

Gustavo Faibischew Prado

**Impactos cardiopulmonares e inflamatórios da exposição à
poluição da queima de biomassa
em cortadores de cana queimada e em voluntários
saudáveis do município de Mendonça**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia
Orientador: Dr. Ubiratan de Paula Santos

**São Paulo
2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Prado, Gustavo Faibischew

Impactos cardiopulmonares e inflamatórios da exposição à poluição da queima de biomassa em cortadores de cana queimada e em voluntários saudáveis do município de Mendonça / Gustavo Faibischew Prado. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.

Orientador: Ubiratan de Paula Santos.

Descritores: 1.Estresse oxidativo 2.Poluição do ar 3.Pressão arterial
4.Mediadores inflamatórios 5.Espirometria 6.Marcadores inflamatórios
7.Variabilidade da frequência cardíaca 8.Função pulmonar 9.Queima de biomassa
10.Cana-de-açúcar

USP/FM/DBD-259/11

À minha amada esposa Renata, meu incondicional, eterno
e infinito amor (e admiração).

A meus irmãos e meus pais,
“reto entre tudo que há de incerto em mim”.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Ubiratan de Paula Santos: sua paciência, dedicação, prazer em ensinar, curiosidade científica, e retidão servem (e servirão sempre) de exemplo. Eu não poderia ter encontrado melhor mestre entre meus amigos, nem melhor amigo entre meus mestres. Obrigado por acreditar em mim.

Ao meu caríssimo Professor Francisco Vargas: sua presença, sempre foi um motivo prazeroso para os dias de trabalho e aprendizado na nossa Disciplina.

Minha estimadíssima mestra, Dra. Teresa Yae Takagaki, de quem diariamente procuro absorver o quanto posso de conhecimento e virtude. Sua dedicação e amor ao trabalho inspiram a todos nós; a mim, particularmente, desde o começo,

Caríssimos Professores Lisete Ribeiro Teixeira e Mário Terra Filho: obrigado por escutar, acreditar, investir e incentivar esta alma inquieta e nem sempre tão organizada.

Meus Professores e amigos Dr. Roberto Onishi, Prof. Dr. Alberto Cukier, Prof. Dr. Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho, Prof. Dr. Ronaldo Adib Kairalla, Profa. Dra. Carmem Valente Barbas, Prof. Dr. Geraldo Lorenzi Filho, Prof. Dr. Rogério Souza, Dr. Pedro Caruso, Dr. João Marcos Salge, Dr. Pedro Genta, Dr. José Eduardo Afonso Junior (a quem tenho o prazer de ter como amigo desde muito, muito antes da pneumologia), Dr. Frederico Fernandes, Dr. Ricardo Henrique Teixeira, Dr. Caio JC Oliveira, Prof. Dr. Marcelo BP Amato, Dra. Roberta Sales e demais colegas: Obrigado por dar a oportunidade de conviver e aprender com vocês.

Minha banca da qualificação: Professores Marcos Abdo Arbex, Dr. Celso Carvalho e Rafael Stelmach: muito obrigado por ajudar a transformar meu projeto (e eu mesmo) no que ele se tornou.

Equipe da Pós-Graduação e da Administração da Disciplina de Pneumologia: Luciana, Alessandra, Luzinete, André, Solange, Lúcia e Neli: Obrigado por tornar nosso dia-a-dia mais fácil, por nos (me) socorrer nos apuros e prazos e pelo sorriso sempre gratuito.

Aos meus Colegas de pós-graduação, especialmente minhas caríssimas colegas do Grupo de Doenças Ocupacionais e Ambientais (Elisa e Izabela).

A todos os colegas e amigos que possibilitaram a realização desse projeto de pesquisa em todas suas frentes de trabalho de campo e bancada.

À Professora Dra. Dirce MT Zanetta: muito obrigado por dedicar seu ultraprecioso tempo e enorme conhecimento ajudando-me no estudo e entendimento dos dados do trabalho. Sua participação foi inestimável.

À bibliotecária Marinalva, por seu tempo e atenção.

À minha família (minha amada esposa Renata, meus irmãos e outros que torceram e torcem por mim) e amigos: Obrigado por aguentarem as eventuais

ausências ou os papos contaminados por assuntos um pouco, como posso dizer... chatos.

Meu especial agradecimento aos voluntários de nosso estudo, em Mendonça, por me confiarem seu tempo, paciência e fôlego.

“Pasma sempre quando acabo qualquer coisa. Pasma e desolo-me. O meu instinto de perfeição deveria inibir-me de acabar; deveria inibir-me até de dar começo. Mas distraio-me e faço. O que consigo é um produto, em mim, não de uma aplicação da vontade, mas de uma cedência dela. Começo porque não tenho força para pensar; acabo porque não tenho alma para suspender. Este livro é a minha covardia.”

Bernardo Soares

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos: de acordo com List of Journals Indexed in *Index Medicus*.

Nomenclatura de medicamentos: de acordo com as denominações Comuns Brasileiras 2009. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 38/2009. Diário Oficial da União, Brasília (DF). 2009 08 jul.

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de símbolos

Lista de siglas e abreviaturas

Resumo

Summary

1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1. O processo do corte manual da cana-de-açúcar e suas repercussões na saúde do trabalhador.....	5
1.1.1.O trabalhador de corte da cana queimada: sobrecarga física sob exposição ao calor e poluentes.....	7
1.2. Exposição à poluição e efeitos cardiovasculares agudos e crônicos.....	8
1.3. Exposição à poluição e efeitos respiratórios agudos e crônicos.....	11
1.4. Fisiopatologia das repercussões sistêmicas da exposição à poluição atmosférica	13
1.5. Exercício físico na presença de poluentes.....	16
1.6. Considerações introdutórias finais.....	20
2.OBJETIVOS.....	21
2.1. Geral.....	21
2.2. Específicos.....	21
3. MÉTODOS.....	22
3.1. Local do estudo.....	22
3.2. Indivíduos avaliados.....	23
3.3. Desenho do estudo.....	24
3.4. Avaliação ambiental: concentração de material particulado, temperatura e da umidade relativa do ar.....	25

3.5. Procedimentos observados para avaliação individual.....	27
3.6. Exames realizados.....	27
3.6.1. Exame clínico.....	27
3.6.2. Exames complementares.....	29
3.6.2.1. Exames laboratoriais gerais.....	29
3.6.2.2. Atividade de enzimas antioxidantes.....	30
3.6.2.2.1. Medida da atividade da Glutathione Peroxidase e da Glutathione Redutase.....	30
3.6.2.2.2. Determinação da atividade da GST.....	31
3.6.2.2.3. Determinação da atividade da Superóxido Dismutase (SOD).....	31
3.6.2.2.4. Determinação da atividade da catalase.....	31
3.6.2.3. Avaliação da peroxidação lipídica.....	32
3.6.2.4. Dosagem de Interleucinas pró-inflamatórias.....	32
3.6.2.5. Análise do polimorfismo dos genes codificadores das enzimas GSTT1 e GSTM.....	32
3.6.2.6. Prova de função pulmonar.....	33
3.6.2.7. Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e Pressão arterial sistêmica.....	34
3.6.2.8. Avaliação de marcador de exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos: 1-hidroxi-pireno urinário.....	35
3.7. Análises estatísticas.....	36
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Características demográficas, antropométricas e sociais das duas populações estudadas.....	40
4.2. Condições de trabalho dos cortadores de cana.....	43
4.3. Avaliação dos sintomas respiratórias.....	47
4.4. Exames laboratoriais.....	51
4.5. Função pulmonar.....	57
4.6. Variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica.....	60

4.7. Caracterização ambiental de material particulado, temperatura e umidade relativa do ar.....	63
5.DISSCUSSÃO.....	65
6.CONCLUSÃO.....	78
7. ANEXOS.....	79
7.1. Anexo A - Aprovação da Comissão de Ética – CAPPesq.....	79
7.2. Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TC.....	80
7.3. Anexo C - Fichas clínicas e questionários.....	83
8. REFERÊNCIAS.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Queimada da cana.....	2
Figura 2.	A cana queimada, pronta para o corte.....	3
Figura 3.	a e b. Ofídios: um risco no trabalho do corte de cana.....	3
Figura 4.	O trabalho de corte manual da cana.....	5
Figura 5.	A cana cortada e organizada para a coleta.....	6
Figura 6.	A coleta mecânica da cana e o transporte para a usina.....	6
Figura 7.	Fisiopatologia das repercussões da poluição ambiental.....	14
Figura 8.	Fluxograma dos processos adotados no estudo.....	25
Figura 9.	Termo-higrômetro DataLogger (a), monitor de material particulado DustTrak (b) e demonstração de seu uso em campo (c).....	27
Figura 10.	Monitor de monóxido de carbono exalado (a), esfigmomanômetro (b) e oxímetro de pulso (c).....	28
Figura 11.	EspirômetroKoko conectado ao computador portátil.....	34
Figura 12.	Frequencímetro Polar RS 800 e esteira usados no protocolo.....	35
Figura 13.	Trabalhadores afiando seus podões.....	45
Figura 14.	a e b. Aspectos ergonômicos do trabalho do corte da cana.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características demográficas.....	40
Tabela 2.	Características antropométricas e variáveis clínicas: Pré-Safra.....	41
Tabela 3.	Características antropométricas e clínicas – população de referência e cortadores de cana, pré-safra e safra.....	42
Tabela 4.	Doenças e acidentes entre os safristas nos últimos 6 meses.....	44
Tabela 5.	Questionário respiratório 2009 - pré-safra.....	47
Tabela 6.	Questionário respiratório: população de referência, pré-safra e safra.....	49
Tabela 7.	Questionário respiratório: cortadores de cana, pré-safra e safra.....	50
Tabela 8.	Exames laboratoriais: pré-safra e safra, análise univariada.....	51
Tabela 9.	Exames laboratoriais: perfil lipídico, lactato desidrogenase, creatina fosfoquinase e fibrinogênio – Análise multivariada (LME).....	52
Tabela 10.	Malonaldeído e enzimas antioxidantes catalase, GST, GPX, GR e SOD na população de referência e safristas – pré-safra e safra, análise univariada.....	54
Tabela 11.	Interleucinas 1, 2, 6 e 8 na população de referência e safristas – pré-safra e safra, análise univariada.....	55
Tabela 12.	Análise multivariada (GEE), IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8.....	56

Tabela 13.	Concentração do 1-hidroxipireno urinário nos voluntários da população de referência e cortadores de cana - pré-safra e safra, análise univariada.....	57
Tabela 14.	Espirometria, população de referência e safristas – pré-safra e safra, análise univariada.....	58
Tabela 15.	Função pulmonar, análise multivariada (LME).....	59
Tabela 16.	Variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica em repouso e exercício – população de referência e safristas, análise univariada.....	61
Tabela 17.	Variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica – análise multivariada (LME).....	62
Tabela 18.	Temperatura, umidade relativa do ar e concentração média de PM _{2.5} na área urbana de Mendonça e nos canaviais, pré-safra e safra (2009).....	63
Tabela 19.	Limites de tolerância de exposição. Recomendações CONAMA (Brasil) e OMS.....	66

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcento
β	coeficiente do efeito da variável independente
$^{\circ}\text{C}$	grau Celsius
Ca, Ca^{++}	cálcio
cm	centímetro
g	grama
H^{+}	hidrogênio ionizado, cátion hidrogênio, próton
H_2O	água
H_2O_2	água oxigenada, peróxido de hidrogênio
Hb	hemoglobina
HCl	ácido clorídrico
Hz	hertz
K, K^{+}	potássio
Kg	quilograma
Km	quilômetro
Km^2	quilômetro quadrado
KU/g	quilounidades internacionais por grama
L	litro
L/s	litro por segundo
Log	logaritmo
μg	micrograma
μm	micrômetro
m	metro
m^2	metro quadrado
m^3	metro cúbico
M	molar
m/s^2	metro por segundo ao quadrado
mg	miligrama
min	minuto

mL	mililitro
mm	milímetro
mmHg	milímetro de mercúrio
η M	nanomolar
Na, Na ⁺	sódio
nm	nanômetro
NO ₂	dióxido de nitrogênio
NO _x	óxidos do nitrogênio
O ₂ ⁻	ânion superóxido
O ₃	ozônio
P	fósforo
pH	potencial hidrogeniônico
SO ₂	dióxido de enxofre
U	unidades internacionais
U/g	unidades internacionais por grama
vs	versus

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A	adenina
ATS	American Thoracic Society
C	citosina
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CoA	coenzima A
CPK	creatina fosfoquinase, creatina fosfocinase
CVF	capacidade vital forçada
DHL	desidrogenase láctica, lactato desidrogenase
dL	decilitro
ERS	European Respiratory Society
FEF _{25-75%}	fluxo expiratório forçado médio entre 25% e 75% da CVF
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
G	guanina
GEE	modelo de equações de estimativas generalizadas
GPx	glutaciona peroxidase
GR	glutaciona redutase
GSSG	glutaciona oxidada, glutaciona dissulfeto
GSH	glutaciona reduzida, tripeptídeo glutaciona
GST	glutaciona S-transferase
GSTM1	glutaciona S-transferase mu 1
GSTP1	glutaciona S-transferase pi 1
GSTT1	glutaciona S-transferase teta 1
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
HF	High-frequency
HLPC	cromatografia líquida de alto desempenho
IDH	índice de desenvolvimento humano
IL	interleucina
IL-1	interleucina 1

IL-2	interleucina 2
IL-6	interleucina 6
IL-8	interleucina 8
IMC	índice de massa corporal
ISE	eletrodo íon seletivo
LF	Low-frequency
LME	modelo de efeitos mistos de regressão linear
MDA	malonaldeído, malondialdeído
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica
PAS	pressão arterial sistólica
pb	pares de bases
PCR	reação de polimerase em cadeia
PIB	produto interno bruto
PM _{2,5}	material particulado com diâmetro aerodinâmico inferior a 2,5µm
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
rMSSD	root mean square successive differences
rq	raiz quadrada
SDNN	the standard deviation of NN intervals
SOD	supeóxido dismutase
SP	São Paulo
SUS	Sistema Único de Saúde
T	timina
VEF ₁	volume expiratório forçado no primeiro segundo
VFC	variabilidade da frequência cardíaca
1-OH-Pyr	1-hidroxi pireno
1-OH-Pir	1-hidroxi pireno
HPA	Hidrocarboneto(s) policíclico(s) aromático(s)

RESUMO

Prado, GF. Impactos cardiopulmonares e inflamatórios da exposição à poluição da queima de biomassa em cortadores de cana queimada e em voluntários saudáveis do município de Mendonça. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

A colheita não-mecanizada da cana-de-açúcar precedida por sua queima expõe os trabalhadores e pessoas de cidades vizinhas a altas concentrações de poluentes. Este estudo foi desenvolvido para avaliar os impactos cardiopulmonares e os biomarcadores de *stress* oxidativo e atividade inflamatória sistêmica desencadeados pela exposição à poluição proveniente da queima da cana. Cortadores de cana (safristas, n = 113) e voluntários saudáveis da cidade de Mendonça - São Paulo, Brasil -(população de referência, n = 109) foram avaliados com espirometria, variabilidade da frequência cardíaca, enzimas antioxidantes, dosagem do nível plasmático do malonaldeído e de interleucinas pró-inflamatórias durante a pré-safra e a safra. A concentração de PM_{2.5} aumentou de 8 µg/m³ durante a pré-safra para 23.5 µg/m³ na área urbana e para 61 µg/m³ nas plantações de cana, durante a safra. Evidenciou-se uma diminuição mais acentuada da variabilidade da frequência cardíaca, função pulmonar e da atividade das enzimas antioxidantes entre os cortadores de cana, em comparação com os voluntários da população de referência. Houve elevação do malonaldeído em ambos os grupos durante a safra, com um maior aumento entre os safristas. Além disso, encontramos um aumento na pressão arterial diastólica apenas nos cortadores de cana. Tanto os cortadores de cana quanto os voluntários da população local exibiram

impactos cardiopulmonares e metabólicos da exposição à poluição durante a safra, com maior magnitude dessas alterações entre os safristas, o que destaca o impacto deletério da poluição atmosférica na população exposta. Esses achados pré-clínicos podem sinalizar processos fisiopatológicos desencadeados pela poluição advinda da queima de biomassa nas populações estudadas.

Descritores: Estresse Oxidativo, *Stress* oxidativo, Poluição do Ar, Pressão Arterial, Mediadores Inflamatórios, Espirometria, Marcadores Inflamatórios, Variabilidade da Frequência Cardíaca, Função Pulmonar, Queima de Biomassa, Cana-de-Açúcar.

SUMMARY

Prado, GF. Cardiopulmonary effects of biomass-burning outdoor air pollution on sugarcane workers. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2011.

Non-mechanized sugarcane harvesting preceded by burning exposes workers and people of neighboring towns to high concentrations of pollutants. This study was designed to assess cardiopulmonary impacts and biomarkers of oxidative stress triggered by exposure to pollution from sugarcane burning. Sugarcane workers (n=113) and healthy volunteers of a reference population (n=109) from the city of Mendonça (São Paulo, Brazil) were evaluated with spirometry, heart rate variability (HRV), antioxidant enzymes, plasmamalonaldehyde and proinflammatory interleukins during non-harvest and harvest periods. Concentration of PM_{2.5} increased from 8µg/m³ during non-harvest to 23.5µg/m³ in the urban area and to 61µg/m³ in sugarcane fields, during harvest. It was evidenced a more remarkable decrease in lung function, HRV and in activity of antioxidant enzymes among sugarcane workers, compared to individuals from the reference population. Malonaldehyde had elevated in both groups during harvest, with a higher increase among sugarcane workers. Furthermore, we found an increase in diastolic pressure only in sugarcane workers. Both sugarcane workers and volunteers from the local population exhibited significant cardiopulmonary and metabolic impacts of exposure to outdoor air pollution during harvest, with a higher magnitude of these alterations among sugarcane workers, which highlights the deleterious impact of air pollution. These preclinical findings may signal pathophysiological processes triggered by biomass-burning outdoor pollution in the populations studied.

Keywords: Oxidative Stress, Air Pollution, Blood Pressure, Inflammatory Mediators, Spirometry, Inflammatory Markers, Heart Rate Variability, Lung Function, Biomass Burning, Sugar Cane.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de açúcar e álcool, tendo cerca de seis milhões e meio de hectares de área plantada com cana-de-açúcar¹, 70% dos quais situados no Estado de São Paulo, de que representa metade de toda a área cultivada. Nesse cenário de enorme extensão territorial dedicada ao plantio da cana, sobressai o Estado de São Paulo, também, por empregar um contingente de aproximadamente 150 mil trabalhadores, cerca de um terço da força de trabalho dedicada ao corte da cana no país².

Desde o século XVI, a cana-de-açúcar representa um segmento importante na economia nacional. Nos últimos 40 anos, especialmente, ganhou uma projeção ainda maior, seja por resultado do constante aprimoramento técnico e incorporação tecnológica, seja pelo despertar de interesse econômico progressivamente maior, fortemente alavancado após a crise do petróleo dos anos 1970 - e os sucessivos picos nos valores internacionais do petróleo desde então - e pelo novo ciclo de expansão do mercado global de combustíveis renováveis como alternativas potencialmente menos poluentes aos combustíveis fósseis³.

No contexto da constante expansão da área dedicada ao cultivo de cana-de-açúcar e a despeito de todo desenvolvimento técnico, especialmente dos procedimentos de colheita mecânica, uma prática bastante rudimentar persiste em uso, a queima. Realizada normalmente na

noite anterior à colheita (Figura 1), a queima da palha da cana visa a facilitar (e acelerar) o processo manual de corte, permitir o corte mais baixo da cana, reduzir o risco de acidentes com animais (Figuras 3a e 3b) e diminuir o volume dos resíduos, facilitando a sua incorporação ao solo⁴. Com tudo isso, a queima da cana facilita o trabalho de colheita manual e promove um aumento de seu rendimento, garantindo maior produtividade.



Figura 1. Queimada da cana.



Figura 2. A cana queimada, pronta para o corte.



Figuras 3a e 3b. Ofídios: um risco no trabalho do corte de cana

Essa queima de grandes volumes de biomassa, por outro lado, emite quantidades expressivas de material particulado e gases tóxicos na atmosfera, poluentes que têm sido associados a efeitos multissistêmicos agudos e crônicos^{5, 6}.

A maior parte do conhecimento sobre a morbidade e mortalidade associadas à poluição do ar deriva de estudos sobre a exposição a poluentes provenientes da queima de combustíveis fósseis e emissões de indústrias nas grandes cidades⁷, além da queima intradomiciliar de biomassa para cocção e aquecimento do ambiente⁸. Existem poucas pesquisas explorando as consequências da exposição à poluição da queima de biomassa em trabalhadores do setor sucroalcooleiro, especialmente sob as condições peculiares de trabalho a que estão sujeitos os cortadores de cana⁹.

Nos últimos anos, tem surgido um número crescente de relatos de mortes mal esclarecidas entre os cortadores de cana, atribuídas em parte ao regime de trabalho extenuante sob sobrecarga térmica¹⁰ e, possivelmente, aos efeitos deletérios da exposição à poluição resultante da queima de cana¹¹; poucos estudos, entretanto, exploraram os processos fisiopatológicos potencialmente envolvidos nessas mortes.

1.1. O processo do corte manual da cana-de-açúcar e suas repercussões na saúde do trabalhador

Conforme descrito em estudo recente de Barbosa¹², o processo do corte manual da cana é uma atividade laboral que impõe ao trabalhador uma carga física intensa, com execução de movimentos rápidos, vigorosos e repetitivos. O ciclo de trabalho pode ser assim resumido nas seguintes etapas: abraçar um feixe de cana (com 3 a 10 pés), golpeá-lo várias vezes com o facão (o mais próximo possível do solo) e deixar inicialmente a cana cortada no solo (Figura 4). Ao final da jornada de trabalho, o cortador ainda caminha pelo canavial e dispõe a cana cortada em montes (Figura 5). A cana assim disposta é mecanicamente carregada em caminhões, que a transporta até a usina (Figura 6).



Figura 4. O trabalho de corte manual da cana.



Figura 5. A cana cortada e organizada para a coleta



Figura 6. A coleta mecânica da cana e o transporte para a usina

Segundo já descrito por Alves¹¹, na década de 1950 cada trabalhador cortava em média três toneladas de cana por dia. Na década de 1980, para

manter um ganho equivalente, essa produtividade individual teve de duplicar e, ao final dos anos 1990, a produtividade média de um cortador de cana chegou a cerca de 10 a 12 toneladas por dia, sem, todavia, que sua remuneração fosse proporcionalmente maior que aquela auferida dez anos antes. Cortar dez toneladas de cana num dia pode corresponder ao trabalho de corte manual de uma área de aproximadamente 2000 metros quadrados, além do esforço de organizar esses fardos de cana para os caminhões de coleta.

1.1.1. O trabalho de corte da cana queimada: Sobrecarga física sob exposição ao calor e poluentes.

Em um brilhante ensaio sobre as características e distorções do modelo de produção agrícola brasileiro, Alessi e Navarro¹³ descrevem o trabalho do “boia-fria” nos canaviais como a exposição desde as primeiras horas do dia a temperaturas bastante elevadas, resultantes do aquecimento do solo pela queima da cana ocorrida à noite e intensificada ao longo do dia pela ação do sol. Além de todo o dispêndio de energia característico desse trabalho, andando, golpeando, contorcendo-se, flexionando-se e carregando peso, o trabalhador sob o sol utiliza uma vestimenta composta de botina com biqueira de aço, perneiras de couro até o joelho, calças de brim, camisa de manga comprida com mangote, também de brim, luvas de raspa de couro, lenço no rosto e pescoço e chapéu, ou boné.

Com tudo isso, somando-se a adversidade do trabalho extenuante sob intensa exposição ao calor ao uso de vestimentas sobrepostas como

“equipamento de proteção individual”, delinea-se um complexo de condições de risco ao desenvolvimento de hipertermia, desidratação, fadiga, *stress* oxidativo, síndrome de “*overtraining*” e, em casos extremos, rhabdomiólise e insuficiência renal aguda^{14, 15, 16, 17}.

Além das características do trabalho corte da cana e das condições adversas nas quais ele está inserido, um importante fator potencialmente adverso desse trabalho é a exposição ambiental a poluentes atmosféricos, como também demonstrado no estudo de Barbosa.

1.2. Exposição à poluição e efeitos cardiovasculares agudos e crônicos

Estudos de base populacional revelaram um aumento na mortalidade cardiovascular entre 0,4% e 1,0% associado à elevação de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de $\text{PM}_{2.5}$ nos 5 dias anteriores. Os mesmos estudos sugerem não haver limite seguro de exposição e demonstraram que outros poluentes como o NO_2 e o monóxido de carbono também estão relacionados ao aumento da mortalidade. Uma meta-análise⁷ dos principais estudos publicados nos últimos 20 anos revela que uma elevação de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de material particulado está associada ao aumento de 0,8% na internação por doença cerebrovascular, de 0,86% por doença vascular periférica, de 0,44% por doença isquêmica cardíaca, de 0,57% por arritmia e de 1,28% por insuficiência cardíaca.

Num recente estudo realizado no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo¹⁸ evidenciou aumento de cerca de 3% no número de consultas de emergência

por arritmia no Pronto Socorro associado à variação de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de PM_{10} , sendo que impactos maiores foram associados aos poluentes gasosos (NO_2 e CO), à exceção do ozônio.

Estudo realizado na Alemanha envolvendo 691 indivíduos que apresentaram infarto do miocárdio e sobreviveram por pelo menos 24 horas após o evento, encontrou uma associação 2,9 vezes maior entre o início do evento e a exposição ao tráfego de veículos, sendo o risco proporcional ao tempo de permanência no trânsito e mais elevado entre os ciclistas (OR: 3,94), em função da maior ventilação e conseqüentemente maior inalação de poluentes; nas mulheres (OR: 4,51) e nos indivíduos com comorbidades cardiovasculares crônicas¹⁹.

Vários estudos têm mostrado de maneira consistente o efeito da poluição na pressão arterial e no sistema nervoso autônomo com redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC)^{7,20}. Estudo realizado em 50 controladores de tráfego hígidos, na cidade de São Paulo²¹, revelou elevação da pressão arterial média em 2,4 mmHg e diminuição da VFC, evidenciada pela redução do SDNN em 7,93 ms. Estudo realizado em Detroit²² avaliando 343 adultos, moradores de três diferentes regiões da cidade, entre 2002 e 2003, encontrou uma elevação de 3,2 mmHg (média) a 8,6 mmHg (entre moradores de área mais poluída) na pressão sistólica associados a um aumento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $\text{PM}_{2.5}$. O impacto foi mais relevante entre indivíduos com menos de 55 anos e que não faziam uso de medicação para hipertensão. Indivíduos mais idosos e que faziam uso de medicação para hipertensão tiveram o efeito mitigado.

Também fortemente relacionadas à ocorrência de eventos cardiovasculares, as alterações na coagulação já tiveram seu elo com a exposição a poluentes bastante evidenciado em diversos estudos clínicos e experimentais. A relação da poluição com hiperviscosidade sanguínea²³ e com a elevação dos níveis de fibrinogênio²⁴ e fator Von Willebrand^{25, 26} poderiam explicar eventos cardiovasculares e tromboembólicos associados à poluição do ar. Baccarelli *et al.*²⁷ avaliando 870 pacientes com trombose venosa profunda (TVP), na região da Lombardia (IT) encontraram que os expostos a material particulado apresentavam encurtamento do tempo de protrombina e para cada aumento de 10 g/m³ de PM₁₀, um risco de 70% maior de apresentarem TVP.

O impacto dos efeitos da exposição crônica a poluentes é bem mais relevante do que os observados nas exposições agudas. O conjunto das evidências dos principais estudos de coorte revela um risco de mortalidade entre 3% e 76% associado à uma elevação na concentração crônica de PM_{2.5} de 10 µg/m³³⁹, com os maiores impactos sendo observados no sexo feminino^{28, 29}.

Embora ainda carecendo de confirmações mais conclusivas, diversos estudos experimentais e epidemiológicos têm evidenciado efeito da exposição no desenvolvimento e progressão da aterosclerose. Avaliação recém-publicada, de cinco estudos controlados, aleatorizados e duplamente cegados realizados na região de Los Angeles³⁰ (EUA), revelou que indivíduos que moravam até 100 metros de distância de vias de grande tráfego de veículos apresentaram uma progressão acelerada do

espessamento das camadas média e íntima da carótida (5,5 μm), valor mais de duas vezes superior ao observado na média da população e com risco aumentado associado à maior concentração de $\text{PM}_{2,5}$. Outro estudo longitudinal envolvendo mais de cinco mil participantes recrutados em centros de seis estados dos EUA, sem manifestações clínicas de doença cardiovascular, revelou risco aumentado de espessamento da camada média-íntima da carótida associado com exposição por mais de vinte anos a $\text{PM}_{2,5}$ ³¹.

1.3. Exposição à poluição e efeitos respiratórios agudos e crônicos

A inalação de material particulado desencadeia inflamação pulmonar que pode produzir tanto efeitos agudos, que se manifestam em horas ou dias (aumento da exacerbação de asma e DPOC) como crônicos, que se desenvolvem ao longo dos anos, como o aumento do risco de óbitos por doenças respiratórias e aumento da incidência de câncer de pulmão^{4, 5, 6, 32, 33, 34, 35, 36, 37}.

A origem do material particulado é outro fator que também influencia a resposta orgânica sendo que a maioria dos estudos avaliou os impactos da exposição à poluição urbana, de origem industrial ou veicular. Em relação à poluição ambiental originada da queima da cana os estudos são menos numerosos^{4,5,8}. Arbex³⁵, em estudo de série temporal, realizado na cidade de Araraquara, evidenciou que durante o período de queima de cana de açúcar ocorreu um aumento de 11,6% o número de admissões hospitalares por asma associado à elevação de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de partículas totais em

suspensão (PTS), persistindo com efeito aumentado até cinco dias após o evento.

Estudo realizado na cidade de Piracicaba³⁴ mostrou um aumento de 21,4% e 31,03% nas internações respiratórias em crianças e idosos, respectivamente, associados à elevação de 10,2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de $\text{PM}_{2.5}$ e de 42,9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ no PM_{10} .

Nos Estados Unidos, estudo realizado na cidade de Houma (Louisiana), mostrou aumento de internações por asma entre a população local³⁸ nos meses em que ocorre a queima da palha de cana.

Para Torres Duque et al⁶, em recente revisão sobre queima de biomassa em ambientes internos, existe forte evidencia da associação com infecções respiratórias agudas em crianças e DPOC em mulheres, decorrentes da fumaça do carvão.

No Brasil, Bosso⁹ em estudo com cortadores de cana, na cidade de Ribeirão Preto, verificou um aumento de excreção urinária de hidrocarbonetos aromáticos, entre os trabalhadores, no período da queima de cana (0,318 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ creatinina) em relação aos mesmos trabalhadores no período fora da queima (0,035 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ creatinina), bem como em relação a um grupo controle de trabalhadores não envolvidos em atividade de cana (0,041 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ creatinina).

1.4. Fisiopatologia das repercussões sistêmicas da exposição à poluição atmosférica

Há três principais vias fisiopatológicas propostas para explicar os efeitos deletérios da poluição, especialmente por material particulado³⁹ (Figura 7). Uma delas envolve a liberação de mediadores proinflamatórios (citocinas, leucócitos e plaquetas ativados) e moléculas vasoativas (histamina, endotelina, entre outras) diretamente pelas células pulmonares que primeiro entram em contato com esses agentes externos (pneumócitos, macrófagos alveolares e células endoteliais dos capilares pulmonares). Isso ocorre quando as primeiras linhas de defesa celular (enzimas de inativação de xenobióticos de fase 1 e posteriormente enzimas antioxidantes de fase 2) não são suficientes para neutralizar os radicais livres presentes nos poluentes ou gerados nas células pulmonares em resposta a eles^{7, 39}.

Um segundo processo proposto envolve o desbalanço autonômico desencadeado pela interação dessas partículas inaladas com receptores neurais pulmonares, ou decorrente do processo de *stress* oxidativo. Essa interação ativa a resposta simpática e diminui o tônus parassimpático, além de também evocar uma resposta inflamatória e oxidativa de gatilho neurogênico³⁹.

A última via postulada no desencadeamento de resposta orgânica ao material particulado inalado é a translocação direta de material particulado ultrafino (PM_{0.1}) ou constituintes dessa fração do material particulado, como

metais e compostos orgânicos, diretamente para a circulação através da passagem pela interface alveolocapilar^{40, 41}.

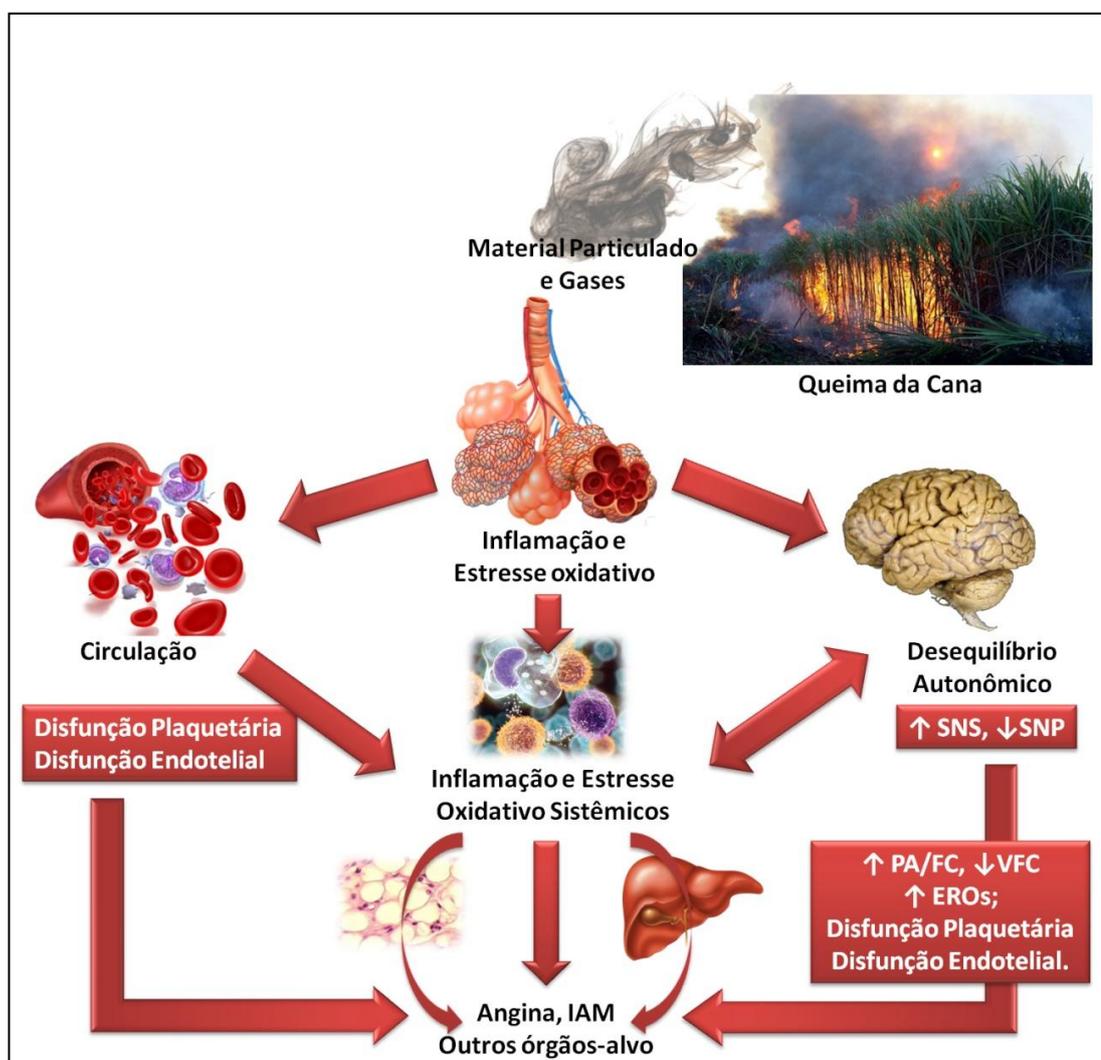


Figura 7. Fisiopatologia das repercussões da poluição ambiental. (Adaptado de: Brook et al, 2010⁷)

O efeito resultante da interação desses processos é a amplificação sistêmica da resposta inflamatória (citocinas próinflamatórias, como IL1, IL6, TNF-alfa, leucócitos e plaquetas ativadas), do *stress* oxidativo (depleção de antioxidantes, aumento da formação de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio e peroxidação lipídica), disfunções cardiovasculares (aumento da

frequência cardíaca e da pressão arterial, redução da variabilidade da frequência cardíaca^{42, 43}, aumento da adesividade plaquetária, disfunção endotelial e aceleração da aterosclerose), desequilíbrio do status fibrinogênese-fibrinólise e resultante hipercoagulabilidade⁴⁴.

Neste ambiente em que metais, espécies reativas endógenas e mediadores de inflamatórios interagem com as estruturas celulares, surge uma última via de dano celular, pouco contemplada até então nos modelos clássicos: o efeito genotóxico. O DNA é considerado, direta e indiretamente, um alvo importante para espécies reativas de oxigênio e nitrogênio geradas em consequência da exposição à poluição atmosférica. Danos endógenos ao DNA que podem ter sua frequência aumentada como resultado da exposição a xenobióticos incluem depurinação, desaminação, oxidação e formação de adutos com produtos gerados endogenamente (ex., aldeídos resultantes do processo de peroxidação lipídica e nitrosaminas)⁴⁵. Essas alterações sequenciais do DNA, assim como os efeitos epigenéticos (formação de adutos e hipermetilação do DNA, acetilação-deacetilação de histonas) desses compostos podem não apenas silenciar como também ativar a expressão de diversos genes, alterando vias metabólicas celulares, modificando sua capacidade de resposta à injúria e, eventualmente, predispondo ao desenvolvimento de neoplasias^{46, 47, 48}. Devido à sua abundância nas células e susceptibilidade à oxidação, os ácidos graxos poliinsaturados são também alvos importantes para os oxidantes. Como essa oxidação desencadeia uma cascata auto catalítica que gera numerosas substâncias genotóxicas, os danos aos lipídios têm grandes implicações

para a integridade do DNA. De fato, a peroxidação lipídica tem sido associada ao desenvolvimento de condições patológicas induzidas por exposição a agentes oxidantes. Nesse processo são gerados aldeídos, que são agentes alquilantes com capacidade de se ligarem covalentemente a grupos nucleofílicos presentes em DNA, peptídeos e proteínas, provocando alterações nas funções dessas moléculas⁴⁹. Reações de aldeídos resultantes do processo de peroxidação lipídica com bases do DNA dão origem a diversos adutos exocíclicos denominados propanoadutos, etenoadutos e adutos de malonaldeído⁵⁰. Esses processos servem de substrato ultraestrutural e nexos fisiopatológicos para os crescentes achados fisiológicos e epidemiológicos relacionando a poluição às morbidez e mortes precoces.

1.5. Exercício físico na presença de poluentes

A atividade física regular tem uma influência profunda e positiva sobre a saúde em todas as fases da vida. Diversos estudos têm demonstrado que a falta de atividade física está ligada ao desenvolvimento de diversos processos mórbidos crônico-degenerativos e à mortalidade prematura⁵¹. A prática de atividade física regular, por outro lado, diminui o risco de doença coronariana e eventos cardiovasculares agudos, além de reduzir os riscos de se desenvolver diabetes tipo 2 e osteoporose^{52, 53}.

Quanto maior o nível da atividade, maior a ventilação; tanto pelo aumento da frequência respiratória, quanto pelo aumento do volume

corrente. Um adulto saudável do sexo masculino apresenta uma ventilação até sete vezes maior no exercício intenso que no repouso.

A carga de poluentes que um indivíduo inala depende de muitos fatores, como concentração atmosférica, tempo de exposição e o nível de atividade física desempenhada. Além disso, sob uma demanda ventilatória aumentada, existe a tendência de se ventilar preferencialmente pela boca, o que reduz a função do nariz em filtrar alguns poluentes mais grosseiros⁵⁴. A quantidade de partículas ultrafinas que se deposita no trato respiratório durante a realização de exercícios moderados chega a ser cerca de 5 vezes superior quando comparado com o repouso em estudo realizado entre indivíduos saudáveis^{55, 56}.

Embora a relação entre exercício e os potenciais eventos adversos da inalação de poluentes não seja ainda totalmente compreendida, até o presente vários estudos têm demonstrado que alguns impactos tendem a ser maiores com o aumento da atividade física. Estes efeitos tendem a ser mais pronunciados em pessoas com problemas de saúde subjacentes, como a asma, a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), o diabetes e as doenças cardiovasculares^{24, 57}.

Através da utilização de estudos em câmaras (salas ou contêineres com atmosfera controlada) que possibilitam testes sob diferentes níveis de exposições a material particulado e gases, tem sido demonstrado que aumento da intensidade do exercício, durante a exposição ao ozônio impacta negativamente na função pulmonar e aumenta a incidência de

sintomas respiratórios⁵⁸. Em outro estudo semelhante, a exposição ao ozônio durante o exercício teve muito maior impacto sobre a função pulmonar de homens com doença pulmonar obstrutiva crônica que nos indivíduos saudáveis⁵⁹.

Um estudo realizado com praticantes de caminhada no parque nacional White Mountain National Forest (New Hampshire, EUA) evidenciou que a exposição ao PM_{2,5} e ao ozônio durante longas caminhadas ao ar livre foi associada com uma significativa redução da função pulmonar. Voluntários asma mostraram os maiores impactos adversos⁶⁰.

Uma revisão de estudos envolvendo atletas britânicos concluiu que a exposição ao monóxido de carbono (CO) ao ar livre (como ocorre perto de vias de tráfego) é prejudicial ao desempenho atlético e que o ozônio impacta negativamente sobre a função pulmonar⁵⁶. Esse estudo também apontou que atletas com asma, mesmo sob baixas concentrações de dióxido de enxofre (SO₂), tendem a exibir repercussões deletérias da poluição, como como sibilância, aperto no peito e aumento da resistência das vias aéreas. Asmáticos são geralmente dez vezes mais sensíveis ao SO₂ do que os não-asmáticos, especialmente durante o exercício.

Num protocolo de exposição breve de ciclistas pedalando por 20 minutos em ambiente aberto e em câmara de atmosfera controlada, Jacobs e colaboradores⁶¹ demonstraram um incremento nos marcadores plasmáticos de resposta inflamatória mais intenso entre os voluntários que se deslocaram ao ar livre que naqueles que pedalarão na câmara.

Um estudo com voluntários coronariopatas estáveis encontrou depressão do segmento ST e aumento da frequência cardíaca, além da redução dos níveis de ativador tecidual de plasminogênio no grupo de pacientes com antecedentes de infarto do miocárdio que realizaram exercícios na presença de ar poluído comparado ao de voluntários que desempenharam o mesmo teste em câmara com ar filtrado⁶².

No Brasil, um estudo com cortadores de cana da cidade de Ribeirão Preto⁹ verificou um aumento de excreção urinária de hidrocarbonetos aromáticos entre os trabalhadores no período da queima de cana em relação aos mesmos trabalhadores no período fora da queima, bem como em relação a um grupo controle de trabalhadores não envolvidos em atividades diretamente relacionadas ao setor sucroalcooleiro.

Dados recentes do INSS (Instituto Nacional de Seguridade Social) no país, referentes ao ano de 2007, registraram um aumento de adoecimento por doenças cardiovasculares entre trabalhadores do setor sucroalcooleiro, comparando com a população geral⁶³.

A situação específica dos cortadores de cana, em que coexiste uma exposição prolongada e repetida a um ambiente com alta concentração de poluentes e um processo de trabalho que envolve esforço físico intenso evoca o questionamento de se prevalecem os efeitos benéficos da prática frequente de atividade física ou se a inalação de poluentes imposta dita por si um maior risco para o desenvolvimento de afecções cardiopulmonares e inflamatórias sistêmicas.

1.6. Considerações introdutórias finais

Considerando a escassez de dados em cortadores de cana queimada, foi concebido e executado este estudo exploratório com um abrangente painel de indicadores que podem servir de base para esclarecer possíveis efeitos na saúde dos cortadores de cana e mecanismos implicados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os impactos cardiopulmonares da exposição à poluição da queima da cana-de-açúcar em cortadores de cana e voluntários da população de Mendonça.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a função pulmonar;
- Avaliar a variabilidade da frequência cardíaca;
- Avaliar marcadores sanguíneos do *stress* oxidativo;
- Avaliar marcadores sanguíneos da atividade inflamatória sistêmica;
- Avaliar a exposição ambiental a poluentes advindos da queima da cana-de-açúcar;
- Avaliar marcador de exposição ambiental a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

3. MÉTODOS

O estudo proposto tem apoio e financiamento pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo 402195/2008-6; Edital 21 CNPq/2008, para avaliar impactos na população local e nos cortadores de cana-de-açúcar.

3.1. Local do Estudo

Escolheu-se realizar o projeto no município de Mendonça-SP, localizado cerca de cinquenta quilômetros da cidade pólo de São José do Rio Preto, por pertencer a uma região de expansão da indústria sucroalcooleira e por possuir, em razão de um estudo preliminar sobre os trabalhadores do corte da cana, possibilidade de acesso aos trabalhadores e apoio do poder público local.

O município de Mendonça está localizado na 8ª Região Administrativa do Estado de São Paulo cuja sede é São José do Rio Preto, distante 566 quilômetros da capital do Estado. Com uma área de 195,5 Km² e uma população de 4640 habitantes segundo relatórios do IBGE⁶⁴ publicados em 2010, Mendonça possui um produto interno bruto (PIB) per capita de 9448 reais e o IDH de 0,771 segundo o Atlas de Desenvolvimento Humano/PNUD⁶⁵.

No município de Mendonça existe uma usina sucroalcooleira, cuja atividade compreende plantio, queimada e processo de trabalho muito semelhantes aos de outras cidades que também contam com usinas instaladas. Em Mendonça, também são reproduzidos, a exemplo de outras

localidades ligadas à indústria sucroalcooleira, condições semelhantes de moradia, meios de transporte para as viagens de deslocamento dos trabalhadores aos canaviais e impactos na infraestrutura local, como atendimento no SUS, abastecimento de água e esgotamento sanitário.

Anualmente, a Administração Pública Municipal de Mendonça contabiliza a recepção de aproximadamente quinhentos migrantes direcionados ao trabalho no setor sucroalcooleiro. Esse contingente origina-se da Região Nordeste do Brasil, com predominância de dois estados, Pernambuco e Paraíba. Uma pequena parcela desses trabalhadores (cerca de 10%) retorna antes ou logo após o início da colheita da cana, permanecendo os demais ao menos os oito meses que habitualmente compõem o período da safra.

3.2. Indivíduos avaliados

Para a composição do grupo de cortadores de cana (safristas) foram feitos anúncios através de agenciador de trabalhadores da Usina Santa Isabel (Mendonça, SP) e na Pastoral do Migrante em janeiro e fevereiro de 2009. Entre os voluntários que se apresentaram, foram selecionados os trabalhadores que atendiam aos seguintes critérios:

- Critérios de Inclusão: Gênero masculino, idade entre vinte e quarenta anos, não-fumantes (ou ex-fumantes de menos de 20 anos.maços, abstinentes há pelo menos um ano);
- Critérios de exclusão: Doenças cardiovasculares ou respiratórias diagnosticadas, uso de medicamentos anti-hipertensivos,

antiarrítmicos, inibidores da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase (“estatinas”), derivados do ácido fíbrico (fibratos), broncodilatadores beta-adrenérgicos e anticolinérgicos, anti-inflamatórios esteroidais sistêmicos e inalatórios, antiagregantes plaquetários e anticoagulantes.

Foi recrutado um grupo de comparação (população de referência), composto a partir da divulgação do estudo através de material impresso na Prefeitura Municipal de Mendonça, de avisos nas missas da igreja local e do uso de anúncios sonoros difundidos por um “carro-de-som”. Entre os voluntários que se apresentaram, foram selecionados os que atendiam aos mesmos critérios aplicados ao grupo dos safristas.

3.3. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo, com medidas repetidas, com os participantes avaliados em dois períodos: durante o período da pré-safra (fevereiro e abril de 2009) e no período da safra (maio a novembro de 2009), quando ocorre o corte de cana-de-açúcar queimada.

A descrição da sequência temporal das etapas investigativas do estudo está sumarizada na figura 8.

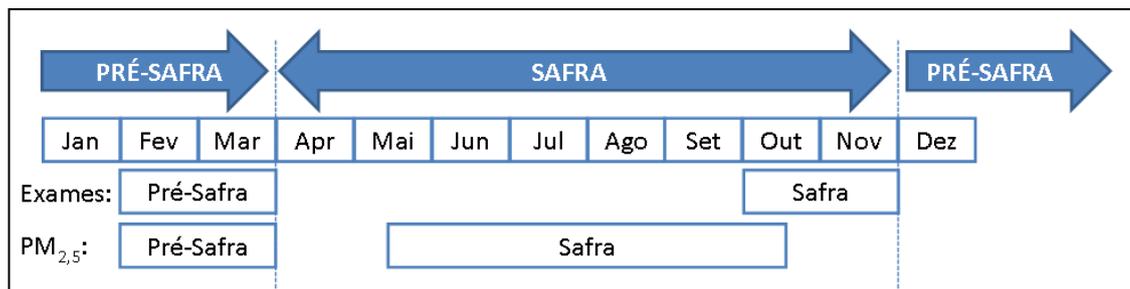


Figura 8. Fluxograma dos processos adotados no estudo.

3.4. Avaliação ambiental: Concentração de material particulado, temperatura e da umidade relativa do ar

Com o objetivo de estimar a exposição das populações estudadas à poluição advinda da queima da cana-de-açúcar e avaliar as condições ambientais, foram realizadas medidas contínuas da concentração de material particulado de diâmetro aerodinâmico inferior a $2,5\mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2,5}$), temperatura ambiental e umidade relativa do ar no período da safra (nos meses de maio, julho, setembro e outubro de 2009) ao longo de 30 dias nos canaviais e 44 dias na área urbana do Município de Mendonça. Durante o período de entressafra, as medições foram realizadas apenas na cidade, ao longo de 35 dias consecutivos de fevereiro e março de 2010, assumindo-se como a condição de referência para as duas populações estudadas. Ao longo desses três primeiros meses de 2009, os cortadores de cana chegavam à Mendonça e eram alojados na área urbana da cidade.

A aferição da concentração atmosférica de $\text{PM}_{2,5}$ foi realizada através de um espectrofotômetro de massa portátil PM DUSTTRAK Aerosol Monitor

(Modelo 8520, TSI Inc., Mn, EUA). Esta técnica mede a dispersão de um feixe de *laser* de comprimento de onda de 780 nanômetros causada pela passagem do ar direcionado por um circuito de fluxo ativo; a dispersão da luz é diretamente proporcional à massa das partículas que atravessam o feixe. Com a integração desse sinal fotoelétrico ao fluxo de ar calibrado no dispositivo (1,7L/min), gera-se um valor instantâneo e contínuo de concentração de material particulado expresso em $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Os dados adquiridos foram transferidos através de um programa próprio do fabricante e exportados para uma planilha de dados.

No canal, o monitor de material particulado foi instalado em local próximo ao sítio de trabalho dos safristas, onde exatamente a atividade de corte de cana queimada estava sendo realizada.

Na cidade, as medições foram realizadas sempre no mesmo local, numa residência da região central do município.

A avaliação de temperatura e umidade relativa do ar foi realizada com o termo-higrômetro DataLogger modelo 30.3015 (TFA, GmbH). Esse dispositivo permite coletar dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar a cada cinco minutos e também dispõe de interface de exportação dos dados. O aparelho foi colocado ao lado do monitor de material particulado.



Figura 9. Termo-higrômetro DataLogger (a), monitor de material particulado DustTrak (b) e demonstração de seu uso em campo (c).

3.5. Procedimentos observados para avaliação individual

Tanto os cortadores de cana (safristas) como os voluntários da população de referência foram avaliados em dois momentos, na fase pré-safra (entressafra) e durante a safra. Em um único dia, indivíduos dos dois grupos eram submetidos sequencialmente às avaliações descritas a seguir.

3.6. Exames realizados

3.6.1. Exame Clínico

Realizado por médicos clínico e pneumologista. Foi aplicado um questionário de registro de informações gerais sobre o processo de trabalho,

histórico ocupacional, anamnese clínica, antecedente de tabagismo, antecedentes mórbidos pessoais e familiares (ANEXOS) e um questionário estruturado sobre sintomas respiratórios (European Community Respiratory Health Survey⁶⁶, validado para o português⁶⁷) acrescido de perguntas elaboradas para essa pesquisa na primeira avaliação (pré-safra) e na segunda avaliação, ao final da safra.

Durante a consulta foi realizada medida da saturação de oxigênio por oximetria de pulso (Onyx Fingertip Pulse Oximeter, modelo 9500, Nonin Inc), do monóxido de carbono no ar exalado (através de monitor portátil MicroDirect, MicroCO Carbon Monoxide Monitor) e medida da pressão arterial (através de esfigmomanômetro digital eletrônico semi-automático modelo HEM 433INT (Omron, Tokyo, Japan) em conformidade com as recomendações das Diretrizes Brasileiras de Hipertensão arterial (IV edição)⁶⁸.



Figura 10. Monitor de monóxido de carbono exalado (a), esfigmomanômetro (b) e oxímetro de pulso (c).

3.6.2. Exames complementares

3.6.2.1. Exames Laboratoriais gerais

Os exames laboratoriais, a seguir relacionados, foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do InCor-HCFMUSP:

- Hemograma completo com contagem de plaquetas, através de contagem automatizada por equipamento Coulter, modelo STKS;
- Fibrinogênio, dosado pelo método de Clauss;
- Colesterol total e frações, dosados em equipamento automatizado

Dimension RXL da Siemens, por Fotometria de Absorção;

- Triglicérides, dosados em equipamento automatizado Dimension RXL da Siemens, por Fotometria de Absorção;
- Glicemia de jejum, dosada em equipamento automatizado Dimension RXL da Siemens, por Fotometria de Absorção;
- Creatina fosfoquinase (CPK) e Desidrogenase Lática (DHL), em equipamento Dimension RXL da Siemens, por Fotometria de Absorção;
- Sódio, Potássio, Cálcio, Fósforo, determinados em equipamento Dimension RXL da Siemens. Para dosagem de sódio e potássio foi utilizada a técnica ISE (Eletrodo Íon Seletivo) e para dosagem de cálcio e fósforo foi utilizada a técnica de Fotometria de Absorção.

3.6.2.2. Atividade de enzimas antioxidantes

A dosagem das enzimas antioxidantes realizada no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de São Paulo.

3.6.2.2.1. Medida da Atividade da Glutathione Peroxidase e da Glutathione Redutase.

Este método baseia-se na medida indireta da atividade da glutathione peroxidase (GPx), por meio de uma reação casada com a glutathione redutase (GR)⁶⁹. A forma oxidada da glutathione (glutathione dissulfeto, ou GSSG) produzida pela redução de hidroperóxidos pela GPx, é reciclada à forma reduzida do tripeptídeo glutathione (GSH) pela GR e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH).

Nesse ensaio, utilizou-se o terc-butil hidroperóxido como substrato. A oxidação de NADPH à nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma oxidada (NADP⁺) é acompanhada pelo decaimento da absorvância a 340 nm e a 37°C. As atividades das enzimas GPx e GR nesse ensaio são então representadas pela curva de consumo de NADPH (Espectrofotômetro Power Wave HT340, Bio-Tek Instruments INC).

3.6.2.2.2. Determinação da atividade da GST

Este ensaio descrito por Habig & Pabst⁷⁰ mede a atividade da GST, através da conjugação de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno com a GSH. A conjugação é acompanhada pelo aumento na absorbância à 340 nm e à 25°C. A taxa de aumento da absorbância é diretamente proporcional à atividade da GST presente na amostra.

3.6.2.2.3. Determinação da atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A enzima SOD dismuta o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) na presença de um próton (H^+) formando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água (H_2O). No ensaio descrito por Flohe & Ötting⁷¹, utiliza-se o sistema hipoxantina-xantina oxidase como gerador de $O_2^{\bullet-}$. O ferricitocromo C é reduzido na presença do $O_2^{\bullet-}$ e a taxa de redução é monitorada espectrofotometricamente a 550 nm, 25°C. A SOD compete pelo $O_2^{\bullet-}$ diminuindo a taxa de redução do ferricitocromo C. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de SOD que inibe a taxa de redução do ferricitocromo C, sobre condições específicas, em 50%.

3.6.2.2.4. Determinação da atividade da catalase

A atividade da enzima catalase é medida sob técnica descrita por Aebi e cols⁷² através do consumo de numa amostra de hemolisado de eritrócitos 1:500 e solução de H_2O_2 0,56%. O decaimento na absorbância a 240 nm, 25°C é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra de eritrócitos.

3.6.2.3. Avaliação da peroxidação lipídica

Foi realizada através da quantificação do Malondialdeído (MDA) plasmático pela reação com o ácido tiobarbitúrico a 90°C por uma hora, de acordo com a técnica descrita por Sim (2003)⁷³. Após a centrifugação para remoção de proteína, o sobrenadante foi filtrado através de uma membrana 0,2 µm e o complexo colorido foi analisado pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), usando uma coluna analítica C-18, eluída com 50 mM tampão fosfato (pH=7.0): metanol (65:35) a 1 mm/min e detectado por espectrofotômetro a 532nm. MDA foi expresso por µM de MDA por miligrama de proteína. O conteúdo de proteína e hemoglobina foi determinado por reagentes Bradford Doly, método empregado em outros estudos.

3.6.2.4 Dosagem de Interleucinas proinflamatórias

As interleucinas proinflamatórias IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8 foram dosadas por método comercial automatizado de imunoenensaio usando o kit MILLIPLEX™, catálogo MPXHCYTO-60K-05, com leitura pelo método Luminex® xMAP®, conforme método já validado por duPont⁷⁴.

3.6.2.5. Análise do polimorfismo dos genes codificadores das enzimas GSTT1 e GSTM1.

Para a avaliação da presença ou ausência dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foi utilizado método automatizado de reação de polimerase em cadeia (multiplex-PCR), conforme descrito por Abdel-Rahman et al⁷⁵. Para

amplificação dos fragmentos de interesse foram utilizados os seguintes *primers*:

GSTM1: GSTM1-G1 (5'- GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C - 3') e
GSTM1-G2 (5' - GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G - 3');

GSTT1: GSTT1-1 (5' - TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC - 3') e
GSTT1-2 (5'- TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA - 3').

O produto da PCR foi identificado em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídeo e visualizado em luz ultravioleta. A presença do gene GSTT1 foi identificada por um fragmento de 480pb e do GSTM1 por 215pb.

3.6.2.6. Prova de Função Pulmonar

Os exames foram realizados de acordo com as recomendações das diretrizes ATS/ERS^{76, 77} e os valores preditos utilizados foram os de Pereira et al⁷⁸.

Todos os indivíduos foram avaliados no período matutino, sem consumo de café, chás, refrigerantes e bebida alcoólica.

Utilizou-se o espirômetro Koko (Figura 11), modelo Trek (PDS. Instrumentation Inc., Louisville, CO, USA).

Foram registrados em valores absolutos e porcentagens dos preditos os seguintes parâmetros: volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁), capacidade vital forçada (CVF), Relação VEF₁/CVF e fluxo expiratório forçado médio entre 25% e 75% da CVF (FEF_{25-75%}).



Figura 11. Espirômetro Koko conectado ao computador portátil.

3.6.2.7. Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e Pressão arterial sistêmica

Os participantes foram submetidos a monitoramento da frequência cardíaca com uso de cardiofrequencímetro portátil Polar (Figura 12), modelo RS-800 (Polar Electro Oy, Finland) em protocolo incremental de esforço submáximo (60-70% da frequência cardíaca máxima, assumida como 220 - idade em anos) em esteira ergométrica ao longo de dez minutos, precedido por 10 minutos de repouso. Os dados registrados foram transferidos para microcomputador e a VFC, nos domínios do tempo e da frequência, foi avaliada no software Kubios HRV (Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, University of Eastern Finland). Esse protocolo foi realizado antes da safra (março e abril) e ao final da safra (outubro e novembro) em 2009. O

mesmo protocolo foi repetido em um grupo menor de voluntários em abril (pré-safra) e agosto (safra) de 2010.



Figura 12. Frequencímetro Polar RS-800 e esteira usados no protocolo

As condições de realização e interpretação do exame obedeceram às recomendações publicadas pela Task Force of European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Eletrophysiology⁷⁹.

3.6.2.8. Avaliação de marcador de exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos: 1-hidroxi pireno urinário.

Alíquotas de 10mL de urina com pH=5 (ajustado através de adição de solução de HCl 1M) foram mantidas em solução tampão de acetato (5mL, 0,5M, pH=5,0) e incubadas por uma hora com 800U de glucuronidase/aril sulfatase a 37°C. Essa solução foi eluída em etanol, submetida à evaporação do solvente a 60°C até o volume de 0,5mL e analisada por cromatografia líquida de alto desempenho (HLPC) e leitura do produto por

espectrofotometria. A expressão da concentração do 1-hidroxi-pireno corrigida e padronizada através da razão de sua concentração para a concentração urinária de creatinina, segundo técnica já descrita por Zhao⁸⁰.

3.7. Análises estatísticas

Variáveis categóricas são apresentadas como número absoluto e porcentagem e variáveis contínuas expressas por médias e desvio padrão – quando de distribuição normal – ou mediana e intervalo interquartil, caso apresentem distribuição assimétrica.

Foi realizada a análise descritiva dos valores obtidos das variáveis estudadas nas duas populações, nos dois momentos (períodos pré-safra e safra). A comparação das medidas repetidas em cada população foi feita através do teste T pareado ou Wilcoxon Rank test, conforme a distribuição. Para análise da diferença entre as populações num dado período, foram utilizados o teste T ou Mann-Whitney Rank test, também de acordo com a distribuição. O teste de McNemar foi utilizado para avaliar a diferença entre prevalências.

As variáveis cujas diferenças atingiram níveis de significância inferiores ou iguais a 0,10 foram analisadas também por dois métodos multivariados, o modelo de efeitos mistos de regressão linear (LME) e o modelo de equações de estimativas generalizadas (GEE). Através desses modelos, obtemos os coeficientes (β) dos efeitos fixos da variável “safra” (condição de referência: pré-safra), da variável “voluntário” (condição de referência: ser um indivíduo da população de referência) e de outras

variáveis, como o polimorfismo dos genes da *GSTT1* e *GSTM1* (condições de referência: sem a mutação, ou seja, ter a variante selvagem do gene), além das eventuais interações das variáveis “safra”, “polimorfismo de *GSTT1*” e “polimorfismo de *GSTM1*” com a variável “voluntário”. O valor de significância estatística dos coeficientes obtidos nos modelos LME e GEE foram confirmadas através do teste de análise de variância (ANOVA). Todos os modelos testados foram ajustados para idade e índice de massa corpórea (IMC).

Os coeficientes (β) dos efeitos estimados das variáveis independentes “safra”, “voluntário”, “polimorfismo de *GSTT1*”, “polimorfismo de *GSTM1*” e das eventuais interações, quando observadas, sobre a condição de base assumida como o intercepto das equações são interpretados conforme a expressão seguinte:

$$y = \text{intercepto} + \beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \beta_3 \cdot x_3 + \beta_4 \cdot x_4 + \beta_5 \cdot x_5 + \beta_6 \cdot x_6 + \beta_7 \cdot x_7 + \beta_8 \cdot x_8 + \beta_9 \cdot x_9, \text{ em que:}$$

“y” é o valor de resposta da variável dependente em questão;

“ β_1 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável “voluntário”;

“ x_1 ” é o regressor do efeito fixo para a observação “voluntário”, assumido como 0 (zero) para população de referência e 1 (um) para cortadores de cana (safristas);

“ β_2 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável “safra”;

“ x_2 ” é o regressor do efeito fixo para a observação “safra”, assumido como 0 (zero) para o período pré-safra e 1 (um) para o período safra;

“ β_3 ” é o coeficiente do efeito fixo da interação “safra e voluntário”;

“ x_3 ” é o regressor do efeito fixo da interação, obtido pelo produto de “ x_1 ” e “ x_2 ”;

“ β_4 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável “polimorfismo do gene da GSTT1”;

“ x_4 ” é o regressor do efeito fixo para a observação “polimorfismo do gene da GSTT1”, assumido como 0 (zero) para a condição de base (ausência da mutação) e 1 (um) para a presença da mutação;

“ β_5 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável “polimorfismo do gene da GSTM1”;

“ x_5 ” é o regressor do efeito fixo para a observação “polimorfismo do gene da GSTM1”, assumido como 0 (zero) para a condição de base (ausência da mutação) e 1 (um) para a presença da mutação;

“ β_6 ” é o coeficiente do efeito fixo da interação “polimorfismo da GSTT1 e voluntário”;

“ x_6 ” é o regressor do efeito fixo da interação, obtido pelo produto de “ x_4 ” e “ x_1 ”;

“ β_7 ” é o coeficiente do efeito fixo da interação “polimorfismo da GSTM1 e voluntário”;

“ x_7 ” é o regressor do efeito fixo da interação, obtido pelo produto de “ x_5 ” e “ x_1 ”;

“ β_8 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável independente “idade”;

“ x_8 ” é o regressor do efeito fixo da variável independente “idade”, assumido como a mediana da idade na população de interesse;

“ β_9 ” é o coeficiente do efeito fixo da variável independente “IMC”;

“ x_9 ” é o regressor do efeito fixo da variável independente “IMC”, assumido como a mediana do índice de massa corporal na população de interesse.

Como idade e índice de massa corporal foram adotados como fatores de ajuste dos modelos multivariados, seus valores foram omitidos dos resultados.

Alguns dados necessitaram sofrer transformações numéricas como a logarítmica, a transformação por raiz quadrada e a inversão para preencher a condição de normalidade dos resíduos das amostras, necessária às modelagens executadas.

As análises foram feitas com o programa S-Plus (Insightful Corporation, S-PLUS 8, Insightful Corporation, Seattle, WA). Foi adotado o nível de significância de 0,05.

4. RESULTADOS

Foram avaliados 113 cortadores de cana e 109 voluntários da população de referência (moradores de Mendonça) no período pré-safra. Na segunda avaliação, durante a safra, foram reavaliados 101 cortadores de cana e 83 voluntários da população de referência.

Os cortadores de cana (migrantes) trabalharam de dezembro a fevereiro (pré-safra) em pequenas lavouras de subsistência em suas cidades natais ou estavam desempregados.

4.1. Características demográficas, antropométricas e sociais das duas populações estudadas

As características demográficas dos voluntários (população de referência e cortadores de cana) estão sumarizadas na tabela 1.

Tabela 1. Características Demográficas.

Variáveis	População de Referência	Cortadores	P
	(N=109) Mediana (IQR)	(N=113) Mediana (IQR)	
Idade (anos)	28,43 (24,37-35,16)	23 (21,09-27,46)	0,020
Escolaridade (anos)	11 (10,75-11)	7 (5-9,25)	<0,001
Tabagismo	N (%)	N (%)	
Não Fumantes	98 (89,9%)	108 (95,6%)	0,020
Ex-Fumantes	11 (10,1%)	5 (4,4%)	0,020
Trabalho	Média ± DP	Média ± DP	
Corte de cana (anos)	0	3,25 ± 2,35	NT

IQR: Intervalo interquartil; DP: Desvio-padrão; NT: não testado.

Nota-se, entre os indivíduos da população local (controles) uma diferença de cinco anos a mais na idade e também uma maior escolaridade. Em relação ao antecedente de tabagismo, notamos maior prevalência de ex-fumantes entre os moradores de Mendonça. O grupo de safristas avaliado trabalhava no corte da cana havia em média 3,25 anos.

A caracterização antropométrica, os dados do exame de triagem clínica e a genotipagem quanto ao polimorfismo de *GSTT1* e *GSTM1* das populações estudadas estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Características Antropométricas e variáveis clínicas: Pré-safra.

Variáveis	População de Referência (N=109) Mediana (IQR)	Cortadores (N=113) Mediana (IQR)	P
Frequência Cardíaca (bpm)	76 (64-82)	68 (64-77)	0,039
PA Sistólica (mmHg)	125 (112,75-137)	120 (110-130)	0,065
PA Diastólica (mmHg)	80 (70-85,75)	75 (70-80)	0,042
Circunf. Abdominal (cm)	93 (82-100)	79 (75-85)	0,006
Peso (Kg)	80,2 (72-90)	67,7 (62-73)	<0,001
Altura (m)	1,74 (1,69-1,79)	1,70 (1,67-1,74)	<0,001
IMC	26,96 (23,62-30,25)	23,40 (21,71-25,09)	<0,001
Polimorfismo	N(%)	N(%)	
<i>GSTT1</i> (deleção)	14 (13,9%)	28 (25,7%)	0,010
<i>GSTM1</i> (deleção)	45 (44,5%)	33 (31,4%)	0,037

IQR: Intervalo interquartil; PA: Pressão arterial, IMC: Índice de Massa Corpórea. *GSTT1*: Gene da Glutathione S-transferase Θ -1; *GSTM1*: Gene da glutathione S-transferase μ 1.

A tabela 3 apresenta dados clínicos e antropométricos das duas populações nos períodos da pré-safra e safra.

Tabela 3. Características Antropométricas e clínicas – População de referência e cortadores de cana, pré-safra e safra.

Variáveis	População de Referência (PR)		P	Cortadores de Cana (C)		P	C vs PR	
	Pré-Safra (N=109)	Safra (N=84)		Pré-Safra (N=113)	Safra (N=102)		Pré Safra	Safra
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		P	P
Peso (Kg)	80,2 (72-90)	82 (73,4-92)	0,719	67,7 (62-73)	69 (63-74,7)	0,538	<0,001	<0,001
Altura (m)	1,74 (1,69-1,79)	1,74 (1,69-1,79)	0,972	1,70 (1,67-1,74)	1,70 (1,67-1,74)	0,988	<0,001	<0,001
IMC	26,96 (23,6-30,25)	26,40 (24,1-30,1)	0,852	23,40 (21,71-25,1)	23,73 (22,0-25,1)	0,639	<0,001	<0,001
CAb (cm)	93 (82-100)	92 (83-102)	0,831	79 (75-85)	78 (74-83,25)	0,203	<0,001	<0,001

PR: População de referência; C: Cortadores e cana; IQR: Intervalo interquartil; IMC: Índice de Massa Corpórea; CAb: Circunferência abdominal.

Quanto a essa caracterização, as populações diferem principalmente em relação ao índice de massa corporal e à circunferência abdominal. Não se observaram alterações evolutivas da pré-safra para a safra das variáveis apontadas em cada população.

A população de safristas foi também estudada em relação a fatores relacionados à sua origem geográfica e ao perfil de trabalho, o que demonstrou os achados seguintes. A maioria dos cortadores de cana (67,5%) originava-se das cidades de Flores e Triunfo (PE). Os demais se

distribuíam entre oriundos de municípios do estado da Paraíba (21%) e de outras cidades de Pernambuco.

4.2. Condições de trabalho dos cortadores de cana

O período da safra em 2009 durou do início de maio a meados de novembro. Como preparo para o corte manual, a queima da cana era realizada na noite anterior, iniciando-se aproximadamente às 22:00 horas com duração média de 3 a 5 horas, fazendo que no início do corte, às 7:00 horas, por diversas vezes ainda houvesse palha fumegante, uma das principais queixas dos trabalhadores.

Os salários médios mensais eram de R\$ 1042,08 (DP=192,05) e a produtividade diária média de 136,53 metros (DP=43,17) de campo cortado. Cada metro linear – medida de trabalho adotada pelos safristas – equivale a uma área de 6 a 8 metros quadrados, a depender da largura do eito em que se dispõe cada cortador. Ao longo da jornada de trabalho, o consumo médio de água por um trabalhador é de, em média, 8 litros (DP=2,32).

Em relação à ocorrência de acidente de trabalho ou doença nos últimos 6 meses, colheram-se os dados expostos na tabela 4. Notamos, nesse caso, que a incidência de doenças (ou queixas que sejam interpretadas como tal) ao longo dos últimos seis meses foi maior no período pré-safra.

Tabela 4. Doenças e acidentes entre os safristas nos últimos 6 meses

Variável	Período		P
	Pré-safra (N=113) N (%)	Safra (N=101) N (%)	
Sofreu acidente de trabalho	23 (20,4%)	23 (22,8)	0,071
Ficou doente	21 (18,6%)	9 (8,9%)	0,033

As vestimentas de trabalho dos cortadores de cana são compostas de calça comprida, camisa de manga longa, proteção para a cabeça, óculos de proteção, calçados de segurança, luvas e aventais. O uso de roupas sobrepostas visa proteger o trabalhador de acidentes cortantes com a palha da cana, dos golpes do podão (facão), de picadas de animais peçonhentos e da excessiva exposição solar, mas aumenta o desconforto e a sobrecarga térmica, uma vez que dificulta a dissipação do calor e a evaporação da transpiração (figura 13).



Figura 13. Trabalhadores afiando seus podões.

Para o corte o trabalhador abraça um monte de cana, flexiona o tronco e desfere sucessivos golpes de facão sobre a base dos colmos (Figura 14a e 14b). Em seguida, corta as extremidades superiores da cana (pendões ou ponteiras) - de baixo de teor de sacarose, portanto baixo valor industrial - e coloca o monte de cana cortada em fileiras, para ser medido pelo apontador da turma e, posteriormente, reunido em montes para a coleta mecânica.



Figuras 14a e 14b. Aspectos ergonômicos do trabalho do corte da cana

A jornada diária de trabalho é de 8:20 horas (7:00-15:20h), com intervalo de 60 minutos para almoço, em regime 6/1 (uma folga para cada seis dias trabalhados).

Normalmente os safristas moram em grupos de 4 a 15 pessoas em casas alugadas. Excepcionalmente, alguns deles passam a morar com suas famílias, trazidas após o início da safra.

4.3. Avaliação dos sintomas respiratórios

Na tabela 5 são apresentados os dados referentes ao questionário de sintomas respiratórios aplicado na avaliação inicial.

Tabela 5. Questionário Respiratório 2009 - Pré-Safra.

Pergunta	População Ref.	Safristas	P
	(N=109)	(N=113)	
	N (%)	N (%)	
Você teve chiado últimos 12 meses?	8 (7,3%)	6 (5,3%)	0,040
Sempre que você teve sibilo ou chiado também sentiu falta de ar?	6 (75%)	0 (0%)	<0,001
Você teve chiado no peito mesmo quando não estava resfriado?	4 (50%)	4 (66,6%)	0,090
Você acordou com a sensação de aperto ou opressão no peito alguma vez nos últimos 12 meses?	2 (1,8%)	5 (4,4%)	0,030
Você acordou com crise de falta de ar, alguma vez, nos últimos 12 meses?	2 (1,8%)	3 (2,7%)	0,312
Você acordou crise de tosse, alguma vez, nos últimos 12 meses?	4 (3,7%)	8 (7,1%)	0,030
Você teve alguma crise de asma nos últimos 12 meses?	1 (0,9%)	0 (0%)	0,200
Atualmente você está usando algum medicamento para asma?	0 (0%)	0 (0%)	*
Você tem alguma alergia no nariz incluindo rinite alérgica a flores?	27 (24,8%)	7 (6,2%)	0,008
Você teve tosse por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	4 (3,7%)	3 (2,7%)	0,060
Você teve catarro por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	5 (4,6%)	2 (1,8%)	0,032

*: Teste não aplicado.

Os sintomas foram pouco frequentes nas duas populações, predominando a sibilância, “alergia no nariz” e catarro no peito na população de referência e sintomas noturnos de opressão torácica e tosse entre os cortadores de cana.

A análise do questionário de sintomas respiratórios nas duas populações ao longo da pré-safra e safra encontra-se nas tabelas 6 e 7.

Entre os voluntários da população local, houve redução ou estabilidade da frequência dos sintomas, exceto da tosse noturna e uso de medicamento para asma, enquanto nos safristas, aumentaram os relatos de sibilância, tosse noturna, “alergia no nariz” e “catarro no peito por pelo menos 3 meses”.

Tabela 6. Questionário Respiratório: População de Referência, pré-safra e safra.

Pergunta	População de Referência		P
	Pré-Safra (N=109)	Safra (N=84)	
	N (%)	N (%)	
Você teve chiado últimos 12 meses?	8 (7,3%)	4 (4,9%)	0,032
Sempre que você teve sibilo ou chiado também sentiu falta de ar?	6 (75%)	2 (50%)	0,044
Você teve chiado no peito mesmo quando não estava resfriado?	4 (50%)	1 (25%)	0,031
Você acordou com a sensação de aperto ou opressão no peito alguma vez nos últimos 12 meses?	2 (1,8%)	2 (2,5%)	0,052
Você acordou com crise de falta de ar, alguma vez, nos últimos 12 meses?	2 (1,8%)	1 (1,2%)	0,021
Você acordou crise de tosse, alguma vez, nos últimos 12 meses?	4 (3,7%)	6 (7,4%)	0,018
Você teve alguma crise de asma nos últimos 12 meses?	1 (0,9%)	1 (1,2%)	0,063
Atualmente você esta usando algum medicamento para asma?	0 (0%)	2 (2,5%)	0,052
Você tem alguma alergia no nariz incluindo rinite alérgica a flores?	27 (24,8%)	18 (22,2%)	0,040
Você teve tosse por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	4 (3,7%)	1 (1,2%)	0,012
Você teve catarro por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	5 (4,6%)	4(4,9%)	0,120

Tabela 7. Questionário Respiratório: Cortadores de cana, pré-safra e safra.

Pergunta	Cortadores de Cana		
	Pré-Safra (N=113)	Safra (N=97)	P
	N (%)	N (%)	
Você teve chiado últimos 12 meses?	6 (5,3%)	16 (16,8%)	0,002
Sempre que você teve sibilo ou chiado também sentiu falta de ar?	0 (0%)	2 (16,6%)	0,023
Você teve chiado no peito mesmo quando não estava resfriado?	4 (66,6%)	1 (6,2%)	0,003
Você acordou com a sensação de aperto ou opressão no peito alguma vez nos últimos 12 meses?	5 (4,4%)	2 (2%)	0,017
Você acordou com crise de falta de ar, alguma vez, nos últimos 12 meses?	3 (2,7%)	3 (2,9%)	0,231
Você acordou crise de tosse, alguma vez, nos últimos 12 meses?	8 (7,1%)	22 (22,8%)	<0,001
Você teve alguma crise de asma nos últimos 12 meses?	0 (0%)	2 (2%)	0,051
Atualmente você esta usando algum medicamento para asma?	0 (0%)	0 (0%)	*
Você tem alguma alergia no nariz incluindo rinite alérgica a flores?	7 (6,2%)	14 (14,4%)	<0,001
Você teve tosse por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	3 (2,7%)	2 (2%)	0,057
Você teve catarro por pelo menos 3 meses por ano nos últimos 2 anos?	2 (1,8%)	6 (6,18%)	0,002

*: Teste não realizado.

4.4. Exames Laboratoriais

Os dados dos exames laboratoriais colhidos das duas populações estudadas encontram-se expostos na tabela 8.

Tabela 8. Exames laboratoriais: Pré-safra e safra, análise univariada.

	População de Referência (PR)		P*	Cortadores de Cana (CC)		P*	PR vs CC	
	PS (N=109)	S (N=84)		PS (N=113)	S (N=97)		PS	S
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		P	P
Colest, (mg/dL)	182 (156-209,5)	194 (165,7-216,7)	0,005	139,5 (116-169,5)	156 (135-182)	<0,001	<0,001	<0,001
HDL (mg/dL)	48,5 (43-57,5)	53 (46-61)	<0,001	46,5 (41-53)	58 (50-66)	<0,001	0,018	0,004
LDL (mg/dL)	107 (86-127,7)	112 (89-131,5)	0,225	72,5 (52-96)	82 (65,5-99)	0,045	<0,001	<0,001
Triglic, (mg/dL)	108 (72,5-160,5)	113 (85,25-183)	0,009	107,5 (78,5-167,5)	73 (51-103,5)	<0,001	0,755	<0,001
CPK (mg/dL)	179,5 (120-256,5)	194 (141,5-303,2)	0,063	122 (97-179)	275 (206-367)	<0,001	<0,001	<0,001
Fibrinog, (mg/dL)	230 (211-253)	287 (235,5-320)	<0,001	208 (175-238,5)	249 (208-317)	<0,001	<0,001	0,170
DHL (mg/dL)	201,5 (177-223)	206 (184,5-229,5)	0,226	177 (160,5-206)	205 (186-230)	<0,001	0,001	0,470

PR: População de referência; S: Safristas; IQR: Intervalo interquartil; Colest.: Colesterol total; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; CPK: Creatina fosfoquinase; DHL: Desidrogenase láctica; Triglic.: Triglicérides; Fibrinog.: Fibrinogênio; PS: Pré-safra; S: Safra; *: Valor de significância comparando os voluntários com dados completos em ambos os períodos.

Na avaliação inicial, verificaram-se valores mais elevados entre os voluntários da população de referência para as dosagens de colesterol total e suas frações, creatina fosfoquinase (CPK), fibrinogênio e desidrogenase láctica (DHL), comparados aos cortadores de cana.

Evolutivamente, notou-se entre os moradores de Mendonça uma elevação dos níveis de colesterol, HDL, triglicérides e fibrinogênio, enquanto nos cortadores de cana observamos redução nos triglicérides e elevação dos valores de colesterol total e suas frações, CPK, fibrinogênio e DHL.

Os efeitos das variáveis independentes (coeficientes) “voluntário” (referência: população local), “safra” (referência: pré-safra) e sua eventual interação sobre as variáveis dependentes acima foram estudados em modelo linear de efeitos mistos (LME), controlados para IMC e idade e descritos na tabela 9.

Tabela 9. Exames laboratoriais: Perfil lipídico, lactato desidrogenase, creatina fosfoquinase e fibrinogênio – Análise multivariada (LME).

	Coeficientes dos Efeitos Fixos (P)		
	β -voluntário	β -safra	β -interação
Colesterol Total	-27,886 (<0,001)	11,652 (<0,001)	Sem Interação
HDL	-4,293 (0,809)	3,880 (<0,001)	8,422 (<0,001)
LDL	-24,995 (<0,001)	5,556 (0,008)	Sem Interação
Log(Triglicerides)	0,246 (<0,001)	0,108 (<0,001)	-0,544 (<0,001)
Log(CPK)	0,044 (0,920)	0,416 (<0,001)	Sem Interação
Log(Fibrinogênio)	-0,081 (<0,001)	0,171 (<0,001)	Sem Interação
DHL	-7,044 (<0,001)	5,211 (<0,001)	16,492 (0,004)

HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; CPK: Creatina fosfoquinase; DHL: Desidrogenase láctica; Log: Transformação logarítmica; β -voluntário: coeficiente do efeito da variável independente “voluntário”; β -safra: coeficiente do efeito da variável independente “safra”; β -interação: coeficiente da interação “voluntário e safra”; LME: Modelo linear de efeitos mistos.

A análise multivariada confirmou a condição “ser um safrista”(β -voluntário) como associada a menores valores de colesterol, LDL e

fibrinogênio. O efeito da safra (β -safra) foi de elevação dos valores de todos os analitos, exceto dos triglicérides. Houve um efeito da safra diferente entre safristas e voluntários da população de referência (interação das duas variáveis) em relação a três exames: HDL e DHL (elevação maior entre os cortadores de cana) e triglicérides (diminuição na população de referência e aumento entre os safristas).

As atividades das enzimas antioxidantes glutathione S-transferase (GST), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase, assim como a concentração plasmática do malonaldeído (MDA) encontram-se apontados na tabela 10.

Notamos uma redução nos valores das atividades das enzimas antioxidantes em ambos os grupos, assim como uma elevação da concentração de malonaldeído. Essas alterações tiveram, em geral, maior magnitude entre os cortadores de cana.

Tabela 10. Malonaldeído e enzimas antioxidantes catalase, GST, GPX, GR e SOD na população de referência e safristas – Pré-safra e Safra, análise univariada.

	População de Referência (PR)			Cortadores de Cana (CC)			PR vs CC	
	PS (N=79)	S (N=73)	P*	PS (N=91)	S (N=78)	P*	PS	S
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		P	P
MDA (µM)	0,51 (0,43-0,61)	0,59 (0,50-0,66)	<0,001	0,4 (0,39-0,57)	0,59 (0,49-0,68)	<0,001	0,013	0,823
Catal (kU/g)	1,74 (1,54-2,03)	1,60 (1,41-1,80)	<0,001	1,90 (1,67-2,27)	1,31 (1,22-1,50)	<0,001	0,035	<0,001
GPx (U/g)	50,36 (39,30-60,27)	38,23 (30,58-49,1)	<0,001	64,43 (55,70-71,61)	39,34 (30,23-49,0)	<0,001	<0,001	0,949
GR (U/g)	6,25 (5,45-7,34)	5,77 (4,93-6,53)	0,017	7,14 (5,92-8,42)	4,71 (3,92-5,91)	<0,001	0,007	<0,001
GST (U/g)	2,97 (2,00-3,84)	2,70 (1,50-3,56)	0,090	3,52 (2,60-4,31)	1,89 (1,28-2,53)	<0,001	0,029	0,004
SOD (kU/g)	0,67 (0,40-0,97)	0,81 (0,57-1,10)	0,062	0,70 (0,48-0,95)	0,48 (0,25-0,70)	0,002	0,687	<0,001

PR: População de referência; S: Safristias; PS: Pré-safra; S: Safra; IQR: Intervalo interquartil; MDA: Malonaldeído; Catal.: Catalase; GPx: Glutaciona peroxidase; GR: Glutaciona redutase; GST: Glutaciona S-transferase; SOD: Superóxido dismutase; *: Valor de significância comparando os voluntários com dados completos em ambos os períodos.

Os resultados da dosagem sérica das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8, constam na tabela 11.

Tabela 11. Interleucinas 1, 2, 6 e 8 na população de referência e safristas – Pré-safra e Safra, análise univariada.

Valores	População de Referência (PR) (N=57)		P*	Cortadores de Cana (CC) (N=65)		P*	PR vs CC	
	Pré-Safra	Safra		Pré-Safra	Safra		Pré-Safra	Safra
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		(P)	(P)
IL-1 (µg/mL)	0,07 (0,01-0,24)	0,02 (0,01-0,14)	0,042	0,06 (0,01-0,26)	0,03 (0-0,12)	0,001	0,614	0,717
IL-2 (µg/mL)	0,44 (0,00-1,20)	0,4 (0-1,05)	0,959	0,35 (0,04-1,62)	0,22 (0,04-0,90)	0,013	0,339	0,881
IL-6 (µg/mL)	3,06 (0,91-11,12)	1,77 (0,87-3,29)	0,074	2,21 (1,25-9,34)	0,45 (0,16-1,31)	<0,001	0,641	<0,001
IL-8 (µg/mL)	11,89 (5,76-40,25)	5,61 (4,29-9,34)	0,001	13,76 (8,01-29,52)	5,13 (3,97-8,60)	<0,001	0,432	0,349

IL: Interleucina; IQR: Intervalo interquartil; *: Valor de significância comparando os voluntários com dados completos em ambos os períodos.

Verificou-se na população de referência uma redução na concentração de interleucina-1 e interleucina-8. Entre os safristas observou-se redução nos níveis dos quatro marcadores.

Os valores das dosagens das interleucinas, categorizados como acima e abaixo de suas medianas, foram analisados num modelo multivariado de equações de estimativas generalizadas (GEE) para a obtenção dos coeficientes dos efeitos das variáveis independentes “voluntário” (referência: população local), “safra” (referência: pré-safra) e polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTM1* (referência: genes selvagens) e expostos na tabela 12. Note-se que não houve interação da variável “voluntário” com as demais variáveis independentes modeladas.

Tabela 12. Análise multivariada (GEE), IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8.

IL-1	Coeficiente (β)	P	Odds-Ratio
Safra	0,128	0,610	-
Voluntário	-0,796	0,024	0,45
<i>GSTT1</i>	-0,067	0,856	-
<i>GSTM1</i>	-0,070	0,833	-
IL-2	Coeficiente (β)	P	Odds-Ratio
Safra	0,374	0,092	-
Voluntário	-0,422	0,260	-
<i>GSTT1</i>	-0,123	0,762	-
<i>GSTM1</i>	-0,355	0,299	-
IL-6	Coeficiente (β)	P	Odds-Ratio
Safra	0,194	0,418	-
Voluntário	-0,820	0,031	0,44
<i>GSTT1</i>	0,388	0,283	-
<i>GSTM1</i>	0,187	0,569	-
IL-8	Coeficiente (β)	P	Odds-Ratio
Safra	0,196	0,468	-
Voluntário	0,133	0,691	-
<i>GSTT1</i>	0,173	0,612	-
<i>GSTM1</i>	0,465	0,125	-

IL: Interleucina; *GSTT1*: Polimorfismo do gene da glutathione S-transferase Θ -1; *GSTM1*: Polimorfismo do gene da glutathione S-transferase μ -1.

Na tabela 13 são apresentados os dados de dosagem urinária do 1-hidroxipireno (1-OH-Pyr), marcador de exposição a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA).

Tabela 13. Concentração do 1-hidroxi pireno urinário nos voluntários da população de referência e cortadores de cana - Pré-safra e safra, análise univariada.

	População de Referência (PR)		Cortadores de Cana (CC)				PR vs CC	
	PS (N=107)	S (N=74)		PS (N=109)	S (N=95)		PS	S
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	P*	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	P*	P	P
1-OH-P (µg/g Cre)	0,086 (0,03-0,18)	0,073 (0,04-0,13)	0,564	0,19 (0,12-0,32)	2,58 (1,39-4,62)	<0,001	<0,001	<0,001

PR: População de referência; CC: Cortadores de cana; PS: Pré-safra; S: Safra; 1-OH-P: 1-hidroxi pireno; Cre: Creatinina urinária; IQR: Intervalo interquartil; *: Valor de significância comparando os voluntários com dados completos em ambos os períodos.

Na condição de base (pré-safra) os cortadores de cana exibiam dosagens de 1-OH-Pyr urinário maiores que os voluntários da população de referência. Evolutivamente, enquanto os moradores de Mendonça não apresentaram alteração, observou-se uma significativa elevação da dosagem do 1-OH-Pyr urinário nos safristas.

4.5. Função pulmonar

Os valores das espirometrias realizadas em 2009, no período pré-safra e na safra estão expostos na tabela 14.

Tabela 14. Espirometria, população de referência e safristas – Pré-safra e Safra, análise univariada.

	População de Referência (PR)		P	Cortadores de Cana (CC)		P	PR vs CC	
	Pré-Safra (N=109)	Safra (N=84)		Pré-Safra (N=113)	Safra		Pré Safra (N=97)	Safra
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		Mediana (IQR)	Mediana (IQR)		P	P
CVF (L)	4,99 (4,63-5,45)	5,08 (4,73-5,45)	0,222	5,00 (4,51-5,34)	4,91 (4,58-5,30)	0,015	0,098	0,12
CVF%	97,63 (90,50-103,45)	96,78 (91,37-103,41)	0,193	96,22 (90,40-103,42)	96,44 (90,02-102,39)	0,002	0,19	0,4
VEF₁ (L)	4,12 (3,79-4,47)	4,09 (3,76-4,42)	0,116	4,15 (3,78-4,52)	4,08 (3,77-4,33)	<0,001	0,715	0,667
VEF₁%	95,53 (90,59-100,44)	94,20 (87,86-100,20)	0,001	97,02 (88,78-103,16)	92,72 (86,80-99,25)	0,002	0,006	0,204
VEF₁/CVF	0,82 (0,78-0,86)	0,82 (0,78-0,85)	<0,001	0,84 (0,82-0,88)	0,82 (0,80-0,87)	0,003	0,001	0,094
VEF₁/CVF%	98,10 (92,85-102,04)	96,86 (93,75-100,96)	<0,001	98,61 (95,30-102,59)	96,30 (93,64-100,91)	0,004	0,025	0,447
FEF₂₅₋₇₅ (L/s)	5,15 (3,88-9,27)	4,24 (3,61-4,84)	<0,001	5,5 (4,36-8,28)	4,17 (3,58-4,95)	<0,001	0,903	0,42
FEF₂₅₋₇₅%, %	98,60 (78,37-182,91)	82,14 (67,88-94,07)	<0,001	96,49 (77,50-141,35)	73,57 (61,98-88,60)	<0,001	0,132	0,68

VEF₁: Volume expiratório forçado no primeiro segundo; VEF₁%: Volume expiratório forçado no primeiro segundo, expresso em porcentagem do predito; CVF: Capacidade Vital Forçada; CVF%: Capacidade Vital Forçada, expressa em porcentagem do predito; FEF₂₅₋₇₅%: Fluxo expiratório forçado no intervalo interquartil da CVF; FEF₂₅₋₇₅%, %: Fluxo expiratório forçado no intervalo interquartil da CVF, expresso em porcentagem do predito.

Comparando os grupos estudados na condição basal (período pré-safra), considerando somente as variáveis expressas em porcentagens dos preditos, observaram-se diferenças estatisticamente significativas em favor dos voluntários da população de referência para três delas (VEF₁/CVF%, CVF% e FEF₂₅₋₇₅%, %), enquanto nos cortadores de cana observou-se um valor de VEF₁% maior que nos moradores de Mendonça. Para o estudo

evolutivo, os dados foram avaliados através de modelo linear conforme descrito a seguir.

Os efeitos das variáveis independentes (coeficientes) “voluntário” (referência: população local), “safra” (referência: pré-safra), polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTM1* (referência: genes selvagens) e eventuais interações da variável “voluntário” com as demais foram estudados em modelo linear de efeitos mistos (LME), controlados para IMC e idade e descritos na tabela 15.

Tabela 15. Função Pulmonar, análise multivariada (LME).

Coeficientes dos efeitos fixos (P)							
	β - voluntário	β -safra	β - interação1	β - GSTT1	β - GSTM1	β - interação2	β - interação3
CVF%	-1,08 (0,443)	-0,46 (0,155)	Sem Interação	-2,28 (0,182)	-2,32 (0,584)	Sem Interação	-6,49 (0,023)
VEF₁%	0,70 (0,838)	-0,81 (<0,001)	-2,23 (<0,001)	-3,64 (0,032)	-0,75 (0,133)	Sem Interação	-6,08 (0,034)
VEF₁/CVF	0,01 (0,005)	-0,01 (<0,001)	Sem Interação	-0,01 (0,249)	-0,01 (0,441)	Sem Interação	Sem Interação
VEF₁/CVF%	1,45 (0,253)	-1,07 (<0,001)	-1,07 (0,017)	-1,67 (0,168)	-1,43 (0,164)	Sem Interação	Sem Interação
RQ(VEF₂₅₋₇₅%,%)	-0,46 (0,086)	-1,78 (<0,001)	Sem Interação	-0,42 (0,150)	-0,70 (0,004)	Sem Interação	Sem Interação

RQ: Transformação por raiz quadrada; “ β -voluntário”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “voluntário”; “ β -safra”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “safra”; “ β -interação1”: coeficiente do efeito fixo da interação “voluntário e safra”; “ β -GSTT1”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “Polimorfismo do gene *GSTT1*”; “ β -GSTM1”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “Polimorfismo do gene *GSTM1*”; “ β -interação2”: coeficiente do efeito fixo da interação “Polimorfismo do gene *GSTT1* e voluntário”; β -interação3”: coeficiente do efeito fixo da interação “Polimorfismo do gene *GSTM1* e voluntário”; LME: Modelo de efeitos mistos.

A análise multivariada apontou um efeito (coeficiente) negativo da safra sobre todas as variáveis espirométricas estudadas, exceto a CVF%. Esse

efeito foi mais acentuado nos cortadores de cana (interação das variáveis “safra” e “voluntário”) para o $VEF_1\%$ e o $VEF_1/CVF\%$. O efeito do polimorfismo de *GSTT1* foi de redução do $VEF_1\%$ de igual magnitude nos dois grupos, enquanto o polimorfismo da *GSTM1* foi de diminuição equivalente do $FEF_{25-75\%,\%}$ nas duas populações e redução do $VEF_1\%$ e $CVF\%$ apenas nos safristas (interação das variáveis “voluntário” e “polimorfismo de *GSTM1*”).

4.6. Variabilidade da Frequência Cardíaca e Pressão Arterial Sistêmica

Os dados colhidos no protocolo de exercício submáximo em esteira para análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e pressão arterial sistêmica (PAS) realizado em 2009 foram descartados devido à realização da espirometria com uso de broncodilatador beta-agonista imediatamente antes dos testes. Observaram-se, pelo efeito taquicardizante do salbutamol (utilizado para as manobras pós-broncodilatador da espirometria), valores elevados da frequência cardíaca dos voluntários mesmo durante o repouso.

Por limitação de tempo para nova coleta dos dados, foram recrutados metade dos voluntários durante a pré-safra (abril) e a safra (novembro) de 2010 (tabela 16).

Tabela 16. Variabilidade da Frequência Cardíaca e Pressão arterial sistêmica em repouso e exercício – População de referência e safristas, análise univariada.

	População de Referência (PR)			Cortadores de Cana (CC)			CPR vs CC	
	PS (N=41)	S (N=49)	P*	PS (N=43)	S (N=41)	P*	PS (P)	S (P)
SDNNrep(ms)	46,46	35,54	0,004	57,49	45,56	<0,001	0,002	0,011
Mediana (IQR)	(32,92-58,8)	(29,42-50,0)		(46,17-78,29)	(36,72-62,52)			
rMSSDrep (ms)	24,95	25,4	0,965	41,6	22,81	<0,001	<0,001	0,43
Mediana (IQR)	(17,96-36,0)	(18,24-40,2)		(29,22-65,60)	(16,62-36,94)			
LF/HFrep	5,48	4,91	0,195	4,12	5,68	0,909	0,139	0,135
Mediana (IQR)	(4,22-7,60)	(2,61-6,71)		(2,12-8,11)	(3,69-7,97)			
PSrep (mmHg)	133,88	129,66	0,773	129,81	130,68	0,536	0,187	0,549
Média±DP	±15,28	±23,54		±13,39	±12,05			
PDrep(mmHg)	80,57	81,39	0,165	65,03	71,15	0,001	<0,001	<0,001
Média±DP	±12,8	±16,41		±10,69	±10,54			
SDNNex (ms)	7,61	7,31	0,944	6,4	5,95	0,267	0,036	0,002
Mediana (IQR)	(6,03-9,62)	(6,32-8,90)		(5,05-8,48)	(5,09-7,53)			
RMSSDex (ms)	4,58	4,73	0,507	4,88	4,66	0,318	0,532	0,932
Mediana (IQR)	(3,96-5,44)	(3,68-5,54)		(4,13-5,98)	(3,75-5,94)			
LF/HFex	5,39	5,35	0,581	6,86	7,63	0,265	0,052	0,017
Mediana (IQR)	(3,33-7,38)	(3,31-9,41)		(4,63-9,63)	(4,76-13,56)			
PASex (mmHg)	135,25	129,24	0,040	136,79	131,99	0,137	0,582	0,737
Média±DP	±12,04	±23,97		±13,93	±13,88			
PADex (mmHg)	83,31	77,04	0,015	71,66	73,47	0,064	<0,001	0,037
Média±DP	±9,19	±16,55		±11,00	±8,54			

PR: População de referência; CC: Cortadores de cana; PS: Pré-safra; S: Safra; Rep: repouso; Ex: exercício; SDNN: Desvio padrão dos intervalos RR normais; rMSSD: Raiz quadrada da média das diferenças ao quadrado dos intervalos RR normais sucessivos; LF: componente de baixa frequência da VFC; HF: componente de alta frequência da VFC; LF/HF: Razão absoluta de LF:HF (normalizados); PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; IQR: Intervalo interquartil; DP: Desvio-padrão.

Os efeitos das variáveis independentes (coeficientes) “voluntário” (referência: população local), “safra” (referência: pré-safra) e eventuais interações da variável “voluntário” com as demais foram estudados em modelo linear de efeitos mistos (LME), controlados para IMC e idade e descritos na tabela 17.

Tabela 17. Variabilidade da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica – Análise multivariada (LME).

Coefficientes dos efeitos fixos			
	β-voluntário (P)	β-safra (P)	β-interação (P)
SDNNrep	7,50 (<0,001)	-10,71 (<0,001)	Sem interação
Log(rMSSD)rep	0,385 (0,002)	0,025 (0,002)	-0,520 (0,001)
Log(LF/HF)rep	0,080 (0,541)	-0,019 (0,953)	Sem interação
PASrep	-1,193 (0,369)	-0,788 (0,852)	Sem interação
PADrep	-8,827 (<0,001)	3,853 (<0,001)	Sem interação
Log(SDNN)ex	-0,168 (0,008)	-0,037 (0,414)	Sem interação
1/(rMSSD)ex	0,001 (0,878)	0,017 (0,084)	Sem interação
-1/Log(LF/HF)ex	-13,643 (0,337)	0,073 (0,213)	Sem interação
PASex	0,614 (0,691)	-4,284 (0,017)	Sem interação
PADex	-6,976 (<0,001)	-4,872 (0,318)	6,043 (0,017)

Rep: Repouso; Ex: exercício; SDNN: Desvio padrão dos intervalos RR normais; rMSSD: Raiz quadrada da média das diferenças ao quadrado dos intervalos RR normais sucessivos; LF: componente de baixa frequência da VFC; HF: componente de alta frequência da VFC; LF/HF: Razão absoluta de LF:HF (normalizados); PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; Log: Transformação logarítmica; “ β -voluntário”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “voluntário”; “ β -safra”: coeficiente do efeito fixo da variável independente “safra”; “ β -interação”: coeficiente da interação “safra e voluntário”; LME: Modelo de efeitos mistos.

A análise multivariada apontou redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) na safra entre os safristas e dados inconclusivos na

população de referência (coeficientes do efeito “safra” discordantes entre SDNN e rMSSD). Quanto a pressão arterial, na safra houve um comportamento assimétrico dos dois grupos demonstrado pelo coeficiente negativo da safra sobre a pressão arterial em exercício entre os voluntários da população local e interação “safra/voluntário” de efeito positivo (aumento) entre os safristas.

4.7. Caracterização ambiental de material particulado, temperatura e umidade relativa do ar

As medidas da concentração atmosférica de $PM_{2.5}$, da umidade relativa do ar e das temperaturas médias durante os dias da pré-safra e safra estão sumarizadas na tabela 18. Note-se que devido a não haver queimada no período pré-safra, as medidas de concentração de $PM_{2.5}$ foram realizadas nesses meses apenas na área urbana do município.

Tabela 18. Temperatura, umidade relativa do ar e concentração média de $PM_{2.5}$ na área urbana de Mendonça e nos canaviais, pré-safra e safra (2009).

	Cidade			Canavial	Cidade vs Canavial
	Safra	Pré-Safra	P	Safra	Safra (P)
$PM_{2.5}$ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) Mediana (IQR)	23,50 (11,25-39,00)	8,00 (5,00-13,00)	<0,001	61,00 (41,25-86,75)	<0,001
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) Média \pm DP	25,83 \pm 3,26	NA	NV	28,12 \pm 5,73	<0,001
UR (%) Média \pm DP	67,14 \pm 11,48	NA	NV	71,87 \pm 8,94	<0,001

$PM_{2.5}$: Material particulado com diâmetro aerodinâmico inferior a $2,5\mu\text{m}$; UR: Umidade relativa do ar; IQR: Intervalo interquartil; DP: Desvio padrão; NV: Não verificado,

Registrou-se, na safra, temperaturas significativamente maiores nos canaviais ($28,12 \pm 5,73$ vs $25,83 \pm 3,26$) que na área urbana de Mendonça. Durante a safra, a concentração de $PM_{2.5}$ elevou-se na cidade para cerca do quádruplo do valor medido na pré-safra. No canavial a elevação foi da ordem de cerca de 7 vezes.

5. DISCUSSÃO

Este estudo apresenta uma abordagem exploratória na investigação do complexo conjunto de fatores ambientais, laborais e individuais que podem subjazer ao desenvolvimento de processos mórbidos nas populações estudadas. Até o momento, existem poucos estudos que investigaram os efeitos da exposição à poluição de queima de biomassa^{38, 81, 82} das plantações de cana, especificamente entre os trabalhadores do setor sucroalcooleiro, que emprega centenas de milhares de trabalhadores no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento.

Como já apontado, há poucas pesquisas sobre os níveis de poluentes atmosféricos nas plantações de cana em que se realiza a queima, assim como acerca de seu impacto sobre a saúde das populações das cidades vizinhas^{83, 84, 34}.

Os efeitos da exposição à poluição do ar parecem afetar mais claramente algumas subpopulações^{42, 85, 86, 87} de aumentada suscetibilidade intrínseca, como diabéticos, cardiopatas e portadores de doenças respiratórias como a doença pulmonar obstrutiva crônica e a asma. O presente estudo, diferentemente, avaliou duas amostras de indivíduos de populações saudáveis, com menor risco de manifestações dos efeitos agudos, subagudos ou crônicos desta exposição.

A Exposição Ambiental

As concentrações de PM_{2.5} registradas durante a safra foram bastante superiores aos níveis recomendados pela Organização Mundial de Saúde⁸⁸ (tabela 19). Nos canaviais, onde a mediana da concentração diária de PM_{2.5} foi 61µg/m³, a exposição diária dos trabalhadores superou em 2,5 vezes os limites recomendados para exposição aguda. Ela é potencialmente mais agravada pelo fato de que o trabalho físico realizado exige uma alta taxa ventilatória durante pelo menos sete horas e meia por dia, durante seis dias por semana. Na área urbana de Mendonça, a mediana da concentração diária de PM_{2.5} foi de 23,5 mg/m³, mais de duas vezes o limite de exposição crônica e muito perto do máximo recomendado para exposições agudas. Isso explica o fato de que, mesmo separadas das fontes emissoras por vários quilômetros, as populações das cidades próximas às plantações de cana estão também expostas aos efeitos da poluição ambiental proveniente da queima de biomassa.

Tabela 19. Limites de tolerância de exposição. Recomendações CONAMA⁸⁹ (Brasil) e OMS.

Poluente	Principais Fontes Geradoras	Limites de Tolerância	
		Brasil*	OMS***
Material Particulado (PM)	Veículos automotores,		PM ₁₀ (M24h): 50 µg/m ³ ;
	indústrias, queima de	PM ₁₀ (M24h**): 150 µg/m ³ ;	PM ₁₀ (MAA): 20 µg/m ³ ;
	biomassa, reações	PM ₁₀ (MAA): 50 µg/m ³ .	PM _{2.5} (M24h): 25 µg/m ³ ;
	fotoquímicas		PM _{2.5} (MAA): 10 µg/m ³ .

PM: Material particulado; PM₁₀: Material particulado com diâmetro aerodinâmico inferior a 10µm; PM_{2.5}: Material particulado com diâmetro aerodinâmico inferior a 2,5µm; M24h: Maior média diária de 24 horas; MAA: Média aritmética anual; *: Resolução CONAMA No 03/90; **: Não deve ser excedido mais que uma vez por ano; ***: Organização Mundial da Saúde, 2006.

Hidroxi pireno, Biomarcador de exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

O 1-hidroxi pireno (1-OH-Pyr) é um derivado hidroxilado do pireno bastante utilizado como biomarcador da exposição a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) originados da queima de biomassa. Sua validade como biomarcador resulta de sua representatividade (o pireno é um dos HPA mais abundantes na poluição resultante da queima de biomassa e de combustíveis fósseis), e extensa validação dos métodos de medição, o que faz dele o biomarcador de escolha para exposição individual a HPA segundo diversos autores⁹⁰. Sua meia-vida entre 4 e 48 horas o torna um marcador bastante sensível às variações diárias na exposição⁹¹, mas torna o intervalo da exposição à coleta um fator crítico na sensibilidade do método e na reprodutividade dos resultados com estudos de diferentes metodologias.

Nas populações avaliadas no presente estudo, as coletas foram realizadas em amostra de urina matinal no período pré-safra e ao final do dia (no término da jornada de trabalho, no caso dos cortadores de cana) no período da safra.

A diferença observada entre os dois grupos na pré-safra (concentração urinária de 1-OH-Pyr maior entre os cortadores de cana) pode ser explicada por diferença na prevalência de polimorfismos dos genes do metabolismo dos HPA, dada a origem geográfica e distribuição étnica distinta das duas populações ou por interferência de outros fatores de confusão não testados, como eventual diferença na exposição à poluição tabágica ambiental (tabagismo passivo), diferentes composições de dieta, e

diferentes perfis de co-excreção biliar do 1-OH-Pyr, vieses não pesquisados no presente estudo.

Como a exposição a HPA depende de diversos fatores^{92, 9}, como dieta, poluição ambiental e tabagismo (ativo e passivo), e como a concentração urinária de 1-hidroxi-pireno também sofre influência de algumas variáveis^{93, 94, 95, 96} como o metabolismo dos HPA, o ritmo de filtração glomerular, a co-excreção biliar do 1-OH-Pyr, entre outros, compreende-se a dificuldade de se estabelecer um valor de corte considerado como limite superior da normalidade, diferentemente das exposições a poluentes ambientais.

Estudos diversos com populações adultas saudáveis sem exposição ocupacional relevante realizados na América do Norte⁹⁷, Europa^{98, 99}, Ásia⁹² e Brasil¹⁰⁰ mostraram medianas de concentração urinária de 1-hidroxi-pireno entre 0,02 e 1,74 µg/g de creatinina, o que contextualiza os presentes achados dentro de uma faixa de variação comum.

O achado de elevação (2,58 µg/g de creatinina, mais de 12 vezes superior aos valores pré-safra) das concentrações urinárias de 1-hidroxi-pireno observado entre os cortadores de cana durante a safra, confirma a hipótese de exposição aguda ocupacional aos HPA e pode fundamentar o nexó fisiopatológico entre exposição e eventuais efeitos orgânicos medidos.

Comparando essa concentração de 1-hidroxi-pireno aumentada na safra (evidenciada apenas entre os cortadores de cana) a outros estudos em que se dosou esse biomarcador em indivíduos saudáveis com exposição

ocupacional, os valores encontrados foram superiores aos descritos em trabalhadores de plataforma de petróleo¹⁰¹, bombeiros¹⁰², aplicadores de asfalto¹⁰³ e também superiores aos encontrados em estudo brasileiro prévio com cortadores de cana⁹. Valores superiores aos demonstrados no presente estudo foram descritos por Campo¹⁰⁴ em trabalhadores de coqueria de uma siderúrgica na Polônia.

Stress oxidativo

Na investigação laboratorial de marcadores de *stress* oxidativo, o principal achado do estudo foi de atividade mais baixa das enzimas antioxidantes pesquisadas em ambos os grupos durante a safra, especialmente mais evidente entre os cortadores. A exposição a material particulado está relacionada à inflamação através da geração de espécies reativas de oxigênio¹⁰⁵. Normalmente, num estado de *stress* oxidativo, a disfunção celular e o dano tecidual desencadeiam aumento na síntese de enzimas antioxidantes através da ativação de fator nuclear eritróide p45-relacionado tipo 2 (Nrf2), um fator de transcrição redox-sensível, que ativa a transcrição dos genes de enzimas antioxidantes¹⁰⁶. A insuficiência na inativação das espécies reativas leva à amplificação do dano oxidativo-inflamatório e à ativação de cascatas de sinalização intracelulares adicionais que regulam a transcrição de genes de citocinas inflamatórias e quimiotáticas. Estes produtos são sintetizados localmente, nos tecidos-alvo, e sistemicamente, pela amplificação da resposta, caracterizando um estado pró-inflamatório generalizado¹⁰⁷.

Embora grande atenção tenha sido dirigida para a compreensão dos processos de resposta Nrf2-induzidos (e, portanto, sua ativação), a sua supressão é muito menos compreendida. Uma hipótese que pode fornecer uma explicação para este embotamento na atividade antioxidante é que alguns componentes da poluição do ar como metais de transição poderiam bloquear mediadores das vias de transcrição Nrf2-dependentes, qual o fazem diretamente à algumas enzimas antioxidantes, como postulado por Hatzis¹⁰⁸. Outros possíveis mecanismos fisiopatológicos para explicar esse fenômeno poderiam ser alterações epigenéticas - nos genes das enzimas ou dos fatores de transcrição - induzidas por efeito genotóxico direto de poluentes, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA), negro de fumo e gases ou metabólicos dos HPA, como aldeídos alquilantes e nitrosaminas^{109, 110}. Constituintes dos poluentes ambientais podem deflagrar diferentes padrões de alterações epigenéticas. A metilação do DNA, que ocorre na posição C-5 da citosina, é a modificação epigenética mais estável em genomas de mamíferos e é fundamental no desenvolvimento e metabolismo normais, controle de proliferação celular e manutenção da estabilidade genômica. Padrões anormais de hipermetilação do DNA são frequentemente encontrados tecidos neoplásicos e após exposição a agentes genotóxicos, e podem propagar-se em novas gerações celulares¹¹¹. Outras alterações epigenéticas descritas como desencadeadas por xenobióticos ambientais são desequilíbrios no regime de acetilação e deacetilação de histonas, que podendo também alterar a expressão de

diversos genes, como os de fatores de transcrição e genes das enzimas antioxidantes.

Em concordância com a redução da atividade das enzimas antioxidantes observada nos dois grupos durante a safra, notamos o significativo aumento na concentração plasmática de malonaldeído (MDA), um dialdeído derivado da peroxidação de fosfolipídios de membranas, e, portanto, um marcador de *stress* oxidativo.

Marcadores sanguíneos de resposta inflamatória

Os resultados das pesquisas dos biomarcadores da resposta inflamatória (fibrinogênio e interleucinas 1, 4, 6 e 8) foram conflitantes; enquanto observou-se na safra um aumento similar dos níveis de fibrinogênio plasmático em ambas as populações, confirmando achados de Rükerl e cols¹¹², em relação à dosagem das interleucinas não houve uma conclusão semelhante, visto que a redução observada na análise univariada não foi confirmada através do modelo multivariado. Esse achado de ausência de relação entre os níveis plasmáticos de interleucinas proinflamatórias e a exposição à poluição já foi relatado por Brook¹¹³, em 2009.

Os achados de níveis elevados de creatina quinase (CPK) e lactato desidrogenase (DHL) nos cortadores de cana durante a safra podem sinalizar lesão muscular causada pelo trabalho extenuante. Estudos anteriores demonstraram altos níveis de CPK e DHL em atletas após atividade física intensa e trabalhadores sujeitos a um grande esforço físico por períodos prolongados^{15, 114}. Essas enzimas são biomarcadores de

disfunção e morte celular, especialmente de miócitos, e podem sinalizar, neste contexto, lesão muscular aguda ou repetida, embora não possamos desconsiderar a possibilidade de que estes achados laboratoriais foram devido a desvios dos limites normais, sem significado patológico^{115, 116}.

Função Pulmonar

Sobre as alterações espirométricas, a redução observada durante a safra em ambos os grupos, mesmo dentro dos limites da normalidade e, portanto, sem significado clínico, podem indicar mudanças incipientes atribuíveis aos efeitos da exposição aos poluentes ambientais.

A diminuição do $FEF_{25-75\%}$, embora de pequena magnitude, pode indicar o desenvolvimento de distúrbios ventilatórios obstrutivos iniciais, como proposto por vários estudos^{117, 118, 119}.

Vale ressaltar que o grupo de cortadores da cana tinha valores espirométricos proporcionalmente mais elevados que os voluntários da população de referência durante o período pré-safra, diferença que não mais se repetiu durante a colheita, o que suporta a hipótese de que essa maior magnitude de efeito (redução de fluxos expiratórios) nos safristas pode se dever à maior exposição dos mesmos à poluição da queima de biomassa e, portanto, a seus efeitos. Esses achados foram corroborados nos modelos multivariados de efeitos mistos, que não apenas demonstraram o efeito negativo da safra, como também a interação das variáveis “safra” e “voluntário”, confirmando que esse efeito (piora da função pulmonar) foi mais pronunciado nos safristas que entre os voluntários. Além disso, também demonstramos a maior suscetibilidade à perda de função pulmonar entre os

indivíduos portadores do polimorfismo dos genes *GSTT1* e *GSTM1*, confirmando achados já previamente descritos por Imboden e colaboradores¹²⁰ em 2007 e, antes, por Lee et al¹²¹, em 2004.

Variabilidade da Frequência Cardíaca e Pressão Arterial Sistêmica

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca nas populações estudadas evidenciou achados divergentes nos dois grupos.

Em relação à condição de base (pré-safra), notamos que é mais ampla a dispersão dos intervalos RR nos safristas (valores mais altos de SDNN e rMSSD), o que se confirmou quando avaliamos os impactos das variáveis independentes no modelo de efeitos mistos controlado para idade e IMC, potenciais variáveis de confusão. Isso pode ser explicado pelo provável melhor condicionamento físico dos indivíduos desse grupo, quer seja por prática mais frequente de atividade física, quer pela natureza braçal dos trabalhos que executam.

Na safra, diferentemente, os cortadores de cana exibiram uma queda da variabilidade da frequência cardíaca, novamente expressa por suas variáveis do domínio do tempo (SDNN e rMSSD), fato não observado entre os voluntários da população de referência, nos quais a discordância no comportamento do SDNN e rMSSD, representações estatísticas do mesmo fenômeno biológico, não nos permite inferir um efeito “resultante”.

A queda da VFC entre os cortadores de cana nos remete a uma perturbação da modulação autonômica da frequência cardíaca nesse grupo, um possível efeito da exposição à poluição já descrito por diversos

estudos^{122, 123, 124, 125}. Tal efeito deletério da poluição demonstrou prevalecer sobre o esperado benefício da atividade física sobre a interação do sistema nervoso autônomo e aparelho cardiovascular. Ao mesmo tempo que o corte da cana se constitui num potencial “treinamento”, a elevada demanda ventilatória que ele impõe potencializa a exposição aos poluentes inaláveis.

O fato de a redução da VFC ter sido observada mais de 12 horas (e em alguns casos quase 24 horas) após o término da jornada de trabalho aponta que os efeitos deletérios da exposição repetida aos poluentes da queima da cana não são efêmeros, e pode significar um aumento do risco para eventos cardiovasculares nessa população.

A percepção de alterações apenas na fase de repouso do protocolo de aquisição de dados de variabilidade da frequência cardíaca pode ser explicada pelo aumento da razão ruído/sinal do método durante a corrida, ao qual particularmente as variáveis de análise espectral (domínio da frequência) são bastante sensíveis¹²⁶.

A escolha por utilizar cardiofrequencímetros portáteis no lugar de monitores de Holter-ECG clássicos justificou-se por seu baixo custo, facilidade de instalação e manejo (não demandando eletrodos ou cabos, apenas uma cinta torácica) e a já documentada validação desses dispositivos em estudos prévios^{127, 128, 129, 130, 131}.

A comparação dos valores de pressão arterial (PA) nos dois grupos demonstrou que na condição inicial (pré-safra) os cortadores de cana tinham valores mais baixos da PA mesmo quando na análise multivariada foram

modelados os efeitos da idade e IMC como fatores de ajuste. Na safra, notamos uma elevação da pressão arterial diastólica durante o exercício apenas entre os cortadores de cana. Esse fenômeno pode sugerir um efeito da exposição crônica à poluição ambiental no controle autonômico da PA.

Estudos experimentais e epidemiológicos têm mostrado uma ligação entre a exposição a poluentes do ar e pressão arterial mais elevada^{132, 133, 113} e o fundamento fisiopatológico desse evento parece envolver o *stress* oxidativo e inflamação pulmonares, induzindo disfunção endotelial e desequilíbrio do sistema nervoso autônomo através da estimulação de receptores intrapulmonares. Outra possibilidade aventada envolve a passagem direta de partículas ultrafinas para a circulação sistêmica, onde podem induzir inflamação e dano oxidativo direto, levando finalmente à disfunção vascular^{134, 135, 134}.

Em suma, esta pesquisa demonstra que os trabalhadores estão expostos a uma complexa interação de trabalho exaustivo, o *stress* por calor e poluição ambiental. O estado de *stress* oxidativo evidenciado pelo embotamento dos sistemas antioxidantes enzimáticos e a elevação de um biomarcador de peroxidação de fosfolípidos pode ser a possível ligação entre os achados cardiopulmonares e a exposição à poluição da queima de biomassa.

Limitações

Uma limitação do presente estudo é a inclusão apenas de indivíduos saudáveis. Assim como esperado, até certo ponto, as alterações encontradas foram de pequena magnitude. Quanto à caracterização dos

voluntários, também não podemos desconsiderar o "efeito do trabalhador sadio"¹³⁶ como um viés na nossa amostra, uma vez que, especialmente entre os cortadores de cana, há uma tendência natural de apenas aqueles indivíduos fisicamente mais aptos tendam a permanecer nesta atividade. Como resultado, aumentos reais em morbidade e mortalidade atribuíveis a exposições nocivas no trabalho podem ser total ou parcialmente mascarados.

As diferenças na prevalência de polimorfismo dos genes *GSTM1* e *GSTT1* nas duas populações avaliadas em nosso estudo refletem as suas diferentes origens étnicas (migrantes do nordeste em relação à população local do sudeste), uma característica típica da miscigenação que compõe a população brasileira^{137, 138}. Essa diferença intrínseca interfere diretamente na susceptibilidade dos indivíduos de cada grupo aos potenciais efeitos orgânicos das exposições estudadas.

Embora a principal isoenzima GST encontrada no território pulmonar seja a glutathione S-transferase $\pi 1$ ¹³⁷ (GSTP1), no presente estudo, pudemos até o presente apenas avaliar os polimorfismos de *GSTM1* e *GSTT1*.

Outra limitação do nosso estudo é o fato de que as avaliações (à exceção da coleta de urina para dosagem do 1-hidroxipireno) foram realizadas no dia seguinte a um dia de trabalho, normalmente um domingo, cerca de 14 a 20 horas após a jornada, o que pode diminuir a sensibilidade dos métodos diagnósticos empregados para detectar eventuais alterações agudas desencadeada pela exposição à poluição ambiental.

Apesar das diferenças estatisticamente significativas entre os valores encontrados na pré-safra e safra não terem (em função de sua magnitude) necessariamente um significado clínico por si, elas podem sinalizar o desenvolvimento de processos pré-clínicos incipientes. Em indivíduos suscetíveis, os efeitos observados poderiam se associar à morbimortalidade.

O grande número de variáveis analisadas em relação ao número de indivíduos avaliados aumenta a chance de obter resultados aleatórios, mesmo quando adequados métodos de análise estatística são utilizados.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstra o impacto da queima da cana-de- açúcar durante a safra na concentração atmosférica de poluentes e comprova seus efeitos nas populações afetadas (cortadores de cana e habitantes do município de Mendonça) através de:

- ✓ Elevação de um marcador biológico da exposição;
- ✓ Elevação de um marcador de estresse oxidativo;
- ✓ Embotamento da resposta antioxidante;
- ✓ Redução da função pulmonar;
- ✓ Redução da variabilidade da frequência cardíaca (apenas entre os cortadores de cana).

7. ANEXOS

7.1. ANEXO A. Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.



SDC 3261/09/012

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 15/04/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0282/09**, intitulado: "**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS DA EXPANSÃO SUCROALCOOLEIRA NA SAÚDE DOS TRABALHADORES E DA POPULAÇÃO AFETADA.**" apresentado pela **COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Ubiratan de Paula Santos**

CAPPesq, 16 de Abril de 2009

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

COMISSÃO CIENTÍFICA
 RECEBIDO

15/04/09
 Elaine

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

7.2. Anexo B. Termo de Consentimento livre e esclarecido (TCLE)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Para cortadores de cana e controles) DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO.M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRO:.....CIDADE:.....

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE:.....

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Avaliação dos impactos da expansão
sucroalcooleira na saúde dos trabalhadores e da população afetada"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ubiratan de Paula Santos

CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 34379.

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto do Coração

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: Março de 2009 a Dezembro de 2010

1. Tem sido relatada a ocorrência de óbitos em cortadores de cana-de-açúcar, mas suas causas não estão esclarecidas. O trabalho no corte de cana é reconhecidamente pesado, os trabalhadores cortam, em média, 7 a 14 toneladas por dia. A queima da cana libera poluentes que podem ser inalados pelos trabalhadores e moradores da região. No cultivo da cana também são empregados agrotóxicos e a temperatura a que estão submetidos os trabalhadores, na maior parte do período de corte, é muito alta, chegando até 35-40°C. Existem poucas pesquisas avaliando os efeitos na saúde em trabalhadores envolvidos diretamente no corte de cana queimada.

O objetivo desta pesquisa é avaliar os efeitos da queima da cana-de-açúcar e do trabalho no corte da cana queimada, na saúde dos trabalhadores cortadores de cana e da população que mora em cidades próximas às áreas onde a queima e o corte de cana são realizados.

Para isto serão avaliados, duas vezes durante um ano, 100 cortadores de cana e 100 trabalhadores da cidade, que não trabalham no corte de cana, com idade parecida com a dos

cortadores, que referem não terem doenças e nem fumar. Cada um será avaliado uma vez entre os meses de março e abril, ou seja, antes de iniciar a safra de corte de cana, e novamente entre os meses de outubro e novembro, ao final da safra.

Crianças e jovens matriculados no ensino fundamental e moradores da cidade com mais de 60 anos serão avaliados para sabermos os efeitos da poluição que chega na cidade.

2. Você está sendo convidado a responder o questionário que eu estou lhe mostrando sobre seus hábitos e condições de saúde, a ser examinado por um médico e passar por diversos exames, tanto agora como novamente entre os meses de outubro e novembro. Os exames aos quais você deverá se submeter são: **1)** Exame de sangue. O sangue retirado será analisado em laboratórios, para sabermos se ocorreu alguma alteração provocada pelo seu trabalho; **2)** Exame de urina para avaliar se existe alguma inflamação provocada pelo trabalho que pode ser encontrada na urina; **3)** Exame para avaliação da função do seu pulmão, irá medir quanto de ar entra e sai do seu pulmão e com que rapidez; **4)** Exame para avaliação dos batimentos dos pelos do nariz e se existe inflamação da mucosa (“pele” interna) do nariz; **5)** medida da pulsação e da taxa de oxigênio de seu sangue, durante a realização de exercício, para sabermos se eles se alteram com o trabalho; **6)** medida dos batimentos do coração, através de equipamento chamado frequencímetro. Este exame tem como objetivo saber o quanto os batimentos do coração variam ajudando saber se o ritmo do seu coração está sendo influenciado pelo trabalho. **7)** Exame oftalmológico: seus olhos serão avaliados por um especialista, com microscópio especial e será colocado um pequeno papel de filtro por 5 minutos na borda dos olhos para medir sua lágrima. Além disso, será pingado um colírio e encostado um pequeno pedacinho de papel na parte branca dos olhos (conjuntiva) por alguns segundos para colher algumas células.

Todos estes testes serão realizados com o objetivo de trazer informações para esclarecer se existem alterações no seu organismo durante o período da safra e fora dela, que possam explicar as doenças e mortes que tem sido relatadas e também para ajudar na sugestão de exames médicos para melhor preservar a saúde dos trabalhadores envolvidos no corte de cana.

3. Os exames que explicamos serão realizados duas vezes, antes do início da safra e no final safra.

a) Para **coleta de sangue** será feito uma punção em uma veia do braço, com uma agulha esterilizada e descartável; não existe nenhum risco à sua saúde, exceto uma pequena dor da picada da agulha.

Serão retirados 50 mililitros (cerca de 50 gramas) de sangue de uma veia de seu braço através de uma seringa descartável. Esta quantidade é muito pequena, não causando nenhum problema para sua saúde, e o seu organismo repõe esta quantidade rapidamente; **b)** Para **exame de urina** você deverá urinar em um pote de plástico que lhe será fornecido; **c)** Para **avaliar a função do seu pulmão** será pedido que você encha o peito de ar e sopra em um aparelho chamado espirômetro que vai medir quanto de ar entra e sai do seu pulmão e com que rapidez; **d)** Para **avaliação dos batimentos dos pelos do nariz** e se existe inflamação da mucosa (“pele” interna) do nariz será colocada um gota de açúcar no seu nariz e contado o tempo que você demora a sentir o gosto e depois colocado 3,5 ml (3,5 gramas) de soro fisiológico em cada narina, com uso de uma seringa e, após 10 segundos, será pedido que abaixe a cabeça para o soro junto com catarro sair do nariz. O exame é desconfortável, mas não tem nenhum risco para sua saúde; **e)** Para **medir o seu pulso e a oxigenação de seu sangue** durante a realização de exercício será pedido que você ande em um corredor com 10 metros de comprimento, aumentando a rapidez de tempo em tempo, parando quando se cansar. No início e no fim da caminhada serão medidos com um aparelho colocado num dos dedos da mão, o seu pulso, a taxa de oxigênio, e será perguntado o quanto ficou cansado; **f)** Para **a medida dos batimentos do coração** um equipamento chamado frequencímetro será colocado em volta do peito. Você ficará com ele durante 20 minutos, sendo 5 minutos parado, 10 minutos andando e depois mais 5 minutos parado; **g)** Para o exame dos seus olhos um médico especialista usará um microscópio especial e colocará um pequeno papel de filtro por 5 minutos na borda dos olhos para medir sua lágrima. Além disso, será pingado um colírio e encostado um pequeno pedacinho de papel na parte branca dos olhos (conjuntiva) por alguns segundos para colher algumas células. Estes exames podem dar algum desconforto, como a sensação de irritação ou de areia nos olhos, vermelhidão e produção de lágrimas. Para diminuir esse incômodo você receberá colírios para usar durante alguns dias.

5 – Se for detectado alguma alteração que necessite tratamento você será informado e encaminhado para consulta e acompanhamento no Centro de Saúde da Prefeitura de Mendonça. Os dados da pesquisa

Anexo C

7.3. Fichas Clínicas e questionários

7.3.1. Questionário Geral.

Projeto: Avaliação dos impactos da expansão sucroalcooleira na saúde dos trabalhadores e da população afetada.

Número de identificação:.....

I. Informações gerais

1. Nome:

2. Idade:..... Sexo: Masculino (), Feminino ()

3. Endereço onde você mora (Rua/AV e bairro):

.....

4. Você: nunca fumou 0(), fuma atualmente 1(), já fumou, mas parou de fumar 2()

5. Se você fuma; quantos cigarros/dia:..... e começou a fumar com que idade:..... anos

6. Se for ex-fumante, parou há quanto tempo?..... e fumava quantos cigarros/dia:..... e fumou durante quanto tempo?.....

7. Você mora com pessoas que fumam?

Não 0() Sim 1(), se sim, quantas?..... e há quanto tempo?.....

8. Você teve asma ou bronquite asmática quando era criança?

Não 0(), Sim 1()

II. Responda as questões a seguir

Para responder a estas questões, por favor, escolha a resposta apropriada e se você não estiver com certeza, por favor, responda "não".

9.. *Você teve sibilos ou chiado no peito alguma vez nos últimos 12 meses?*

Não 0(), Sim 1()

Se respondeu Sim, passe para a pergunta 9.1. Se respondeu Não, vá para a pergunta 10

9.1. *Sempre que você teve sibilos ou chiado, também sentiu falta de ar?*

Não 0(), Sim 1()

9.2. *Você teve chiado e sibilos (chiado no peito) mesmo quando não estava resfriado?*

Não 0(), Sim 1()

10. *Você acordou com a sensação de aperto ou opressão no peito alguma vez nos últimos 12 meses?*

Não 0(), Sim 1()

11. *Você acordou com crise de falta de ar, alguma vez, nos últimos 12 meses?*

Não 0(), Sim 1()

12. *Você acordou crise de tosse, alguma vez, nos últimos 12 meses?*

Não 0(), Sim 1()

13. Você teve alguma crise de asma nos últimos 12 meses?

Não 0(), Sim 1()

14. Atualmente você está usando algum medicamento para asma (incluindo inalações, bombinhas ou comprimidos)?

Não 0(), Sim 1()

15. Você tem alguma alergia no nariz incluindo rinite alérgica a flores?

Não 0(), Sim 1()

16. Você teve tosse por pelo menos 3 meses, por ano, nos últimos 2 anos?

Não 0() Sim 1()

17. Você teve catarro por pelo menos 3 meses, por ano, nos últimos 2 anos?

Não 0() Sim 1()

18. Qual é a sua data de nascimento?/...../.....

24. Que dia é hoje?/...../.....

25. Seu sexo é: masculino 1(), ou feminino 2()?

Ficha Médica Individual - Protocolo Cana - de - açúcar
Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 44, andar AB, Cerqueira César, São Paulo, SP, Tel: 011-30695034/5191

1ª avaliação:/...../.....

Cortador 1 (), Controle 2 ()

Código de Identificação

I. Identificação

1. Nome.....

2. Endereço atual (rua/av):.....

Cidade:.....Telefone :.....

Outro end. ou fone de contato.....

Mora nessa Cidade há quanto tempo?.....

3. Sexo: M (X) 4. data de nascimento: //.....

5. Você estudou até que série ou ano:.....

6. Etnia: B (1), N (2), P (3),

II. Para os cortadores de cana

1. Trabalha no corte de cana desde que ano? (ano que começou pela primeira vez):

2. Trabalha para a atual empresa/usina desde que ano?.....

3. Horário de trabalho diário:.....

4. Jornada semanal de trabalho:.....

5. Esta semana trabalhou que dias? D (), 2ª (), 3ª (), 4ª (), 5ª (), 6ª (), S ()

6. Você trabalhou no corte quantos anos seguidos, com este ano?.....

7. Você já teve algum acidente no trabalho? Não 0(), Sim 1(), se sim quantas vezes e especifique.....

8. Você já teve alguma doença relacionada ao trabalho? Não 0(), Sim 1(), se sim qual (is),.....

9. Ingestão de líquidos durante o trabalho?

() Água, quantos copos..... ou litros.....

() outros, nome..... e quanto?.....

10. Tem alguma coisa no seu trabalho que você acha que faz mal para sua saúde?
 Não 0() Sim 1()

11. Você corta em média quantas toneladas de cana por dia?.....

12. Cidade e Estado onde mora:.....

13. Alguma vez, após ou durante o trabalho teve que tomar soro?

Não 0() Sim 1()

II. Para não cortadores de cana (controles)

1. Está trabalhando () ou desempregado ()

3. Se trabalhando, nome da empresa que trabalha:

.....

4. Função na empresa/no trabalho:.....

5. Trabalha na atual empresa desde (mês e ano que começou a trabalhar)

.....

6. Endereço da empresa atual (Rua/AV e bairro)

.....

7. Tem algum produto, substância química, vapor, gás ou poeira no trabalho que você acha que lhe faz mal? Não 0() Sim 1(). Se sim, qual (is).....

8. horário de trabalho.....

9. Jornada semanal de trabalho.....

10. Você já teve alguma doença relacionada ao trabalho Não 0(), Sim 1(), se sim qual (is),.....

III. Tabagismo?

a- Não 0() Sim 1()

b- Se fumante:

- quantos cigarros fuma por dia?.....
- começou a fumar com que idade?.....

c- Se parou de fumar:

- há quanto tempo parou?.....
- quantos cigarros fumava por dia?.....
- começou a fumar com que idade?.....

d- Anos/maço:.....

IV. Você mora com pessoas que fumam dentro da casa/quarto?

Não 0(), Sim 1(), Se sim quantos são os fumantes?.....

V. Você tem/teve alguma doença: 1() respiratória, 2() cardiovascular, 3() diabetes, 4() hepatite, 5() tuberculose, 6() esquistossomose, 7() outras?

Se sim, especifique.....

VI. Você está tomando alguma medicação atualmente?

Não (), Sim (), Se sim qual o nome:.....

VII. Alguém na sua família tem ou teve?

- Asma? Não 0(), Sim 1(), Não sei 2()
- Enfisema ou bronquite crônica? Não 0(), Sim 1(), Não sei 2()
- Infarto do Coração? Não 0(), Sim 1(), Não sei 2()
- Outra doença do coração? Não 0(), Sim 1(), Não sei 2()

Se sim, qual?.....

VIII. Anamnese

.....

IX- Nos últimos 3 meses você sentiu ou atualmente você sente:

- | | |
|-----------------------------------|------------------|
| • Chiado no peito | Não (), Sim () |
| • Tosse seca | Não (), Sim () |
| • Tosse com catarro | Não (), Sim () |
| • Falta de ar em repouso | Não (), Sim () |
| • Falta de ar quando faz esforço | Não (), Sim () |
| • Espirro freqüente | Não (), Sim () |
| • Coceira no nariz ou na garganta | Não (), Sim () |
| • Mudança na voz | Não (), Sim () |
| • Tontura (freqüente) | Não (), Sim () |
| • Dor de cabeça (freqüente) | Não (), Sim () |
| • Câimbra (freqüente) | Não (), Sim () |
| • Dores nas costas | Não (), Sim () |
| • Dores nos MMSS | Não (), Sim () |

X. Exame Físico

PA:..... FC:..... SatO₂:..... Peso:..... Altura:.....

COexalado:.....COHb:..... Circunferência abdominal:.....

.....

Assinatura e carimbo

8. REFERÊNCIAS

¹ União da Indústria da cana de açúcar – UNICA. Disponível em: <http://www.unica.com.br>. Acessado em Fevereiro de 2011.

² Neves MF, Trombin VG, Consoli M. O mapa sucroenergético do Brasil. In: Souza ELL, Etanol e bioeletricidade: a cana-de-açúcar no futuro da matriz energética. São Paulo; 2010.

³ Açúcar ético. Disponível em: <http://www.sucre-ethique.org> . Acessado em novembro de 2010.

⁴ Ribeiro H. Sugar cane burning in Brazil: respiratory health effects. Rev Saude Publica. 2008 Apr; 42(2): 370-6.

⁵ Arbex MA, Cançado JED, Pereira LAA, Braga ALF, Saldiva PHN. Queima de biomassa e efeitos sobre a saúde. J. bras. pneumol. [serial on the Internet]. 2004 Apr [cited 2011 June 28]; 30(2): 158-175. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132004000200015&lng=en. doi: 10.1590/S1806-37132004000200015

⁶ Torres-Duque C, Maldonado D, Pérez-Padilla R, Ezzati M, Viegi G; Forum of International Respiratory Studies (FIRS) Task Force on Health Effects of Biomass Exposure. Biomass fuels and respiratory diseases: a review of the evidence. Proc Am Thorac Soc. 2008 Jul 15;5(5):577-90.

⁷ Brook RD, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M, Luepker R, Mittleman M, Samet J, Smith SC Jr, Tager I; Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the

Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation*. 2004; 109(21): 2655-71.

⁸ Silva LFF. Efeito da exposição à queima de biomassa na prevalência de sintomas e na função respiratória em uma comunidade do interior do Brasil. São Paulo. Tese de Doutorado [Disciplina de Patologia] - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2011.

⁹ do Vale Bosso RM, Amorim LM, Andrade SJ, Rossini A, de Marchi MR, de Leon AP, Carareto CM, Conforti-Froes ND. Effects of genetic polymorphisms CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and GSTP1 on urinary 1-hydroxypyrene levels in sugarcane workers. *Sci Total Environ*. 2006 Nov 1;370(2-3): 382-90.

¹⁰ Respiratory Health Hazards in Agriculture. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Nov; 158 (5 Pt 2): S1-S76.

¹¹ Alves F. Porque morrem os cortadores de cana. *Saúde e Sociedade*. 2006; 15: 90-8.

¹² Barbosa CMG. Avaliação cardiovascular e respiratória em um grupo de trabalhadores de cana-de-açúcar queimada no estado de São Paulo. São Paulo. Tese de Doutorado [Disciplina de Pneumologia] - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2011.

¹³ Alessi NP, Navarro VL. Health and work in rural areas: sugar cane plantation workers in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica*. 1997; 13(suppl 2): 111-21.

¹⁴ Silva MAM. Mortes e acidentes nas profundezas do "mar da cana" e dos laranjais paulistas. *InterfacEHS - Revista de gestão integrada em saúde do trabalho e do meio ambiente*. 2008; 3:1-31. Disponível em

http://www.interfacehs.sp.senac.br/br/artigos.asp?ed=8&cod_artigo=146 .
Acessado em janeiro de 2011.

¹⁵ Daher EF, Silva Jr GB, Brunetta DM, Pontes LB, Bezerra GP. Rhabdomyolysis and acute renal failure after strenuous exercise and alcohol abuse: case report and literatures review. São Paulo Med J. 2005; 123(1): 33-7.

¹⁶ Rosa NG, Silva G, Teixeira A, Rodrigues F, Araújo JA. Rabdomiólise. Acta Méd Port. 2005; 18: 271-82.

¹⁷ Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res Rev. 2008; 7(1): 34-42.

¹⁸ Santos UP, Terra-Filho M, Lin CA, Pereira LA, Vieira TC, Saldiva PH et al. Cardiac arrhythmia emergency room visits and environmental air pollution in São Paulo, Brazil. J Epidemiol Community Health. 2008; 62(3): 267-72.

¹⁹ Peters A, von Klot S, Heier M, Trentinaglia I, Hörmann A, Wichmann HE et al. Exposure to traffic and the onset of myocardial infarction. N Engl J Med. 2004; 351(17): 1721-30.

²⁰ Sun Q, Hong X, Wold LE. Cardiovascular effects of ambient particulate air pollution exposure. Circulation. 2010; 121: 2755-65.

²¹ De Paula Santos U, Braga AL, Giorgi DM, Pereira LA, Grupi CJ, Lin CA et al. Effects of air pollution on blood pressure and heart rate variability: a panel study of vehicular traffic controllers in the city of São Paulo, Brazil. Eur Heart J. 2005; 26(2): 193-200.

-
- ²² Dvonch JT, Kannan S, Schulz AJ, Keeler GJ, Mentz G, House J *et al.* Acute effects of ambient particulate matter on blood pressure: differential effects across urban communities. *Hypertension*. 2009; 53(5): 853-859.
- ²³ Peters A, Doring A, Wichmann HE, Koenig W. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality? *Lancet*. 1997; 349: 1582-87.
- ²⁴ Pekkanen J, Brunner EJ, Anderson HR, Tiittanen P, Atkinson RW. Daily concentrations of air pollution and plasma fibrinogen in London. *Occup Environ Med*. 2000; 57: 818–822.
- ²⁵ Ruckerl R, Ibald-Mulli A, Koenig W, Schneider A, Woelke G, Cyrys J *et al.* Air pollution and markers of inflammation and coagulation in patients with coronary heart disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173(4): 432-441.
- ²⁶ Riediker M. Cardiovascular effects of fine particulate matter components in highway patrol officers. *Inhal Toxicol*. 2007; 19 (Suppl 1): 99-105.
- ²⁷ Baccarelli A, Martinelli I, Zanobetti A, Grillo P, Hou LF, Bertazzi PA *et al.* Exposure to particulate air pollution and risk of deep vein thrombosis. *Arch Intern Med*. 2008; 168(9): 920-27.
- ²⁸ Miller KA, Siscovick DS, Sheppard L, Shepherd K, Sullivan JH, Anderson GL *et al.* Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women. *N Engl J Med*. 2007; 356(5): 447-58.
- ²⁹ Puett RC, Schwartz J, Hart JE, Yanosky JD, Speizer FE, Suh H *et al.* Chronic particulate exposure, mortality, and coronary heart disease in the nurses. Health study. *Am J Epidemiol*. 2008; 168(10): 1161-8.

-
- ³⁰ Kunzli N, Jerrett M, Garcia-Esteban R, Basagaña X, Beckermann B, Gilliland F *et al.* Ambient air pollution and the progression of atherosclerosis in adults. *PLoS One*. 2010; 5(2): e9096.
- ³¹ Diez Roux AV, Auchincloss AH, Franklin TG, Raghunathan T, Barr RG, Kaufman J *et al.* Long-term exposure to ambient particulate matter and prevalence of subclinical atherosclerosis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol*. 2008; 167(6): 667-75.
- ³² Jerrett M. Global geographies of injustice in traffic-related air pollution exposure. *Epidemiology* 2009; 20: 231-233.
- ³³ Naess O, Nafstad P, Aamodt G, Claussen B, Rosland P. Relation between concentration of air pollution and cause-specific mortality: four-year exposure to nitrogen dioxide and particulate matter pollutants in 470 neighborhoods in Oslo, Norway. *Am J Epidemiol*. 2007; 165(4): 435-43.
- ³⁴ Cançado JE, Saldiva PH, Pereira LA, Lara LB, Artaxo P, Martinelli LA. The impact of sugar cane-burning emissions on the respiratory system of children and elderly. *Environ Health Perspect*. 2006;114(5):725-9.
- ³⁵ Arbex MA, Martins LC, Oliveira RC, Pereira LAA, Arbex FF, Cançado JED, Saldiva PHN, Braga ALF. Air pollution from biomass burning and asthma hospital admissions in a sugar cane plantation area in Brazil. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61(5): 395-400.
- ³⁶ O'Callaghan DS, O'Donnell D, O'Connell F, O'Byrne KJ. The role of inflammation in the pathogenesis of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2010; 5(12): 2024-36.
- ³⁷ Chameides WL. Environmental factors in cancer: focus on air pollution. *Rev Environ Health*. 2010; 25(1): 17-22.

-
- ³⁸ Boopathy R, Asrabadi BR, Ferguson TG. Sugar cane (*Saccharum officinarum* L) burning and asthma in Southeast Louisiana, USA. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2002;68(2):173-9.
- ³⁹ Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA 3rd, Brook JR, Bhatnagar A, Diez-Roux AV, Holguin F, Hong Y, Luepker RV, Mittleman MA, Peters A, Siscovick D, Smith SC Jr, Whitsel L, Kaufman JD. Particulate matter and air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2010 Jun 1; 121(21): 2331-78.
- ⁴⁰ Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*. 2002; 105(4): 411-4.
- ⁴¹ Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, Kreyling W, Cox C. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A*. 2002; 65(20): 1531-43.
- ⁴² Pope CA 3rd, Verrier RL, Lovett EG, Larson AC, Raizenne ME, Kanner RE, Schwartz J, Villegas GM, Gold DR, Dockery DW. Heart rate variability associated with particulate air pollution. *Am Heart J*. 1999; 138(5 Pt 1): 890-9.
- ⁴³ Devlin RB, Ghio AJ, Kehrl H, Sanders G, Cascio W. Elderly humans exposed to concentrated air pollution particles have decreased heart rate variability. *Eur Respir J*. 2003;21 (Suppl 40): 76-80.

-
- ⁴⁴ Nemmar A, Hoylaerts MF, Nemery B. Effects of particulate air pollution on hemostasis. *Clin Occup Environ Med.* 2006; 5(4): 865-81.
- ⁴⁵ De Bont R, van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis.* 2004;19(3): 169-85.
- ⁴⁶ Edwards TM, Myers JP. Environmental exposures and gene regulation in disease etiology. *Environ Health Perspect.* 2007;115(9): 1264-70.
- ⁴⁷ Baccarelli A, Wright RO, Bollati V, Tarantini L, Litonjua AA, Suh HH, Zanobetti A, Sparrow D, Vokonas PS, Schwartz J. Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009; 179(7): 572-8.
- ⁴⁸ Bayarsaihan D. Epigenetic Mechanisms in Inflammation. *J Dent Res.* 2011; 90(1): 9-17.
- ⁴⁹ Marnett LJ, Plastaras JP. Endogenous DNA damage and mutation. *Trends Genet.* 2001; 17(4): 214-21.
- ⁵⁰ Singh R, Kaur B, Kalina I, Popov TA, Georgieva T, Garte S, Binkova B, Sram RJ, Taioli E, Farmer PB. Effects of environmental air pollution on endogenous oxidative DNA damage in humans. *Mutat Res.* 2007; 620(1-2): 71-82.
- ⁵¹ Katzmarzyk PT. The Third International Congress on Physical Activity and Public Health: Toronto, May 5-8, 2010. *J Phys Act Health.* 2010;7(Suppl 3): S281-2.
- ⁵² Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature.* 2008; 454(7203): 463-9.

⁵³ Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A; American College of Sports Medicine; American Heart Association. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*. 2007; 116(9): 1081-93.

⁵⁴ Tarlo, S.M., Urch, R.B. and Silverman, F. 1990. Air pollution and exercise. *Current Therapy in Sports Medicine*. 2, 62-66.

⁵⁵ Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Obendorfer G, Utell MJ, Frampton MW. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol*. 2003; 15(6): 539-52.

⁵⁶ Carlisle A, Sharp N. Exercise and outdoor ambient air pollution. *Br J Sports Med*. 2001; 35(4): 214-22.

⁵⁷ Langrish P, Mills NI, Chan JK, Li J, Laserman DL, Aiken RJ, Fokkens PH, Casser FR, Newby DE, Donaldson K, Jiane L. Beneficial cardiovascular effects of reducing exposure to particulate air pollution with a simple facemask. *Part Fibre Toxicol*. 2009; 13: 6-8.

⁵⁸ Adams W. Ozone dose-response effects of varied equivalent minute ventilation rates. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 2000; 10: 217-226.

⁵⁹ Gong H, Shamoo DA, Anderson KR, Linn WS. Responses of older men with and without chronic obstructive pulmonary disease to prolonged ozone exposure. *Archives of Environmental Health*. 1997; 52(1): 18-25.

⁶⁰ Korrick SA, Neas LM, Dockery DW, Gold DR, Allen G, Hill LB, Kimball KD, Rosner BA, Speizer FE. Effects of ozone and other pollutants on the

pulmonary function of adult hikers. *Environmental Health Perspectives*. 1998; 106(2): 93-99.

⁶¹ Jacobs L, Nawrot TS, de Geus B, Meeusen R, Degraeuwe B, Bernard A, Sughis M, Nemery B, Panis LI. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environ Health*. 2010; 9: 64.

⁶² Mills NL, Törnqvist H, Gonzalez MC, Vink E, Robinson SD, Söderberg S, Boon NA, Donaldson K, Sandström T, Blomberg A, Newby DE. Ischemic and thrombotic effects of dilute diesel-exhaust inhalation in men with coronary heart disease. *N Eng J Med*. 2007; 357(11): 1075-82.

⁶³ Ministério da Previdência Social, INSS. Prevalência de doenças por categorias de ocupações. 2008. Disponível em: <http://www.previdenciasocial.gov.br> (conteúdo dinâmico). Acessado em março de 2011.

⁶⁴ Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Disponível em : <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=352950#> . Acessado em novembro de 2010.

⁶⁵ Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento – PNUD. Disponível em <http://www.pnud.org.br/atlas/> . Acessado em novembro de 2010.

⁶⁶ Biino G, Rezzani C, Grassi M, Marinoni A. ECRHS screening questionnaire scoring: a methodological suggestion for asthma assessment. *European Community Health Survey*. *J Outcome Meas*. 2000-2001; 4(4): 740-62.

⁶⁷ Ribeiro M, Angelini L, Robles-Ribeiro PG, Stelmach R, Santos Ude P,

Terra-Filho. Validation of the Brazilian-Portuguese version of the European Community Respiratory Health Survey in asthma patients. *J Asthma*. 2007 Jun; 44(5): 371-5.

⁶⁸ IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol*. 2004; 82 (suppl IV): 7-14.

⁶⁹ Beutler, E.; Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. 2nd, Grune & Stratton, New York, 1985. p159.

⁷⁰ Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974; 249(22): 7130-9.

⁷¹ Flohe L, Ötting F. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 93-104.

⁷² Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 121-6.

⁷³ Sim AS, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DE. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003 Mar 5; 785(2):337-44.

⁷⁴ duPont NC, Wang K, Wadhwa PD, Culhane JF, Nelson EL. Validation and comparison of luminex multiplex cytokine analysis kits with ELISA: Determinations of a panel of nine cytokines in clinical sample culture supernatants. *J Reprod Immunol*. 2005; 66(2): 175-91.

⁷⁵ Conforti-Froes N, el-Zein R, Abdel-Rahman SZ, Zwischenberger JB, Au WW. Predisposing genes and increased chromosome aberrations in lung cancer cigarette smokers. *Mutat Res*. 1997; 379(1): 53-9.

⁷⁶ Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force: General considerations for lung function testing. *Eur Respir J.* 2005; 26(1): 153-61.

⁷⁷ Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force: Standardization of spirometry. *Eur Respir J.* 2005; 26(2): 319-38.

⁷⁸ Duarte AA, Pereira CA, Rodrigues SC. Validation of new brazilian predicted values for forced spirometry in caucasians and comparison with predicted values obtained using other reference equations. *J Bras Pneumol.* 2007; 33(5): 527-35.

⁷⁹ Heart Rate Variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Eletrophysiology. *Circulation.* 1996 Mar 1; 93(5): 1043-65.

⁸⁰ Zhao ZH, Quan WY, Tian DH. Urinary 1-hydroxypyrene as an indicator of human exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons in a coal-burning environment. *Sci T Environ.* 1990; 92:145-154.

⁸¹ Amre DK, Infante-Rivard C, Dufresne A, Durgawale P, Enst P. Case-control studies of lung cancer among sugar cane farmers in India. *Occup Environ Med.* 1999; 5698: 548-52.

⁸² Phoolchund HN. Aspects of occupational health in the sugar cane industry.

J Soc Occup Med. 1991; 41(3): 133-6.

⁸³ Arbex MA, Bohn GM, Saldiva PHN, Conceição GM, Pope AC 3rd, Braga AL. Assessment of the effects of sugar cane plantation burning on daily counts of inhalation therapy. J of Air Waste Manag Assoc. 2000; 50: 1745-9.

⁸⁴ Arbex MA, Martins LC, Oliveira RC, Pereira LA, Arbex FF, Cançado JE, Saldiva PH, Braga AL. Air pollution from biomass burning and asthma hospital admissions in a sugar cane plantation area in Brazil. J Epidemiol Community Health. 2007; 61: 395-400.

⁸⁵ Goldberg MS, Burnett RT, Bailar JC 3rd, Tamblyn R, Ernst P, Flegel K, Brook J, Bonvalot Y, Singh R, Valois MF, Vincent R. Identification of persons with cardiorespiratory conditions who are at risk of dying from the acute effects of ambient air particles. Environ Health Perspect. 2001; 109(suppl 4): 487-94.

⁸⁶ Goldberg MS, Burnett RT, Yale JF, Valois MF, Brook JR. Associations between ambient air pollution and daily mortality among persons with diabetes and cardiovascular disease. Environ Res. 2006; 100(2): 255-67.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem. 1974; 249(22): 7130-9.

⁸⁷ Katsouyanni K, Schwartz J, Spix C, Touloumi G, Zmirou D, Zanobetti A, Wojtyniak B, Vonk JM, Tobias A, Pönkä A, Medina S, Bachárová L, Anderson HR. Short term effects of air pollution on health: a European approach using epidemiologic time series data: the APHEA protocol. J Epidemiol Community Health. 1996; Apr 50(suppl 1): S12-8.

⁸⁸ World Health Organization, WHO. Air Guidelines for particulate matter, ozone, dioxid and sulfer dioxid. Global update 2005. Disponível em:

http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_eng.pdf.

Acessado em Nov 2010.

⁸⁹ Resolução CONAMA nº 3, de CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Disponível em <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=41> . Acessado em maio de 2010.

⁹⁰ Jongeneelen FJ. Benchmark Guideline for Urinary 1-Hydroxypyrene as Biomarker of Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Ann. occup. Hyg.* 2001; 45(1):3-13.

⁹¹ Jongeneelen FJ, Anzion RBM, Leijdekkers CM, Bos RP, Henderson PT. 1-Hydroxypyrene in human urine after exposure to coal tar and a coal tar derived product. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 1985; 57: 47-55.

⁹² Han Y, Xia YY, Zhu P, Qiao S, Zhao R, Jin N, Wang S, Song L, Fu G, Wang X. Reproductive hormones in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolites among non-occupational exposure of males. *Sci Total Environ.*2010; 408: 768-773.

⁹³ Alexandrie AK, Warholm M, Carstensen U, Axmon A, Hagmar L, Levin JO, Ostman C, Rannug A. CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms affect urinary 1-hydroxypyrene levels after PAH exposure. *Carcinogenesis.* 2000; 21(4): 669-76.

⁹⁴ Lee JM, Kang DH, Lee KH, Masayoshi I, Zhang JS, Tomokuni K, Huang ES, Park CG, Ha M, Kim SG, Han SB, Choi JW, Lee E, Jang JY, Strickland PT, Hirvonen A, Cho SH. Influence of GSTM1 genotype on association between aromatic DNA adducts and urinary PAH metabolites in incineration workers. *Mutation Research.* 2002; 514:213-221.

-
- ⁹⁵ Viau C, Bouchard M, Carrier G, Brunnet R, Krishnan K. The toxicokinetics of pyrene and its metabolites in rats. *Toxicology Letters*. 1999; 108: 201-208.
- ⁹⁶ Bouchard M, Viau C. Urinary and biliary excretion kinetics of 1-hydroxypyrene following intravenous and oral administration of pyrene in rats. *Toxicology*. 1998; 127: 69-84.
- ⁹⁷ CDC. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. [2009]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/exposurereport/pdf/FourthReport.pdf> . Acessado em Maio de 2010.
- ⁹⁸ Leroyer A, Jeandel F, Maitre A, Howsam M, Deplanque D, Mazzuca M, Nisse C. 1-Hydroxypyrene and 3-hydroxybenzo[a]pyrene as biomarkers of exposure to PAH in various environmental exposure situations. *Sci Total Environ*. 2010; 408: 1166-73.
- ⁹⁹ Freire C, Abril A, Fernández MF, Ramos R, Estarlich M, Manrique A, Aguirre A, Ibarluzea J, Olea N. Urinary 1-hydroxypyrene and PAH exposure in 4-year-old Spanish children. *Sci Total Environ*. 2009; 407: 1562-9.
- ¹⁰⁰ FAGUNDES RB, ABNET CC, STRICKLAND PT, KAMANGAR F, ROTH MJ, TAYLOR PR, DAWSEY SM. Higher urine 1-hydroxy pyrene glucuronide (1-OHPG) is associated with tobacco smoke exposure and drinking maté in healthy subjects from Rio Grande do Sul, Brazil. *BMC Cancer*. 2006; 6:139.
- ¹⁰¹ Hopf NB, Kirkeleit J, Kramer SL, Moen B, Succop P, Genter MB, Carreón T, Mack J, Talaska G. Urinary 1-hydroxypyrene levels in offshore workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010;83(1):55-9.

-
- ¹⁰² Laitinen J, Mäkelä M, Mikkola J, Huttu I. Fire fighting trainers' exposure to carcinogenic agents in smoke diving simulators. *Toxicol Lett.* 2010; 192(1): 61-5.
- ¹⁰³ Sobus JR, McClean MD, Herrick RF, Waidyanatha S, Onyemauwa F, Kupper LL, Rappaport SM. Investigation of PAH biomarkers in the urine of workers exposed to hot asphalt. *Ann Occup Hyg.* 2009; 53(6): 551-60.
- ¹⁰⁴ Campo L, Rossella F, Pavanello S, Mielzynska D, Siwinska E, Kapka L, Bertazzi PA, Fustinoni S. Urinary profiles to assess polycyclic aromatic hydrocarbons exposure in coke-oven workers. *Toxicol Lett.* 2010; 192(1): 72-8.
- ¹⁰⁵ Romieu I, Castro-Giner F, Kunzli N, Sunyer J. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *Eur Respir J.* 2008; 31(1): 179-97.
- ¹⁰⁶ Li N, Alam J, Venkatesan MI, Eiguren-Fernandez A, Schmitz D, Di Stefano E, Slaughter N, Killeen E, Wang X, Huang A, Wang M, Miguel AH, Cho A, Sioutas C, Nel AE. Nrf2 is a key transcription factor that regulates antioxidant defense in macrophages and epithelial cells: protecting against the proinflammatory and oxidizing effects of diesel exhaust chemicals. *J Immunol.* 2004; Sep 1; 173(5): 3467-81.
- ¹⁰⁷ Nel A. Air Pollution-related illness: effects of particles. *Science.* 2005 May 6; 308(5723): 804-6.
- ¹⁰⁸ Hatzis C, Godleski JJ, González-Flecha B, Wolfson JM, Koutrakis P. Ambient particulate matter exhibits direct inhibitory effects on oxidative stress enzymes. *Environ Sci Technol.* 2006; 40(8): 2805-11.

¹⁰⁹ Madrigano J, Baccarelli A, Mittleman MA, Wright RO, Sparrow D, Vokonas PS, Tarantini L, Schwartz J. Prolonged Exposure to Particulate Pollution, Genes Associated With Glutathione Pathways, and DNA Methylation in a Cohort of Older Men. *Environ Health Perspect.* 2011 Mar 8 [Epub ahead of print].

¹¹⁰ Bayarsaihan D. Epigenetic Mechanisms in Inflammation. *J Dent Res.* 2011; 90(1): 9-17.

¹¹¹ Yauk C, Polyzos A, Rowan-Carroll A, Somers CM, Godschalk RW, Van Schooten FJ, Berndt ML, Pogribny IP, Koturbash I, Williams A, Douglas GR, Kovalchuk O. mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(2): 605-10.

¹¹² R ckerl R, Greven S, Ljungman P, Aalto P, Antoniadou C, Bellander T, Berglind N, Chrysohoou C, Forastiere F, Jacquemin B, von Klot S, Koenig W, K chenhoff H, Lanki T, Pekkanen J, Perucci CA, Schneider A, Sunyer J, Peters A; AIRGENE Study Group. Air Pollution and Inflammation (Interleukin-6, C-Reactive Protein, Fibrinogen) in Myocardial Infarction Survivors. *Environ Health Perspect.* 2007 Jul; 115(7): 1072-80.

¹¹³ Brook RD, Urch B, Dvorchak JT, Bard RL, Speck M, Keeler G, Morishita M, Marsik FJ, Kamal AS, Kaciroti N, Harkema J, Corey P, Silverman F, Gold DR, Wellenius G, Mittleman MA, Rajagopalan S, Brook JR. Insights Into the mechanisms and mediators of the effects of air pollution exposure on blood pressure and vascular function in healthy humans. *Hypertension.* 2009 Sep; 54(3): 659-67.

¹¹⁴ Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48(6): 757-767.

-
- ¹¹⁵ Perry C, Peretz H, Ben-Tal O, Eldor A. Highly elevated lactate dehydrogenase level in a healthy individual: a case of macro-LDH. *Am J Hematol.* 1997 May; 55(1): 39-40.
- ¹¹⁶ Galasso PJ, Litin SC, O'Brien JF. The macroenzymes: a clinical review. *Mayo Clin Proc.* 1993; 68(4): 349-54.
- ¹¹⁷ Agarwal R, Awasthi A, Mittal S, Singh N, Gupta PK. Effects of air pollution on respiratory parameters during the wheat-residue burning in Patiala. *J Med Eng Technol.* 2010; 34(1): 23-8.
- ¹¹⁸ Kim YJ, Jung CY, Shin HW, Lee BK. Biomass smoke induced bronchial anthracofibrosis: presenting features and clinical course. *Respir Med.* 2009; May 103(5): 757-65.
- ¹¹⁹ Regalado J, Pérez-Padilla R, Sansores R, Páramo Ramirez JI, Brauer M, Paré P, Vedal S. The effect of biomass burning on respiratory symptoms and lung function in rural Mexican women. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Oct 15; 174(8): 901-5.
- ¹²⁰ Imboden M, Downs SH, Senn O, Matyas G, Brändli O, Russi EW, Schindler C, Ackermann-Liebrich U, Berger W, Probst-Hensch NM; SAPALDIA Team. Glutathione S-transferase genotypes modify lung function decline in the general population: SAPALDIA cohort study. *Respir Res.* 2007 Jan 11; 8:2.
- ¹²¹ Lee YL, Lin YC, Lee, YC, Wang JY, Hsiue TR, Guo YL. Glutathione S-transferase P1 gene polymorphism and air pollution as interactive risk factors for childhood asthma. *Clin Exp Allergy.* 2004 Nov; 34(11): 1707-13.

-
- ¹²² Magari SR, Hauser R, Schwartz J, et al. Association of heart rate variability with occupational and environmental exposure to particulate air pollution. *Circulation*. 2001; 104: 986-991.
- ¹²³ Liao D, Creason J, Shy C, et al. Daily variation of particulate air pollution and poor cardiac autonomic control in the elderly. *Environ Health Perspect*. 1999;107:521-525.
- ¹²⁴ Pope CA, Verrier RL, Lovett EG, et al. Heart rate variability associated with particulate air pollution. *Am Heart J*. 1999; 138(pt 1): 890-899.
- ¹²⁵ Creason J, Neas L, Walsh D, et al. Particulate matter and heart rate variability among elderly retirees: the Baltimore 1998 PM study. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2001; 11: 116-122.
- ¹²⁶ Ori Z, Monir G, Weiss J, Sayhouni X, Singer DH. Heart rate variability. Frequency domain analysis. *Cardiol Clin*. 1992; 10(3): 499-537.
- ¹²⁷ Weippert M, Kumar M, Kreuzfeld S, Arndt D, Rieger A, Stoll R. Comparison of three mobile devices for measuring R-R intervals and heart rate variability: Polar S810i, Suunto t6 and an ambulatory ECG system. *Eur J Appl Physiol*. 2010; 109(4): 779-86.
- ¹²⁸ Nunan D, Donovan G, Jakovljevic DG, Hodges LD, Sandercock GR, Brodie DA. Validity and reliability of short-term heart-rate variability from the Polar S810. *Med Sci Sports Exerc*. 2009; 41(1):243-50.
- ¹²⁹ Vanderlei LC, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Braz J Med Biol Res*. 2008; 41(10): 854-9.

-
- ¹³⁰ Gamelin FX, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 heart rate monitor to measure R-R intervals at rest. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38(5): 887-93.
- ¹³¹ Radespiel-Tröger M, Rauh R, Mahlke C, Gottschalk T, Mück-Weymann M. Agreement of two different methods for measurement of heart rate variability. *Clin Auton Res.* 2003 Apr;13(2):99-102.
- ¹³² Urch B, Silverman F, Corey P, Brook JR, Lukic KZ, Rajagopalan S, Brook RD. Acute blood pressure responses in healthy adults during controlled air pollution exposures. *Environ Health Perspect.* 2005 Aug; 113(8): 1052-5.
- ¹³³ Santos UP, Braga AL, Giorgi DM, Pereira LA, Gruppi CJ, Lin CA, Bussacos MA, Zanetta DM, do Nascimento Saldiva PH, Filho MT. Effects of air pollution on blood pressure and heart rate variability: a panel study of the vehicular traffic controllers in the city of São Paulo, Brazil. *Eur Heart J.* 2005 Jan; 26(2): 193-200.
- ¹³⁴ Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts MF, et al. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164: 1665-8.
- ¹³⁵ Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, et al. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2002; 65:1531-43.
- ¹³⁶ Li CY, Sung FC. A review of the healthy worker effect in occupational epidemiology. *Occup Med.* 1999 May; 49(4): 225-9.

¹³⁷ Gattás GJ, Kato M, Soares-Vieira JA, Siraque MS, Kohler P, Gomes L et al. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res.* 2004; 37(4): 451-8.

¹³⁸ Rossini A, Rapozo DC, Amorim LM, Macedo JM, Medina R, Neto JR et al. Frequencies of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms in a Brazilian population. *Genet Mol Res.* 2002;1(3): 233-40.