal of Nucleic Acids*, 2012, e968641. <https://doi.org/10.1155/2012/968641>, 10.1155/2012/968641

SHELNUTT, S. R.; GOAD, P.; BELSITO, D. V. Dermatological Toxicity of Hexavalent Chromium. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 37, n. 5, p. 375–387, 1 jan. 2007.

SHI, X. L., DALAL, N. S. Chromium (V) and hydroxyl radical formation during the glutathione reductase-catalyzed reduction of chromium (VI). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 163(1), 627–634, 1989. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(89\)92183-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(89)92183-9)

SHIRAKAWA, T. et al. The existence of specific antibodies to cobalt in hard metal asthma. *Clinical Allergy*, v. 18, p. 1988, 1988.

SHORE, R. N.; SPRING, S.; BINNICK, S. Dimethylglyoxime Stick Test for Easier Detection of Nickel. *Archives of Dermatology*, v. 113, n. 12, p. 1734–1734, 1 dez. 1977.

STOJANOVIĆ, D.; NIKIĆ, D.; LAZAREVIĆ, K. The level of nickel in smoker's blood and urine. *Central European Journal of Public Health*, v. 12, n. 4, p. 187–189, dez. 2004.

STUCKERT, J.; NEDOROST, S. Low-cobalt diet for dyshidrotic eczema patients. *Contact Dermatitis*, v. 59, n. 6, p. 361-365, 2008.

SUN, H., ZHOU, X., CHEN, H., LI, Q., & COSTA, M. Modulation of histone methylation and MLH1 gene silencing by hexavalent chromium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 237(3), 258–266, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.008>

SUZUKI, N. M. et al. Nickel exposure from keys: a Brazilian issue. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 92, n. 5, p. 734–735, 2017.

SWENNEN, B. et al. Epidemiological survey of workers exposed to cobalt oxides, cobalt salts, and cobalt metal. *Brazilian Journal of Industrial Medicine*, v. 50, p. 835-842, 1993.

SYMANZIK, C.; JOHN, S. M.; STRUNK, M. Nickel release from metal tools in the German hairdressing trade-A current analysis. *Contact Dermatitis*, v. 80, n. 6, p. 382–385, jun. 2019.

THYSSEN, J. P. et al. The association between hand eczema and nickel allergy has weakened among young women in the general population following the Danish nickel regulation: results from two cross-sectional studies. *Contact Dermatitis*, v. 61, n. 6, p. 342–348, dez. 2009a.

THYSSEN, J. P.; MENNÉ, T.; JOHANSEN, J. D. Nickel release from inexpensive jewelry and hair clasps purchased in an EU country - Are consumers sufficiently protected from nickel exposure? **The Science of the Total Environment**, v. 407, n. 20, p. 5315–5318, 1 out. 2009b.

THYSSEN, J. P. Nickel and cobalt allergy before and after nickel regulation--evaluation of a public health intervention. **Contact Dermatitis**, v. 65 Suppl 1, p. 1–68, set. 2011.

TINABURRI, L. ET AL. MiR-200a Modulates the Expression of the DNA Repair Protein OGG1 Playing a Role in Aging of Primary Human Keratinocytes. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2018 <https://doi.org/10.1155/2018/9147326>

TORRES, F. et al. Management of contact dermatitis due to nickel allergy: an update. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology : CCID**, v. 2, p. 39–48, 17 abr. 2009.

TUNCA, M.; ÇALIŞKAN, E.; YÜREKLI, A. Frequent contact allergens in Ankara/Turkey: A retrospective study of patch test results. **Turkderm**, v. 53, n. 2, p. 49–52, 11 jul. 2019.

UTER, W. et al. ESSCA results with nickel, cobalt and chromium, 2009–2012. **Contact Dermatitis**, v. 75, n. 2, p. 117–121, 2016.

UTER, W. et al. Guidelines for the descriptive presentation and statistical analysis of contact allergy data. **Contact Dermatitis**, v. 51, n. 2, p. 47–56, ago. 2004.

VEIEN, N. K. Systemic contact dermatitis. *International Journal of Dermatology*, v. 50, n. 12, p. 1445–1456, 2011.

VOITKUN, V.; ZHITKOVICH, A.; COSTA, M. Cr(III)-mediated crosslinks of glutathione or amino acids to the DNA phosphate backbone are mutagenic in human cells. *Nucleic Acids Research*, v. 26, n. 8, p. 2024–2030, 15 abr. 1998.

WAKEMAN, T. P., YANG, A., DALAL, N. S., BOOHAKER, R. J., ZENG, Q., DING, Q., & XU, B. (2017). DNA mismatch repair protein Mlh1 is required for tetravalent chromium intermediate-induced DNA damage. **Oncotarget**, 8(48), 83975–83985.

WANG, B. J. ET AL. Tumour necrotizing factor- α promoter and GST-T1 genotype predict skin allergy to chromate in cement workers in Taiwan. **Contact Dermatitis**, 57(5), 309–315, 2007.

WANG, C. D. et al. The Role of Catalase C262T Gene Polymorphism in the Susceptibility and Survival of Cancers. **Scientific Reports**, 6, 26973, 2016.

WARSHAW, E. M. et al. Epidemiology of nickel sensitivity: Retrospective cross-sectional analysis of North American Contact Dermatitis Group data 1994-2014. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 80, n. 3, p. 701–713, 1 mar. 2019.

WEINZIERL, S. M.; WEBB, M. Interaction of carcinogenic metals with tissue and body fluids. **British Journal of Cancer**, v. 26, n. 4, p. 279–291, ago. 1972.

WELLING, R. et al. Chromium VI and stomach cancer: A meta-analysis of the current epidemiological evidence. **Occupational and Environmental Medicine**, 72(2), 151–159, 2015. <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102178>

WHITE, J. M. L.; VIVIER, A. W. P. DU. Occupational allergic contact dermatitis caused by nickel in embroidery needles. **Contact Dermatitis**, v. 79, n. 3, p. 181–182, 2018.

WHO. Chromium. Environmental Health Criteria. Geneva. 61 1988.

_____. Nickel. Environmental Health Criteria. Geneva. 108 1991.

WINNICKI, M.; SHEAR, N. H. A Systematic Approach to Systemic Contact Dermatitis and Symmetric Drug-Related Intertriginous and Flexural Exanthema (SDRIFE). **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 12, n. 3, p. 171–180, 1 jun. 2011.

WU, F. Y. et al. Cytogenetic study of workers exposed to chromium compounds. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 464(2), 289–296, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00206-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00206-5)

XIA, B. et al. Effect of hexavalent chromium on histone biotinylation in human bronchial epithelial cells. **Toxicology Letters**, 228(3), 241–247, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.010>

YAMADA, N. et al. Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema. **American Journal of Human Genetics**, 66(1), 187–195, 2000. <https://doi.org/10.1086/302729>

YANG, S. L. et al. [Analysis of the results of patch test in 192 patients with hand eczema]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi = Zhonghua Laodong Weisheng Zhiyebing Zazhi = Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, v. 34, n. 10, p. 770–772, 20 out. 2016.

YOSHIHISA, Y.; SHIMIZU, T. Metal Allergy and Systemic Contact Dermatitis: An Overview. **Dermatology Research and Practice**, v. 2012, p. e749561, 30 maio 2012.

ZHANG, X. et al. XRCC1 Arg399Gln was associated with repair capacity for DNA damage induced by occupational chromium exposure. *BMC Research Notes*, 5, 263, 2012. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-263>

ZHAO, J. et al. Occupational toxicology of nickel and nickel compounds. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, v. 28, n. 3, p. 177–208, 2009.

ZHITKOVICH, A. Importance of chromium-DNA adducts in mutagenicity and toxicity of chromium (VI). **Chemical research in toxicology**, v. 18, n. 1, p. 3–11, 2005.

Zhou, W., Yu, T., Vazin, M., Ding, J., & Liu, J. (2016). Cr³⁺ Binding to DNA Backbone Phosphate and Bases: Slow Ligand Exchange Rates and Metal Hydrolysis. **Inorganic Chemistry**, 55(16), 8193–8200. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b01357>.