Mariana Azevedo Carvalho

**Efeitos da exposição materna à poluição na biometria e
hemodinâmica fetais**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de: Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Dr^a Lisandra Stein Bernardes Ciampi de
Andrade

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Carvalho, Mariana Azevedo

Efeitos da exposição materna à poluição na biometria e hemodinâmica fetais /
Mariana Azevedo Carvalho. -- São Paulo, 2015.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São
Paulo.

Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientadora: Lisandra Stein Bernardes Ciampi de Andrade.

Descritores: 1.Poluição do ar 2.Ozônio 3.Dióxido de nitrogênio
4.Ultrassonografia Doppler 5.Biometria 6.Hemodinâmica

USP/FM/DBD-234/15

DEDICATÓRIA

À minha querida mãe Agda, por todo amor, ensinamento, dedicação e incentivo em todas as fases da minha vida. Responsável pela minha alfabetização quando criança, minha admiração pela senhora é infinita.

Ao meu querido pai Flavio, obrigada pelo amor e pelos ensinamentos. Guardo com carinho e saudade nossa vida na fazenda.

À querida Ana Flávia, minha irmã de fato e de alma. Obrigada pela ajuda na leitura e na formatação da dissertação. Tenho imensa admiração e orgulho por você.

Ao querido Fábio, meu companheiro e marido. Você foi um presente que ganhei na minha vida. Obrigada pelo apoio neste projeto e por me incentivar a continuar sempre estudando.

À querida vovó Sinhazinha (in memoriam), pelo carinho, amor e pelo grande incentivo aos estudos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Lisandra S. Bernardes Ciampi de Andrade, pela orientação, dedicação e atenção, desde o início do projeto até a execução da tese. Obrigada, ainda, pelos ensinamentos na área de Medicina Fetal.

Ao Prof. Dr. Marcelo Zugaib, pela oportunidade de ser aluna de pós-graduação da Clínica de Obstetrícia do Instituto Central do Hospital das Clínicas.

À Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira Francisco, que foi uma das idealizadoras e realizadoras deste projeto. Obrigada por participar da minha banca de qualificação, pelas sugestões e correções.

Ao Prof. Dr. Seizo Miyadahira, que fez parte da minha banca de qualificação, obrigada pela avaliação cuidadosa e pelas sugestões.

À Dra. Silvia Regina D. M. Saldiva, pela atenção dispensada e contribuição durante o exame de qualificação. Obrigada, também, pela disponibilidade da apresentação do pôster no Congresso Internacional de Seattle.

Aos Prof. Dr. Adolfo Wenjaw Liao, Dr. Antonio Amorim, Profa. Dra. Maria de Lourdes Brizot, Prof. Dr. Mario Henrique Burlacchini de Carvalho, Prof. Dr. Victor Bunduki e Dr. Javier Miguelez, pelos ensinamentos transmitidos durante a minha formação em Medicina Fetal.

Ao Prof. Dr. Paulo H. N. Saldiva, pelas discussões construtivas ao longo do projeto e por ter disponibilizado o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a confecção e a análise dos amostradores passivos individuais.

Às queridas amigas Marcela Vieira Xavier, Mariana Yumi Miyadahira, Marisa Akemi Takeno, Maria Claudia Nogueira Affonso e Bruna Maria L. Barbosa, pelo companheirismo, carinho e amizade nesses últimos anos.

À querida amiga e colega de projeto Karen Hettfleisch, pela convivência tão alegre no ambulatório. Foi um prazer trabalhar com você.

À querida amiga Janaina Negrão, pela amizade e pela ajuda no atendimento das gestantes deste projeto.

Aos estagiários, colegas e amigos de pós-graduação da Medicina Fetal, pelos anos de convívio e aprendizado.

Aos participantes do projeto Procriar que trabalharam com empenho e dedicação. Agradeço especialmente à Dra. Luciana Duzolina M. Pastro e à Ana Lúcia Castro, pela parceria e dinamismo na condução do projeto.

À Sra. Lucinda Cristina Pereira, pelo carinho e ajuda no período de finalização da pós-graduação.

À equipe de enfermagem e aos funcionários do ambulatório da Clínica Obstétrica, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos funcionários da secretaria e da informática da Clínica Obstétrica, pela disponibilidade e ajuda durante o andamento deste projeto.

À Agatha Rodrigues, pela contribuição no aprendizado de análise estatística.

Aos funcionários das Unidades Básicas de Saúde do Jardim Boa Vista, Jardim São Jorge e Paulo VI, às coordenadoras de campo e aos agentes comunitários de saúde que aceitaram participar deste projeto.

A todos os Professores, desde a escola primária até a residência médica, que foram essenciais na minha formação, tanto pessoal quanto profissional, meu profundo agradecimento.

Às gestantes voluntárias, pelo interesse e disponibilidade em participar do projeto, e aos recém-nascidos, motivo principal do nosso trabalho.

“Só se pode viver perto de outro, e conhecer outra pessoa, sem o perigo de ódio, se a gente tem amor. Qualquer amor já é um pouquinho de saúde, um descanso na loucura.”

Riobaldo em “Grande Sertão: Veredas”,

Guimarães Rosa

Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

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

Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xviii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	6
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
3.1 Poluição atmosférica.....	9
3.2 Métodos de medição da exposição à poluição.....	12
3.3 Influência da poluição no desenvolvimento fetal.....	13
3.4 Influência da poluição na hemodinâmica fetoplacentária.....	18
4. CASUÍSTICA E MÉTODO.....	20
4.1 Desenho do estudo	22
4.2 Critérios de inclusão.....	24
4.3 Critérios de exclusão.....	24
4.4 Tamanho amostral.....	24
4.5 Exposição à poluição do ar.....	25
4.6 Técnica do preparo dos filtros do API.....	26
4.7 Cálculo da idade gestacional.....	27
4.8 Ultrassonografia.....	28
4.9 Análise estatística.....	33
5. RESULTADOS.....	35

5.1	Biometria fetal.....	41
5.2	Líquido amniótico.....	44
5.3	Dopplervelocimetria.....	44
6.	DISCUSSÃO.....	46
6.1	Biometria fetal.....	47
6.2	Dopplervelocimetria.....	51
6.3	Prevalência do Diabetes Gestacional.....	54
6.4	Correlação entre os poluentes.....	55
6.5	Limites do estudo	56
6.6	Considerações finais.....	57
7.	CONCLUSÃO.....	58
8.	ANEXOS.....	60
8.1	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.....	61
8.2	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – “Impacto das exposições à poluição durante a vida intrauterina e pós-natal sobre a saúde respiratória da criança”	63
9.	REFERÊNCIAS.....	68

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

ACM	Artéria cerebral média
ACS	Agente comunitário de saúde
API	Amostrador passivo individual
BPN	Baixo peso ao nascimento
BTEX	Benzeno, tolueno, etilbenzeno, <i>m/p</i> -xileno e <i>o</i> -xileno
CA	Circunferência abdominal
CC	Circunferência craniana
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CF	Comprimento do fêmur
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Gás carbônico
COV	Compostos orgânicos voláteis
DBP	Diâmetro biparietal
DP	Desvio-padrão
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GPS	"Global positioning system"
HAP	Hidrocarboneto Aromático Policíclico
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
ILA	Índice de líquido amniótico

INAIRA	Instituto Nacional de Análise Integrada de Risco Ambiental
IMC	Índice de massa corporal
IP	Índice de pulsatilidade
Log	Logaritmo
LPAE	Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental da Universidade de São Paulo
MP	Material particulado
MP ₁₀	Material particulado com tamanho menor que 10 µm
MP _{2,5}	Material particulado com tamanho menor que 2,5 µm
N	Número de casos
NO	Óxido nítrico
NO _x	Óxidos de azoto
NO ₂	Dióxido de Nitrogênio
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
OMS	Organização Mundial da Saúde
SO ₂	Dióxido de enxofre
p	Nível descritivo de probabilidade
PIG	Pequeno para a idade gestacional
PIGF	"Placental growth factor"
RMSP	Região Metropolitana de São Paulo
sFlt-1	"Soluble fms-like tyrosine kinase-1"
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TPP	Trabalho de parto prematuro
UBS	Unidade Básica de Saúde

VEGF	"vascular endotelial growth factor"
<	Menor
%	Porcento

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Logotipo do projeto ProcriAR.....	22
Figura 2	Dinâmica do projeto ProcriAR.....	23
Figura 2	API pronto para ser embalado.....	25
Figura 4	Comparação visual entre os filtros de NO ₂ antes e após a exposição. Filtros não danificados.....	27
Figura 5	Comparação visual entre os filtros de O ₃ antes e após a exposição. Filtros não danificados.....	27
Figura 6	Medida da CC	30
Figura 7	Medida do FL.....	30
Figura 8	Medida da CA.....	31
Figura 9	Medida do ILA.....	31
Figura 10	Sonograma da artéria umbilical.....	32
Figura 11	Sonograma da ACM.....	32
Figura 12	Sonograma de artéria uterina direita.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Avaliação do impacto do NO ₂ nas medidas ultrassonográficas fetais.....	17
Tabela 2	Avaliação do impacto do O ₃ nas medidas ultrassonográficas fetais.....	18
Tabela 3	Características maternas na avaliação de terceiro trimestre (n = 386).....	37
Tabela 4	Características fetais e da dopplervelocimetria na avaliação de terceiro trimestre (n = 386).....	39
Tabela 5	Médias e medianas dos poluentes (ug/m ³) e coeficientes de correlação de Pearson entre os diferentes trimestres.....	40
Tabela 6	Coeficientes de correlação de Pearson entre os poluentes NO ₂ e O ₃ nos diferentes trimestres.....	41
Tabela 7	Estimativas dos coeficientes e valores de p da biometria fetal do modelo de regressão linear	42
Tabela 8	Estimativas dos coeficientes e valores de p da dopplervelocimetria do modelo de regressão linear	45

RESUMO

Carvalho, MA. *Efeitos da exposição materna à poluição na biometria e hemodinâmica fetais* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Introdução: A poluição do ar é resultado de complexas interações que envolvem emissões de poluentes atmosféricos e que sabidamente causam consequências negativas para a saúde humana. De acordo com alguns estudos, a exposição à poluição, durante a gestação, pode afetar o peso ao nascimento, contudo, não há ainda conhecimento sedimentado sobre as janelas críticas de exposição à poluição durante a gestação e quais os efeitos no crescimento fetal e no fluxo placentário.

Objetivos: Visando investigar, mais profundamente, o impacto da poluição na vida intrauterina, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da exposição à poluição, nos três trimestres da gestação, no crescimento fetal e na hemodinâmica feto-placentária avaliados no terceiro trimestre da gestação.

Métodos: Foi realizado um estudo prospectivo com 386 gestantes, na cidade de São Paulo, intitulado ProcriAR. Os poluentes dióxido de nitrogênio (NO₂) e ozônio (O₃) foram medidos durante cada trimestre da gestação por meio da utilização de amostradores passivos individuais. No terceiro trimestre, foi realizada ultrassonografia fetal na qual foram avaliados: o diâmetro biparietal, a circunferência craniana, a circunferência abdominal, o comprimento do fêmur, o peso fetal, o índice de líquido amniótico e os índices de pulsatilidade (IP) de sonograma das artérias umbilical, cerebral média e uterinas. Foi realizada análise multivariada, controlada por idade materna, no momento da concepção, índice de massa corporal (IMC), paridade, tabagismo, consumo de álcool, cor, nível de escolaridade, estado civil, idade gestacional no momento do exame e sexo fetal.

Resultados: Menor circunferência cefálica foi associada com a exposição ao O₃ no primeiro trimestre ($p = 0,012$; $\beta = -0,005$; intervalo de confiança de 95% (IC 95%), -0,008, -0,001), e maior circunferência cefálica foi associada com a exposição ao NO₂ no primeiro trimestre ($p = 0,033$; $\beta = 2,5 \times 10^{-4}$; IC 95%, 2×10^{-5} , $4,8 \times 10^{-4}$). A exposição ao O₃ no segundo trimestre foi associada a maiores valores de IP da artéria umbilical ($p = 0,006$; $\beta = 0,018$; IC 95%, 0,005, 0,030), porém a exposição ao O₃ no terceiro trimestre foi associada a menores valores de IP da umbilical ($p = 0,004$; $\beta = -0,022$; IC 95%, -0,037, -0,007).

Conclusão: Nossos resultados sugerem que, no ambiente de São Paulo, o O₃ pode interferir no crescimento do polo cefálico e na resistência vascular placentária.

Descritores: poluição do ar; ozônio; dióxido de nitrogênio; ultrassonografia Doppler; biometria; hemodinâmica.

ABSTRACT

Carvalho, MA. *Effects of maternal exposure to air pollution on fetal biometry and fetal hemodynamics* [Dissertação]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015.

Background: Air pollution may influence fetal growth and placental flow according to trimester-specific exposure.

Objectives: To determine the influence of maternal air pollution exposure during each trimester of pregnancy on fetal growth and fetoplacental hemodynamics.

Methods: ProcriAR, a prospective cohort study of 386 pregnant women, was conducted in the city of São Paulo. Nitrogen dioxide (NO₂) and ozone (O₃) were measured during each trimester using passive personal monitors. In trimester 3, we evaluated the biparietal diameter, head circumference, abdominal circumference, femur length, fetal weight, amniotic fluid index and Doppler velocimetry data of the umbilical, middle cerebral and uterine arteries. Multivariate analysis was performed, controlling for maternal age at conception, body mass index, parity, smoking, alcohol consumption, race, highest education level completed, and marital status and the fetus's gestational age and sex.

Results: Reduced head circumference was associated with O₃ exposure in trimester 1 ($p = 0.012$; $\beta = -0.005$; 95% confidence interval (CI), -0.008, -0.001), and increased head circumference was associated with NO₂ exposure in trimester 1 ($p = 0.033$; $\beta = 2.5 \times 10^{-4}$; 95% CI, 2×10^{-5} , 4.8×10^{-4}). Exposure to O₃ during the second and third trimesters was associated with higher ($p = 0.006$; $\beta = 0.018$; 95% CI, 0.005, 0.030) and lower ($p = 0.004$; $\beta = -0.022$; 95% CI, -0.037, -0.007) umbilical artery pulsatility values, respectively.

Conclusion: Our results suggest that in the environment of São Paulo, O₃ may interfere with fetal growth and vascular resistance.

Descriptors: air pollution; ozone; nitrogen dioxide; ultrasonography, Doppler; biometry; hemodynamics.

INTRODUÇÃO

A poluição do ar é resultado de complexas interações que envolvem emissões de poluentes atmosféricos, condições meteorológicas e uma ampla variedade de processos atmosféricos, incluindo transporte, transformação química e deposição⁽¹⁾. Por volta de 50 % da população mundial vive em cidades ou grandes centros urbanos, sendo exposta a altos níveis de poluentes do ar. A outra metade utiliza combustíveis sólidos como carvão vegetal, madeira e resíduos agrícolas como fonte de energia, o que também a expõe à poluição⁽²⁾.

Os efeitos deletérios da exposição à poluição têm sido comprovados há algumas décadas, afetando principalmente os grupos mais susceptíveis, como idosos e crianças. Elevados níveis de poluição foram associados a aumento: no número de doenças respiratórias, de visitas a emergências hospitalares; maior risco: de acidente vascular cerebral, de desenvolvimento de câncer de pulmão, de evento cardiovascular, como infarto agudo do miocárdio, e aumento do número de crises de falcização em crianças com anemia falciforme, entre outros efeitos negativos⁽³⁻¹²⁾.

O interesse em conhecer os efeitos da poluição na gestação e no conceito levou ao surgimento de diversos estudos que investigaram a associação entre a poluição do ar e os efeitos adversos na gestação, como o baixo peso ao nascimento (BPN), pequeno para a idade gestacional (PIG) e trabalho de parto prematuro (TPP). No entanto, os resultados desses estudos foram divergentes⁽¹³⁻²¹⁾. Hansen et al.⁽²²⁾, em 2006, encontraram associação entre exposição a poluentes e maior risco de TPP. O mesmo autor e colaboradores⁽¹⁷⁾, em 2007, avaliaram, retrospectivamente, uma coorte de 26.617 gestantes e não observaram associação com peso ao nascimento ou maior risco de PIG. Nesse mesmo estudo, foi constatado que a exposição a maiores quartis de NO₂, no terceiro trimestre, teve associação com menores valores no comprimento dos recém-nascidos. Gehring et al.⁽¹⁵⁾, em 2011, seguiram, prospectivamente, 3.853 gestações, e

não encontraram associação entre exposição à poluição e peso ao nascimento, mas apenas uma associação fraca com TPP. Ademais, Barnett et al. ⁽¹³⁾ seguiram, prospectivamente, 970 gestantes e não encontraram associação da poluição com peso ao nascimento, mas sim com a redução do tempo de gestação. Por outro lado, Bobak et al. ⁽¹⁴⁾ avaliaram, retrospectivamente, 108.173 gestantes, e observaram influência da poluição na incidência de TPP e BPN, mas não na chance de PIG. Liu et al. ⁽¹⁹⁾, com uma coorte retrospectiva de 229.085 gestantes, observaram associação positiva entre exposição à poluição e ocorrência de TPP, BPN e PIG. Ha et al. ⁽¹⁶⁾ avaliaram, retrospectivamente, 423.719 gestantes e verificaram associação positiva entre TPP e os dois poluentes avaliados, porém o desfecho BPN teve apenas associação com o poluente material particulado com tamanho menor que 2,5 μm ($\text{MP}_{2,5}$), tendo o ozônio (O_3) um efeito protetor. Na grande São Paulo, Romão et al. ⁽²¹⁾ observaram que a exposição a altos níveis de MP com tamanho menor que 10 μm (MP_{10}) foi associada a maior risco de BPN. Em resumo, parece haver um comprometimento do peso ao nascimento relacionado à exposição materna à poluição, mas os resultados encontrados foram controversos. Os estudos que possuem as maiores coortes utilizaram dados populacionais e estações fixas de monitoramento do ar, ou seja, não consideraram a variação individual à exposição à poluição, o que pode ter contribuído para a divergência de resultados.

Os motivos pelos quais a poluição poderia levar a um desfecho adverso ao nascimento, como a redução do peso do recém-nascido, foram objeto de pesquisa pela comunidade científica. Pedersen et al. ⁽²³⁾, em 2009, encontraram micronúcleos de DNA em sangue de cordão fetal, após exposição materna à poluição do tráfego aéreo, mostrando que os poluentes do ar podem causar danos ao DNA humano. Veras et al. ⁽²⁴⁾, em 2012, em São Paulo, demonstraram que ratos expostos a uma câmara não filtrada

de ar apresentaram um volume menor do cordão umbilical do que aqueles expostos a uma câmara filtrada, concluindo-se que o fluxo de sangue do cordão umbilical pode também ser prejudicado pela exposição à poluição do ar. Além disso, Lee et al.⁽²⁵⁾, em 2011, e Van den Hooven et al.⁽²⁶⁾, em 2012, demonstraram que mulheres grávidas expostas a altos níveis de poluição do ar, no início da gestação, apresentaram elevados níveis séricos de proteína C reativa, que é sabidamente um marcador de resposta inflamatória.

Poucos estudos investigaram a associação entre a poluição do ar e o crescimento fetal avaliado por ultrassonografia ⁽²⁷⁻³²⁾. Os seis estudos existentes, com exceção de um trabalho realizado na França ⁽²⁹⁾, avaliaram os poluentes do ar por meio de estações fixas de monitoramento, modelos de dispersão da poluição e modelos de "land use regression" ajustados ou não temporalmente. Esses métodos de medição da poluição estão sujeitos a algumas críticas, pois não avaliam a mobilidade urbana, que é a variação de exposição à poluição que ocorre durante o dia ⁽³³⁾. Estima-se que as pessoas passem, em média, 20% do seu tempo no trabalho, escola ou outras atividades longe da residência e 7%, no trânsito ⁽³⁴⁾. Além disso, nesses modelos, são usados pontos estáticos para avaliação da poluição como as estações fixas de medição da qualidade do ar ou a predição da poluição no próprio endereço residencial. Dessa forma, a exposição à poluição que ocorre no caminho ao trabalho (ônibus, carro, metrô) e em ambientes fechados não é avaliada ⁽³⁵⁾, além de não serem estimados as mudanças de endereço que ocorrem durante o período de avaliação da exposição, como por exemplo, o intervalo de 9 meses de uma gestação.

Para corrigir esse viés de medição da exposição à poluição, surgiram os modelos de monitoramento individual. As principais vantagens do monitoramento pessoal da poluição do ar é a observação de padrões individuais específicos das atividades diárias,

levando em consideração a relação espaço-tempo e também a medição da poluição tanto de áreas externas, quanto de ambientes internos como casas, escritórios, centro de compras, etc. ⁽³⁵⁻³⁷⁾. Ademais, diversos estudos compararam os métodos de medição da poluição atmosférica e mostraram que o uso do monitoramento pessoal é o método mais confiável de avaliação da exposição à poluição, pois as pessoas se movem o tempo todo, sendo expostas a diferentes concentrações de poluentes do ar ao longo do dia ⁽³⁷⁻⁴²⁾.

Até o presente momento, nenhum estudo avaliou os efeitos da exposição à poluição no feto medida por meio de monitoramento pessoal durante os três trimestres da gestação. A estimativa da exposição em diferentes fases da gravidez é fundamental para a adequada avaliação dos possíveis impactos da poluição do ar sobre o crescimento fetal e, nesse contexto, o monitoramento pessoal poderia minimizar o erro de classificação de exposição, aumentando o poder de detectar os efeitos da poluição no desenvolvimento fetal ^(35, 36).

Há, ainda, a suspeita de que a poluição poderia influenciar na placentação e na hemodinâmica feto-placentária. Van den Hooven et al. ⁽⁴³⁾ não encontraram resultados consistentes entre a exposição à poluição atmosférica e a resistência das artérias uterinas e umbilicais na gestação, no entanto, não usaram monitoramento individual. Dessa forma, tendo em vista a possível influência da poluição atmosférica no crescimento fetal, na placentação e na dopplervelocimetria feto-placentária, identificamos que a avaliação da exposição à poluição por meio do monitoramento pessoal, nos três trimestres da gestação, nos permitiria maior conhecimento sobre a influência individual dos poluentes no crescimento fetal e sobre a fisiopatologia da resposta hemodinâmica fetal à exposição materna à poluição.

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi analisar a influência dos poluentes NO_2 e O_3 , medidos, de forma individual, em cada trimestre da gravidez, nos seguintes parâmetros avaliados no terceiro trimestre:

- 1- Peso fetal;
- 2- Diâmetro biparietal (DBP);
- 3- Circunferência cefálica (CC);
- 4- Circunferência abdominal (CA);
- 5- Medida do fêmur (FL);
- 6- Índice de líquido amniótico (ILA);
- 7- Dopplervelocimetria das artérias umbilicais;
- 8- Dopplervelocimetria da artéria cerebral média (ACM);
- 9- Dopplervelocimetria das artérias uterinas.

REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Poluição atmosférica

Os poluentes do ar são formados por uma mistura de partículas como o MP, por gases que são emitidos para a atmosfera pelos veículos automotivos, indústrias, termoelétricas e pela queima de biomassa e de combustíveis fósseis. Os poluentes podem ser divididos em dois tipos, os primários, que são emitidos diretamente para a atmosfera, e os secundários, que são provenientes de reações químicas entre os primários, envolvendo componentes da atmosfera como água e oxigênio. Os principais poluentes primários medidos são: óxidos de nitrogênio (NO_x), dióxido de enxofre (SO_2), monóxido de carbono (CO) e compostos orgânicos voláteis (COV). Os NO_x são poluentes que representam a poluição gerada principalmente pelo tráfego de veículos motorizados. O SO_2 é um bom representante da queima de combustíveis fósseis, principalmente carvão e petróleo, mas também é produzido por veículos que utilizam diesel como combustível. O CO é gerado a partir da queima incompleta de combustíveis derivados do petróleo. Os COVs são formados por diferentes fontes, como por exemplo, por vazamento de sistemas pressurizados (gás natural, metano), pela evaporação do benzeno contido no tanque de combustível dos veículos, pela combustão de combustíveis fósseis, por processos de incineração e pela evaporação de solventes orgânicos utilizados em tintas e adesivos. Além desses, um poluente muito estudado é o MP, que pode ter origem primária ou secundária e é classificado de acordo com o tamanho das partículas em suspensão. Os efeitos deletérios na saúde humana dependem do tamanho e da composição química dessas partículas^(44, 45).

Em relação aos poluentes secundários, um dos mais conhecidos é o O_3 , formado a partir de complexas reações químicas induzidas pela oxidação fotoquímica dos COVs e do NO_2 na presença de raios ultravioleta provenientes da luz solar. O O_3 tem a

tendência de deslocar-se com o vento, podendo atingir concentrações mais elevadas nos subúrbios das cidades, em locais remotos ou em altitudes mais elevadas ⁽⁴⁶⁾. Isso sugere que, provavelmente, a maior exposição ao O₃ ocorra em áreas que não têm adequada análise de medição desse poluente. Na cidade de São Paulo, as maiores concentrações de O₃ foram detectadas na periferia, em áreas com elevada proporção de pessoas de baixa renda ⁽⁴⁴⁾.

O NO₂, como já mostrado, contribui para a formação do O₃, contudo este também pode participar da geração do NO₂ por via secundária. A maior proporção do NO₂ atmosférico é gerado como produto secundário de reações químicas, como a que ocorre entre O₃ e NO, gerando NO₂ e oxigênio ⁽⁴⁴⁾. Por outro lado, a via primária ocorre por processos de combustão em altas temperaturas entre oxigênio e nitrogênio, tendo como exemplos, o tráfego motorizado e a geração de energia que produzem, em média, 95% de óxido nítrico (NO) e 5% de NO₂ ⁽⁴⁴⁾.

Uma vez que as principais fontes de alguns poluentes secundários como o NO₂ e O₃ são relacionados ao tráfego viário, há uma crescente preocupação com o aumento dos níveis desses poluentes em cidades de crescimento rápido, devido ao grande números de veículos. Tanto as concentrações de NO₂ quanto as de O₃ não têm mostrado tendência de queda. Além disso, a concentração de O₃ na troposfera está crescendo, pois houve aumento dos níveis desse poluente em cidades norte-americanas e europeias e, em cidades do México, América do Sul, África, Austrália e Europa. Esses níveis ultrapassaram os recomendados pela penúltima atualização da OMS realizada em 2000 ^(34, 47). Dessa forma, o O₃ e NO₂ são um dos principais problemas de poluição atmosférica atualmente no mundo ⁽⁴⁴⁾.

No Brasil, especificamente, no estado de São Paulo, todos os anos a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) publica, no próprio site, um relatório

sobre a qualidade do ar. Segundo dados do último relatório referente ao ano de 2014 ⁽⁴⁸⁾, o O₃ é o poluente que mais ultrapassa os níveis recomendados pela OMS. Na região metropolitana de São Paulo (RMSP), em 2014, o padrão estadual de qualidade do ar de 8 horas do O₃ foi ultrapassado em 43 dias (12,1% dos dias do ano). Em cinco dias, o nível de atenção foi atingido, ou seja, a qualidade do ar estava péssima. A RMSP apresenta um alto potencial de formação de O₃, pois há grande emissão de seus precursores, principalmente de origem veicular, porém sua ocorrência, em maior ou menor frequência, está relacionada, principalmente, às variações das condições meteorológicas, uma vez que as variações quantitativas nas emissões de seus precursores são pequenas de ano para ano. Em relação ao NO₂, que também é precursor do O₃, as medições desse poluente mostraram que, em 2014, não houve ultrapassagem do padrão horário da qualidade do ar em nenhuma das estações da RMSP.

Finalmente, sabe-se que a poluição do ar é uma mistura complexa de poluentes e que cada estudo, realizado sobre o impacto da poluição na saúde humana, usa um poluente específico para ser o representante ou proxy dessa mistura. Dessa forma, é difícil estimar se o poluente medido representa, de maneira eficaz, a poluição a que estamos expostos. Levy et al. ⁽⁴⁹⁾, em Montreal, no Canadá, avaliaram 23 poluentes do ar, durante 32 dias, no verão, no outono e no inverno de 2009, e concluíram que nenhum poluente seria uma medida perfeita do proxy da mistura de poluentes. Contudo, baseado em todas as correlações entre o conjunto de poluentes medidos, as espécies de NO, por exemplo, o NO₂, foram os melhores indicadores disponíveis da variação espacial da exposição à poluição atmosférica. Ademais, da Silva et al. ⁽⁵⁰⁾, em São Paulo, estimaram a exposição à poluição, com o uso de amostradores passivos de NO₂, em 36 locais de tráfego viário intenso e leve. As médias das concentrações de NO₂ foram associadas com a densidade do tráfego visualizada no local, com o número de

veículos contados e com o tráfego registrado pela Companhia de Engenharia de Tráfego. Nesse estudo, o NO₂ foi considerado um bom proxy da exposição à poluição do tráfego de veículos motorizados.

3.2 Métodos de medição da exposição à poluição

Existem diferentes métodos para quantificar a exposição à poluição. As estações fixas de monitoramento do ar são as mais tradicionais e as primeiras a serem usadas, podendo estimar a exposição a vários poluentes e sendo útil para grandes estudos populacionais ⁽⁵¹⁾. Outro método utilizado é o "land use regression" que explora a associação da concentração de poluentes atmosféricos medidos e preditos de algumas estações de monitoramento da poluição com modelos de regressão linear múltipla. A partir disso, pode-se prever a concentração de um poluente em determinado local, com base em seu entorno populacional, no uso da terra, nas características do polo industrial e no tráfego viário ⁽⁵²⁾. Além desses, há o modelo de dispersão da poluição, que utiliza equações determinadas como a de "plume Gaussian" e dados sobre a emissão de poluentes, as condições meteorológicas e a topografia para estimar as concentrações de poluentes em locais abertos ⁽⁵³⁾. No entanto, esses métodos não avaliam a exposição a ambientes fechados e ignoram o impacto da mobilidade individual urbana ⁽³³⁾. Dessa forma, outros métodos foram desenvolvidos para preencher essa lacuna de não avaliar o padrão individual de exposição à poluição. Surgiram, então, os primeiros modelos de monitoramento pessoal ou amostradores passivos individuais (APIs) ^(54, 55). Para saber como é o padrão de atividade da pessoa que usa o API são realizados questionários detalhados sobre o padrão de tempo em cada atividade diária ^(56, 57) e, mais recentemente, surgiram também dispositivos como o "Global Positioning System"

(GPS) que informa as coordenadas geográficas do indivíduo a partir do seu uso ^(58, 59). O uso dos APIs têm como vantagens ser um método barato, não é necessário o uso de bateria ou outros dispositivos, e pode ser usado em ambientes externos e internos ^(60, 61).

3.3 Influência da poluição no desenvolvimento fetal

Diversos estudos foram feitos para investigar qual o impacto da poluição do ar no desenvolvimento fetal e em complicações da gestação como baixo peso ao nascimento (BPN), prematuridade e óbito fetal. Srám et al. ⁽⁶²⁾, em 2005, realizaram uma revisão sistemática com os estudos que avaliaram os efeitos adversos dos poluentes atmosféricos nos desfechos dos RNs, medidos por estações fixas de monitoramento. Foi constatado que há associação inversa entre a exposição à poluição e o peso ao nascimento, porém, em relação à prematuridade e à restrição de crescimento fetal, mais estudos são necessários para inferir uma causalidade direta. Quanto às malformações fetais, não foi encontrada nenhuma relação, porém foi notada uma relação entre exposição à MP e maior chance de óbito neonatal por causas respiratórias.

Em 2011, Shah et al. ⁽⁶³⁾ revisaram 41 estudos para investigar a associação entre os desfechos como BPN, pequeno para a idade. Nessa revisão, foram observadas associações positivas entre SO₂ e prematuridade, entre MP_{2,5} e BPN, PIG e prematuridade e entre MP₁₀ e PIG, porém a associação com os poluentes NO₂, O₃, NO e CO foi inconclusiva.

Ademais, Stieb et al. ⁽⁶⁴⁾, em 2012, analisaram 62 estudos para verificar a associação entre os desfechos prematuridade e BPN e os poluentes, SO₂, MP₁₀, MP_{2,5}, NO₂, O₃ e CO. Poucos efeitos foram notados para prematuridade e para o desfecho BPN

foi identificada associação positiva com os poluentes CO, NO₂, MP_{2,5} e MP₁₀ na maioria dos estudos. Em relação ao O₃ e SO₂, os resultados foram menos consistentes.

Para prever a influência da poluição desde a vida intrauterina, começaram a surgir os primeiros estudos associando medidas ultrassonográficas fetais com os poluentes do ar. Conforme mencionado anteriormente, até o momento, foram realizados seis estudos. O primeiro, realizado em Brisbane, Austrália, foi retrospectivo, com avaliação de 15.623 exames de ultrassonografia entre as 13^a e 26^a semanas de gestação, em um período de 10 anos, de 1993 a 2003. Nos primeiros 4 meses da gestação, foram mensurados os poluentes SO₂, NO₂, O₃ e MP₁₀ por meio de 18 estações fixas de monitoramento, levando em consideração o endereço residencial da gestante. Diminuição na CA foi associada à exposição a três poluentes: ao O₃ entre os dias 31 e 60 da gestação (-1,42 mm; IC de 95%, -2,74, -0,09); ao SO₂, entre os dias 61 e 90 (-1,67 mm; IC de 95%, -2,94, -0,40) e ao MP₁₀ entre os dias 91 e 120 da gestação (-0,78 mm; IC de 95%, -1,49, -0,08). Houve também diminuição no DBP (-0,68 mm; IC de 95%, -1,09, -0,27) associada à exposição ao SO₂, entre os dias 0 e 30 da gestação, e diminuição na CC (-1,02 mm; IC de 95%, -1,78 a -0,26) associada ao MP₁₀, entre os dias 91 a 120, e, por último, diminuição no CF foi associada ao MP₁₀, em dois períodos, entre os dias 0 e 30 da gestação (-0,28 mm; IC de 95%, -0,48, -0,08) e entre os dias 91 e 120 (-0,23; IC de 95%, -0,42, -0,04) ⁽²⁸⁾.

Slama et al. ⁽²⁹⁾, em 2009, publicaram o primeiro e único estudo que usou o API para avaliar a exposição à poluição do ar durante a gestação. No entanto, a exposição ao benzeno, especificamente, nesse caso, foi avaliada apenas durante uma semana, na 27^a semana da gravidez, quando a invasão trofoblástica já havia terminado. Foi estimado como medida ultrassonográfica apenas a CC, no segundo e terceiro trimestres da gestação e ao nascimento. A exposição ao benzeno foi transformada em logaritmo

(log), sendo encontrada diminuição de 68 g na média do peso ao nascimento (IC de 95%, -135g, -1g) e diminuição de 1,9 mm, na CC ao nascimento (IC de 95%, -3,8, 0,0 mm). Em relação às avaliações ultrassonográficas da CC, foram observadas, no terceiro trimestre, diminuição de 1,9 mm (IC de 95%, -4,0, 0,3 mm) e no final do segundo trimestre, diminuição de 1,5 mm (IC de 95%, -3,1, 0,0 mm).

Em 2010, na Espanha, Aguilera et al. ⁽²⁷⁾, avaliaram, prospectivamente, 562 gestantes para estimar o efeito do NO₂ e dos hidrocarbonetos aromáticos como benzeno, tolueno, etilbenzeno, *m/p*-xileno e *o*-xileno (BTEX) no crescimento fetal. A exposição a esses poluentes foi estimada pelo modelo de "land use regression". Houve diminuição no DBP entre 20^a e 32^a semanas associada à exposição ao BTEX no início da gestação. As outras medidas ultrassonográficas não foram associadas à exposição à poluição. Ademais, é importante ressaltar que quando foi restringida a avaliação às gestantes que passaram menos de 2 horas por dia em lugares abertos, os efeitos estimados foram significativos, sendo observadas associações negativas entre exposição ao NO₂, entre as 1^a e 12^a semanas, e parâmetros de crescimento, por exemplo, crescimento da CC, entre as 12^a e 20^a semanas da gestação, crescimento da CA, DPB, e peso fetal estimado entre as 20^a e 32^a semanas. Foram constatadas também associações negativas entre exposição ao NO₂, entre as 1^a e 12^a semanas, e tamanho da CC, CA, e peso fetal estimado na 32^a semana, e tamanho da CC na 20^a semana.

Em 2011, na Holanda, van den Hooven et al. ⁽³¹⁾ acompanharam uma coorte de 7.772 gestantes, em que realizaram medidas ultrassonográficas nos três trimestres e obtiveram os dados do nascimento por meio de banco de dados nacionais. Nesse estudo, os poluentes NO₂ e MP₁₀ foram estimados, combinando estações fixas de monitoramento de ar e modelos de dispersão da poluição usando o endereço residencial. O período de exposição avaliado foi sempre da concepção até a data das

ultrassonografias, que foram realizadas em cada trimestre da gestação. Foram observadas associações negativas entre a exposição ao NO₂ da concepção até o segundo e terceiro trimestres, e o CF, no segundo e no terceiro trimestres, respectivamente, assim como entre a exposição ao NO₂ e MP₁₀ da concepção até o terceiro trimestre e a CC no terceiro trimestre. Em relação aos dados do parto, houve apenas associação negativa entre a exposição aos poluentes e o peso fetal ao nascimento. Van den Hooven et al. também avaliaram efeitos adversos como TPP e PIG, e encontraram associação entre exposição a maiores quartis de poluição de MP₁₀ e TPP e PIG, mas não encontraram nenhuma associação com exposição ao NO₂.

Outro estudo conduzido também na Espanha, em 2012, por Iñiguez et al. ⁽³⁰⁾, estimou a exposição ao NO₂ no endereço residencial, pelo método de "land use regression" para avaliar os efeitos nas medidas ultrassonográficas dos três trimestres da gestação (12^a, 20^a e 32^a semanas) e nos desfechos neonatais em 785 gestantes. Os resultados encontrados foram associação inversa entre exposição ao NO₂, no primeiro trimestre, e as medidas DBP, CA e peso fetal, na 32^a semana, e também associação negativa com o crescimento dos parâmetros DBP, CA, FL e peso fetal entre as 20^a e 32^a semanas. Na 20^a semana, os níveis de NO₂ influenciaram negativamente o DBP e FL. Ademais, a exposição ao NO₂, antes da 20^a semana, mostrou associação negativa com o comprimento e a CC ao nascimento.

Por fim, o mais recente dos seis estudos foi realizado por Ritz et al., nos Estados Unidos da América, que avaliaram 566 gestantes e mediram a exposição a diversos poluentes por meio de métodos de dispersão (NO_x), de "land use regression" (NO, NO₂ e NO_x) e de estações fixas de monitoramento do ar (NO₂, CO, O₃ e MP₁₀). Foi observado que, para cada aumento de faixa de interquartil de NO, NO₂ e NO_x, entre as 29^a e 37^a semanas, medido por "land use regression" e modelo de dispersão, ocorreu

diminuição de 0,2 a 0,3 mm no DBP medido na 37^a semana. Nas gestantes que moravam a 0,5 km da estação fixa de monitoramento, foi constatada diminuição de 0,9 a 1,0 mm no DBP para cada aumento da faixa interquartil de NO₂ e CO no terceiro trimestre. Não houve nenhuma associação das outras medidas ultrassonográficas (CC, CA e FL) com os poluentes avaliados ⁽³²⁾. Segue abaixo as tabelas 1 e 2 com os dados dos seis estudos referentes apenas às exposições ao NO₂ e ao O₃, respectivamente.

Tabela 1 - Avaliação do impacto do NO₂ nas medidas ultrassonográficas fetais

Primeiro autor	Ano	n	Método de poluição	Trimestre avaliado	Trimestre influenciável	Resultado
Hansen	2008	15623*	estações fixas	1 e 2	-	-
Aguilera	2010	562	"land use regression"	1, 2 e 3	-	-
Van den Hooven	2011	7772	estações fixas e modelos de dispersão	1, 2 e 3	1, 2 e 3	Menores CF e CC
Iñiguez	2012	785	"land use regression"	1, 2 e 3	1 e 2	Menores DBP, CA, Fl e peso fetal
Ritz	2014	566	estações fixas e "land use regression"	2 e 3	3	Menor DBP

n: número de gestantes; n*: número de ultrassonografias realizadas

Tabela 2 - Avaliação do impacto do O₃ nas medidas ultrassonográficas fetais

Primeiro autor	Ano	n	Método de poluição	Trimestre avaliado	Trimestre influenciável	Resultado
Hansen	2008	15623*	estações fixas	1 e 2	1	Menor CA
Ritz	2014	566	estações fixas	2 e 3	-	-

n: número de gestantes; n*: número de ultrassonografias realizadas;

3.4 Influência da poluição na hemodinâmica feto-placentária

Em relação à investigação do efeito da poluição atmosférica sobre a dopplervelocimetria materno-fetal, há apenas um estudo publicado. Van den hooven et al. ⁽⁴³⁾, em 2012, seguindo a mesma coorte de gestantes mencionada anteriormente, investigaram também os efeitos do NO₂ e MP₁₀ sobre o IP das artérias uterinas e umbilicais medido no segundo e terceiro trimestres da gestação. Não houve associações consistentes entre essas medidas e a poluição; foi observado que maior exposição a MP₁₀, nos dois meses antes do segundo trimestre e da concepção até o segundo trimestre, teve associação positiva significativa com menores valores de IP da artéria umbilical, no segundo trimestre, que foi o contrário ao esperado pelos autores. Por outro lado, foi observada associação positiva, mas não significativa, entre incisura uterina bilateral, no terceiro trimestre, e exposição a MP₁₀ e NO₂, duas semanas e dois meses antes do exame ⁽⁴³⁾. Também foram avaliados os fatores placentários "placental growth factor" (PlGF) e "soluble fms-like tyrosine kinase-1" (sFlt-1), que são, respectivamente, fatores pró e antiangiogênicos, e os resultados encontrados foram contraditórios. No segundo trimestre, altos níveis de NO₂ e MP₁₀ foram associados a baixos níveis de sFlt-

1 no sangue materno, porém ao nascimento, a maior exposição à poluição foi associada a altos níveis de sFlt-1 e baixos níveis de PlGF no sangue de cordão, ou seja, a poluição teve um perfil antiangiogênico, apenas no momento do parto, e não durante a gravidez, nesse estudo.

Há também um estudo realizado com animais, citado anteriormente, em que ratos foram mantidos em câmaras expostas e não expostas à poluição com o uso de um filtro, câmaras essas situadas no mesmo local e nas mesmas condições ambientais. Os cordões umbilicais dos ratos expostos à poluição foram menores em volume devido à perda de tecido conjuntivo mucoide e à diminuição de colágeno. Essas mudanças estruturais dos vasos do cordão também tiveram associação com regiões de maior imunorreatividade identificadas por meio de marcadores de estresse oxidativo (isoprostanos) e de tônus vascular (ET_A R e ET_B R). O comprometimento do desenvolvimento fetal demonstrado pela diminuição do peso ao nascimento dos ratos que foram expostos à poluição pode ser explicado pelo desbalanço entre o tônus vascular e o estresse oxidativo nos vasos, associado às alterações estruturais do cordão umbilical ⁽²⁴⁾.

CASUÍSTICA E MÉTODO

Este estudo fez parte de uma coorte prospectiva chamada ProcriAR, que tem por objetivos gerais avaliar os efeitos da poluição atmosférica nas saúdes materno-fetal e respiratória da criança. O projeto ProcriAR foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) sob o número 132/10 (Anexo 7.1) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Secretaria Municipal da Saúde da Prefeitura da cidade de São Paulo sob o número CAEE: 0205.0162.162-10, parecer número 138/11 . Este projeto é parte integrante do Instituto Nacional de Análise Integrada de Risco Ambiental (INAIRA) e teve participação do financiamento oriundo do edital 15/2008 - CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) /FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) - INAIRA - processo 2008/57717-6 . O projeto teve também financiamento da FAPESP sob o processo número 2009/17315-9.

Todos os dados obtidos neste estudo foram inseridos em um site (www.procriarsp.com.br) pelos diversos participantes. Além disso, foi criado um logotipo que facilitasse a identificação do projeto pelas gestantes e pelo restante dos pesquisadores (Figura 1). Participaram deste projeto: médicos, nutricionistas, biomédicos e alunos de pós-graduação, além de funcionários do Ambulatório de Pré-Natal da Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) e de quatro Unidades Básicas de Saúde (UBS) da região do Butantã.

Figura 1 - Logotipo do projeto ProcriAR

4.1 Desenho do estudo

Este subprojeto foi um estudo prospectivo longitudinal aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMUSP sob o número 193/11 (Anexo 7.1). Entre abril de 2011 e dezembro de 2013, 453 gestantes que residiam na zona oeste da cidade de São Paulo e que pertenciam ao Distrito Saúde Escola do Butantã foram recrutadas nas UBSs Jardim Boa Vista, Jardim São Jorge, Paulo VI e Vila Dalva. Essas mulheres, quando recebiam o teste de gravidez positivo na UBS, após receberem explicação sobre o projeto ProcriAR, eram questionadas se gostariam de participar. As que concordavam, recebiam uma visita do agente comunitário de saúde na residência, onde assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo 7.2). Após isso, as gestantes recebiam um cartão do projeto ProcriAR com a data da primeira avaliação no HCFMUSP, assim como um bilhete único para auxílio nas despesas de transporte público. Nesse mesmo momento, as gestantes respondiam questionários de identificação e sobre sua saúde. Eram também orientadas e instruídas sobre os procedimentos a que seriam submetidas durante a gestação, como ultrassonografia, coleta de sangue e espirometria. A assistência pré-natal foi realizada na UBS de origem.

Na primeira avaliação, no HCFMUSP, antes da realização da ultrassonografia, foram aplicados questionários sobre o nível de escolaridade, tabagismo ativo, consumo de álcool, cor, paridade, estado civil, entre outros. Peso e altura maternos foram medidos duas vezes, nesse mesmo momento, e a média de ambos foi utilizada para calcular o IMC. A figura 2 mostra a dinâmica do projeto.

Figura 2 - Dinâmica do projeto ProcriAR

4.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão no projeto foram:

- Ter sido incluída no projeto ProcriAR;
- Ausência de doenças maternas;
- Idade gestacional inferior a 16 semanas na primeira ultrassonografia;
- Os APISs deveriam estar dentro do prazo de validade e em condições adequadas para análise.

4.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão do projeto foram:

- Diagnóstico de abortamento ou morte fetal durante o acompanhamento;
- Diagnóstico de malformações fetais durante o acompanhamento;
- Doenças diagnosticadas durante a gestação como doença hipertensiva específica da gravidez ou diabetes gestacional;
- Desistência de participação do estudo.

4.4 Tamanho amostral

A amostra do projeto principal foi de 400 gestantes. Este subprojeto é parte de uma amostra secundária dentro do estudo principal.

4.5 Exposição à poluição do ar

Cada gestante usou um API, que media os poluentes NO_2 e O_3 , três vezes durante a gravidez, no primeiro, segundo e terceiro trimestres. Os API's foram preparados no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental (LPAE), do Departamento de Patologia da FMUSP, sendo então encaminhados às UBS's. Nas UBS's, os API eram entregues pelas coordenadoras de campo aos agentes comunitários de saúde, que levavam os amostradores às residências das gestantes, orientando o seu uso correto. As gestantes usavam o API, acoplado à roupa ou bolsa, durante todo o dia, e à noite deixava-o ao lado da cama, sendo a média de uso do amostrador de 7 a 18 dias (Figura 3). Após esse período, elas devolviam os API no mesmo local em que realizavam o exame de ultrassonografia, na Clínica Obstétrica do HCFMUSP. Os APIs eram, então, enviados ao LPAE onde eram desmontados e armazenados até a análise.

Figura 3 - API pronto para ser embalado

Os poluentes NO_2 e O_3 foram selecionados como marcadores de exposição à poluição do ar, neste estudo, devido às características desses poluentes. O NO_2 é

produzido por quase todos os processos de combustão e correlaciona-se bem com outros poluentes primários, tais como MP e CO na cidade de São Paulo ⁽⁶⁵⁾. O O₃ representa um bom estimador da exposição aos poluentes gerados por processos fotoquímicos. Dessa forma, NO₂ e O₃ foram considerados, neste estudo, como estimadores de proxy da mistura complexa que compõe a poluição urbana.

4.6 Técnica de preparo dos filtros do API

Os filtros de NO₂ eram extraídos em até 24 horas após a entrega, sendo analisados por espectrofotometria, caso não pudessem ser analisados naquele momento, eram congelados durante um período de duas semanas ^(61, 66) (Figura 4). Os filtros de O₃ podiam ser analisados em qualquer momento após a exposição, sendo então calculada a diferença entre a reflectância final e inicial dos filtros, que foram medidos, respectivamente, antes e após a exposição ^(60, 67) (Figura 5). Todos os API continham dois filtros de NO₂ e dois de O₃, sendo o valor final da exposição a cada poluente a média final dos dois filtros. Os resultados para o NO₂ e O₃ foram expressos como médias diárias, e as unidades foram $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Figura 4 - Comparação visual entre os filtros de NO_2 antes e após a exposição. Filtros não danificados.

Figura 5 - Comparação visual entre os filtros de O_3 antes e após a exposição. Filtros não danificados

4.7 Cálculo da idade gestacional

A idade gestacional foi estimada pela data da última menstruação e confirmada por ultrassonografia realizada no primeiro trimestre ou no início do segundo trimestre.

4.8 Ultrassonografia

Os aparelhos de ultrassonografia utilizados foram Voluson (E8, Pro e Expert) e Toshiba, equipados com transdutor convexo. Todas as pacientes realizaram os exames morfológicos de primeiro e segundo trimestres. Os exames de terceiro trimestre foram realizados majoritariamente pela mesma pessoa (MAC) com a paciente em posição semifowler para evitar hipotensão postural ⁽⁶⁸⁾. No momento da ultrassonografia de terceiro trimestre, todos os cartões de pré-natal eram checados para verificar resultados de sorologias, glicemia de jejum e medidas da pressão arterial.

As avaliações ultrassonográficas fetais realizadas no terceiro trimestre de gravidez incluíram: avaliação da morfologia fetal, avaliação do sexo fetal, medidas antropométricas (DBP, CC, CA, CF), ILA e dopplervelocimetria das artérias umbilicais, ACM e uterinas direita e esquerda. Para a medida do DBP, foi obtido um corte axial transversal do polo cefálico ao nível dos tálamos e do cavum do septo pelúcido. O DBP foi medido a partir da superfície externa da tábua do crânio mais próxima ao transdutor até a margem interna da tábua craniana oposta. A medida da CC fetal foi calculada por meio da fórmula automática do perímetro de um círculo: $CC = (D1 + D2) \times 1,57$, onde D1 corresponde ao DBP e D2, ao diâmetro occipitofrontal, medido a partir das superfícies externas das tábuas cranianas no sentido anteroposterior do polo cefálico ⁽⁶⁹⁾. A medida da CA foi obtida a partir de uma imagem axial transversal do abdome fetal ao nível do fígado, sendo necessária a visualização do estômago e da junção da veia umbilical com o seio portal. Foi obtido o diâmetro transversal do abdome (D1) e o diâmetro anteroposterior (D2), e então convertido em elipse pela fórmula automática do cálculo do perímetro de um círculo: $CA = (D1 + D2) \times 1,57$ ⁽⁶⁹⁾. Para a realização da

medida do CF, o transdutor foi alinhado paralelamente ao eixo longitudinal do osso, medindo apenas a porção ossificada da diáfise, sem incluir a epífise ^(70, 71).

O peso fetal foi calculado usando as medidas DBP, CC, CA e FL de acordo com a fórmula matemática proposta por Hadlock ⁽⁷²⁾. O volume de líquido amniótico foi medido como descrito por Phelan et al. ⁽⁷³⁾. A dopplervelocimetria das artérias umbilical, ACM e uterinas foi obtida para avaliar o bem-estar fetal e a resistência vascular da placenta. Para assegurar a obtenção de sonogramas adequados das artérias umbilicais e da ACM, foram necessárias pelo menos três ondas consecutivas semelhantes, sem movimentos fetais e respiratórios. O mapeamento colorido do fluxo sanguíneo foi usado para identificar as artérias e o Doppler pulsátil, com a imagem congelada, para calcular os índices dos sonogramas. Para a avaliação da artéria umbilical, a janela de Doppler pulsátil foi colocada sobre a artéria com um ângulo inferior a 30 graus e o segmento de artéria umbilical insonado foi obtido próximo à inserção da placenta ⁽⁷⁴⁾. Para a avaliação da ACM, a janela do Doppler pulsátil foi posicionada, na maioria das vezes, próxima do ângulo 0, sendo o máximo aceitável de 10 graus. A ACM é encontrada ao posicionar o transdutor em um corte transversal do polo cefálico em nível dos tálamos, inclinar o transdutor no sentido caudal (occipício), permitindo a visualização da ACM, desde o Polígono de Willis até a fissura de Sylvius. O "caliper" foi posicionado no terço inicial e porção média da ACM ⁽⁷⁵⁾. Por último, a insonação das artérias uterinas direita e esquerda foi obtida, medialmente, após o cruzamento dessas com as respectivas artérias ilíacas externas.

O índice da dopplervelocimetria adotado para as artérias umbilicais, ACM e artérias uterinas foi o IP, que é a relação do resultado da diferença entre a velocidade sistólica e a diastólica, pela velocidade média ⁽⁷⁶⁾. Para o cálculo do IP das artérias uterinas foi utilizada a média do IP das uterinas esquerda e direita. As figuras abaixo (6

a 12) mostram exemplos de medidas ultrassonográficas (CC, FL, CA e ILA) e da obtenção dos sonogramas das artérias umbilical, cerebral média e uterinas.

Figura 6 - Medida da CC

Figura 7 - Medida do FL

Figura 8 - Medida da CA

Figura 9 - Medida do ILA

Figura 10 - Sonograma da artéria umbilical

Figura 11 - Sonograma da ACM

Figura 12 - Sonograma da artéria uterina direita

4.9 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram apresentadas como média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo; e as variáveis qualitativas, como n e percentagem. Para testar a normalidade dos dados quantitativos foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Além disso, o coeficiente de correlação de Pearson foi adotado para quantificar a associação entre duas variáveis quantitativas.

O modelo de regressão linear múltipla ⁽⁷⁷⁾ foi utilizado para avaliar a influência do NO₂ e O₃, em cada trimestre da gravidez, sob as variáveis de desfecho, controle de idade materna, no momento da concepção, IMC, paridade (nulípara ou multípara), tabagismo ativo (sim ou não), consumo de álcool (sim ou não), cor (branca ou não branca), o mais alto nível de escolaridade completado (primário, secundário ou universitário) e estado civil (casada/união estável ou divorciada/viúva/solteira), idade gestacional no exame de ultrassonografia de terceiro trimestre e sexo fetal. As variáveis de desfecho analisadas foram: DBP, CC, CA, CF, peso fetal, ILA, IP das artéria

umbilical, ACM, média do IP das artérias uterinas direita e esquerda. Todas as variáveis de desfecho foram transformadas em log para obter distribuição normal.

No processo de modelagem do método de regressão linear múltipla foram feitos vários ajustes, levando-se em consideração as variáveis de controle, a fim de avaliar os seus efeitos individualmente e em conjunto com outras variáveis. Posteriormente, como resultado, apresentamos o modelo final com apenas as variáveis que foram significativas (valor de $p < 0,05$). É importante ressaltar que o tamanho da amostra não foi o mesmo para todos os modelos ajustados devido à presença de valores faltantes das variáveis incluídas no modelo.

A análise de resíduos do modelo ajustado foi realizada para verificar se os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade foram satisfatórios por meio do gráfico de resíduos versus valores previstos, e não houve nenhuma evidência de violação em todos os modelos. Além disso, a análise de valores extremos foi realizada para verificar se houve pontos que influenciaram individualmente o modelo ajustado. Após isso, o modelo foi ajustado sem esses pontos e nenhuma dessas observações mudou a inferência. Foram apresentados também os resultados que mostraram os coeficientes não padronizados com os respectivos IC 95%, p-valores e coeficientes padronizados, a fim de identificar qual variável controle mais influenciou a variável desfecho.

O programa estatístico utilizado foi IBM SPSS versão 21.

RESULTADOS

Quatrocentas e cinquenta e três mulheres foram recrutadas, dessas 67 (14.3%) foram excluídas pelos seguintes motivos: 10 tiveram aborto, 43 desistiram do estudo por razões pessoais, uma foi infectada pelo vírus da rubéola, outra teve um acidente vascular cerebral durante a gestação, seis pacientes desenvolveram doença hipertensiva específica da gravidez, cinco desenvolveram diabetes gestacional e um feto foi diagnosticado com espinha bífida.

As características maternas, fetais e da dopplervelocimetria, na avaliação de terceiro trimestre ($n = 386$), estão apresentadas nas tabelas 3 e 4. A média e a mediana dos poluentes, assim como os coeficientes de correlação de cada poluente entre os três trimestres da gestação estão apresentados na tabela 5. Nela, pode-se notar que não houve alta correlação entre os diferentes trimestres da gestação para cada poluente avaliado. Além disso, a correlação entre os poluentes NO_2 e O_3 também foi fraca (tabela 6).

Tabela 3 – Características maternas na avaliação de 3º trimestre (n = 386)

	Média ± DP / n (%)	Mediana (Mínimo – Máximo)
Características maternas		
Idade materna* (anos)	25,10 ± 6,41	25 (13 – 48)
IMC (kg/m²)	25,57 ± 5,06	24,89 (16,32 – 45,15)
Paridade		
Nulípara	195 (50,50)	-
Múltipara	189 (49)	-
Desconhecida	2 (0,50)	-
Tabagismo		
Não	332 (86)	-
Sim	54 (14)	-
Consumo de álcool		
Não	341 (88,30)	-
Sim	42 (10,90)	-
Desconhecido	3 (0,80)	-
Cor		
Branca	151 (39,10)	-
Negra/parda	231 (59,80)	-
Desconhecida	4 (1)	-

continua

Conclusão: Tabela 3 - Características maternas na avaliação de 3º trimestre (n = 386)

	Média ± DP / n (%)	Mediana (Mínimo – Máximo)
Maior nível educacional		
completado		
Primário	175 (45,30)	-
Secundário	192 (49,70)	-
Universitário	16 (4,10)	-
Desconhecido	3 (0,80)	-
Estado civil		
Casado/União consensual	226 (58,50)	-
Outros (Solteiro; Divorciado; Viúvo)	158 (40,90)	-
Desconhecido	2 (0,50)	-

DP: Desvio-padrão; * Idade materna na concepção.

Tabela 4 – Características fetais e da dopplervelocimetria na avaliação de 3º trimestre

(n = 386)

	Média ± DP / n (%)	Mediana (Mínimo – Máximo)
Características fetais		
Idade gestacional (semanas)	31,76 ± 0,99	31,57 (28,14 – 36,57)
Diâmetro biparietal (mm)	79,72 ± 4,06	79,60 (69,50 – 94,20)
Circunferência cefálica (mm)	287,61 ± 12,07	287 (253,10 – 340,50)
Circunferência abdominal (mm)	275,54 ± 17,34	275 (233,10 – 344)
Comprimento do fêmur (mm)	60,50 ± 3,06	60,30 (50,20 – 69,80)
Peso fetal (g)	1815,13 ± 281,70	1781,50 (1092 – 3107)
ILA (cm)	13,99 ± 2,65	13,80 (7,97 – 25,16)
Sexo fetal		
Masculino	178 (46,10)	-
Feminino	188 (48,70)	-
Desconhecido	20 (5,20)	-
Características da dopplervelocimetria		
IP_umbilical	0,92 ± 0,15	0,92 (0,53 – 1,49)
IP_ACM	2,10 ± 0,34	2,08 (0,84 – 3,04)
IP_artérias uterinas	0,75 ± 0,24	0,70 (0,37 – 2,14)

DP: Desvio-padrão; ILA: Índice de líquido amniótico; IP: Índice de pulsatilidade; ACM: Artéria cerebral média.

Tabela 5 – Médias e medianas dos poluentes ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) e coeficientes de correlação de Pearson entre os diferentes trimestres de cada poluente

Poluentes	Média $\pm$	Mediana	Coeficientes de Correlação de Pearson		
	DP	(Mínimo – Máximo)			
NO₂			Trimestre 1	Trimestre 2	Trimestre 3
($\mu\text{g}/\text{m}^3$)					
Trimestre 1	42,01 $\pm$ 16,01	41,35 (7,12 – 108,28)	1	0,35	0,37
Trimestre 2	38,99 $\pm$ 16,45	38,71 (2,91 – 96,90)	-	1	0,38
Trimestre 3	36,75 $\pm$ 18,29	37,20 (3,39 – 105,19)	-	-	1
O₃ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)					
Trimestre 1	8,23 $\pm$ 0,99	8,13 (5,26 – 13,79)	1	-0,01	0,07
Trimestre 2	8,33 $\pm$ 1,45	8,10 (4,67 – 22)	-	1	0,17
Trimestre 3	8,11 $\pm$ 1,23	8,05 (4,72 – 16,17)	-	-	1

DP: Desvio-padrão; NO₂: Dióxido de nitrogênio; O₃: Ozônio.

Tabela 6 – Coeficientes de correlação de Pearson entre os poluentes NO₂ e O₃ nos diferentes trimestres

Coeficientes de Correlação de Pearson			
	NO₂ trimestre 1	NO₂ trimestre 2	NO₂ trimestre 3
O₃ trimestre 1	0,13	-0,07	0,06
O₃ trimestre 2	0,07	0,23	0,03
O₃ trimestre 3	0,16	0,16	0,30

NO₂: Dióxido de nitrogênio; O₃: Ozônio.

5.1 Biometria fetal

Houve associação negativa entre a exposição ao O₃ no primeiro trimestre e o perímetro cefálico no terceiro trimestre. Contudo, a exposição ao NO₂ no primeiro trimestre teve uma associação positiva com o perímetro cefálico no terceiro trimestre. As medidas do DBP, CA e CF, assim como o peso fetal não apresentaram associações com NO₂ e O₃. Além disso, deve-se notar que, como esperado, o tabagismo teve influência negativa em todas as medidas do crescimento fetal. As associações entre os poluentes e os parâmetros de crescimento fetal, avaliadas pela ultrassonografia, podem ser vistas na tabela 7.

Tabela 7 – Estimativas dos coeficientes e valores de p da biometria fetal do modelo de regressão linear

Variáveis (Log Transformada)	Covariáveis	Beta	95% IC	Beta*	p-Valor
Diâmetro biparietal	Idade	0,028	0,024,	0,532	< 0,001
	gestacional		0,032		
	Tabagismo	-0,026	-0,039, -	-0,176	< 0,001
			0,014		
	Sexo fetal = feminino	-0,016	-0,025, -	-0,158	< 0,001
			0,008		
Circunferência cefálica	NO ₂ trimestre 1	2,5 x 10 ⁻⁴	2 x 10 ⁻⁵ ,	0,093	0,033
			4,8 x 10 ⁻⁴		
	O ₃ trimestre 1	-0,005	-0,008, -	-0,111	0,012
			0,001		
	Idade	0,024	0,021,	0,554	< 0,001
	gestacional		0,028		
	Tabagismo	-0,016	-0,027, -	-0,129	0,003
			0,005		
	Consumo de álcool	0,012	4,9 x 10 ⁻⁴ ,	0,089	0,041
			0,023		
	Sexo fetal = feminino	-0,018	-0,025, -	-0,218	< 0,001
			0,011		

continua

Continuação: Tabela 7 –Estimativas dos coeficientes e valores de p da biometria fetal do modelo de regressão linear

Variáveis (Log Transformada)	Covariáveis	Beta	95% IC	Beta*	p-Valor
Circunferência abdominal	Idade	0,041	0,036,	0,649	< 0,001
	gestacional		0,046		
	Tabagismo	-0,017	-0,030, - 0,004	-0,097	0,010
	Idade materna	0,002	0,001, 0,002	0,174	< 0,001
	IMC	0,001	1,5 x 10 ⁻⁴ , 0,002	0,087	0,023
Comprimento do fêmur	Idade	0,030	0,026,	0,582	< 0,001
	gestacional		0,034		
	Tabagismo	-0,023	-0,034, - 0,011	-0,154	< 0,001
Peso fetal	Idade	0,110	0,100,	0,718	< 0,001
	gestacional		0,120		
	Tabagismo	-0,055	-0,084, - 0,026	-0,126	< 0,001
	Consumo de álcool	0,037	0,004, 0,069	0,077	0,026
	Idade materna	0,003	0,001, 0,005	0,125	< 0,001

continua

Conclusão: Tabela 7 –Estimativas dos coeficientes e valores de p da biometria fetal do modelo de regressão linear

Variáveis (Log Transformada)	Covariáveis	Beta	95% IC	Beta*	p-Valor
Peso fetal	IMC	0,003	0,001, 0,005	0,092	0,009

IC: Intervalo de confiança; NO₂: Dióxido de nitrogênio; O₃: Ozônio; IMC: Índice de massa corporal; * Beta padronizado.

5.2 Líquido amniótico

O ILA no terceiro trimestre não foi relacionado com a exposição à poluição do ar durante a gravidez. Houve associação inversa com o nível de escolaridade ($p = 0,015$; $\beta = -0,039$; IC 95%, $-0,070 - -0,008$), o que ocorreu apenas quando quatro observações influentes foram removidas.

5.3 Dopplervelocimetria

A exposição ao O₃ no segundo trimestre da gestação foi associada com maiores valores de IP da artéria umbilical. Em outras palavras, para cada aumento de 1 unidade de O₃, no segundo trimestre, era esperado aumento de 0,018 no log do IP da artéria umbilical, no terceiro trimestre, fixadas as covariáveis O₃, no terceiro trimestre, idade gestacional e sexo. Por outro lado, a exposição ao O₃ durante o terceiro trimestre foi associada a menores valores de IP da artéria umbilical.

Não houve associação entre os índices de pulsatilidade da ACM com a poluição do ar. Ademais, a média dos índices de pulsatilidade das artérias uterinas direita e

esquerda não teve associação com qualquer uma das covariáveis, incluindo a poluição do ar. A Tabela 8 mostra a associação entre a dopplervelocimetria das artérias e os poluentes.

Tabela 8 –Estimativas dos coeficientes e valores de p da dopplervelocimetria do modelo de regressão linear

Variáveis (Log Transformada)	Covariáveis	Beta	95% IC	Beta*	p-Valor
IP_umbilical	O ₃ trimestre 2	0,018	0,005, 0,030	0,155	0,006
	O ₃ trimestre 3	-0,022	-0,037, -0,007	-0,164	0,004
	Idade	-0,024	-0,043, -0,005	-0,135	0,015
	Gestacional				
	Sexo fetal = feminino	0,039	0,004, 0,075	0,120	0,031
IP_ACM	Idade	-0,021	-0,039, -0,004	-0,123	0,019
	Gestacional				
	Sexo fetal = feminino	0,036	0,002, 0,070	0,107	0,040
IP_uterinas		-	-	-	-

IC: Intervalo de confiança; IP: Índice de pulsatilidade; O₃: Ozônio; ; ACM: Artéria cerebral média; * Beta padronizado.

DISCUSSÃO

Este estudo foi o primeiro a investigar os efeitos da poluição do ar, nos três trimestres da gravidez, sobre o crescimento fetal e a dopplervelocimetria materno-fetal, utilizando, como método de medição da poluição, a exposição individual materna aos poluentes. Foi observado que houve efeito dos poluentes em dois parâmetros ultrassonográficos fetais avaliados, na CC e no IP da artéria umbilical.

6.1 Biometria fetal

No presente estudo, concentrações mais elevadas de O_3 no primeiro trimestre foram associadas com menor CC no terceiro trimestre, ou seja, houve influência negativa da exposição ao O_3 na CC. Este achado não tem paralelo na literatura, pois apenas dois estudos anteriores examinaram a associação entre O_3 e parâmetros de crescimento fetal, e ambos usaram estações fixas de monitoramento do ar, ao invés de monitoramento individual. Esses estudos não encontraram efeito consistente da exposição ao O_3 no crescimento do polo cefálico^(28, 32). Contudo, sabe-se que os valores de poluentes medidos de forma individual são mais confiáveis que os medidos por meio de estações fixas^(33, 35). Desse modo, os níveis de O_3 estimados nesses estudos podem não refletir os verdadeiros níveis de O_3 , aos quais as gestantes foram expostas. Além disso, assim como o O_3 , neste estudo, outros poluentes, como o benzeno e MP_{10} , influenciaram negativamente o crescimento da CC durante a gestação^(29, 31).

Em relação ao método de medição da exposição à poluição, ou seja, ao uso de APIs, este estudo pode ser comparado com apenas um na literatura. Slama et al.⁽²⁹⁾, seguindo uma coorte de 271 gestantes não tabagistas, observaram que a CC sofreu influência negativa do benzeno, que foi utilizado em seu estudo como proxy da exposição ao tráfego de veículos, porém a exposição à poluição foi avaliada, somente

durante 7 dias, em apenas um momento da gestação (27^a semana). Dessa forma, não foi possível verificar a variabilidade da exposição à poluição durante a gestação e qual seria a janela crítica de exposição que mais afetaria o desenvolvimento fetal. Ademais, há apenas dois estudos na literatura que investigaram a associação entre o benzeno e os desfechos neonatais, e esses estudos foram conduzidos utilizando somente a exposição ocupacional à poluição ^(78, 79).

Sabe-se que a CC tem associação direta com o volume cerebral em neonatos ⁽⁸⁰⁾ e que o padrão de crescimento cefálico reduzido na vida intrauterina pode ter associação com déficits cognitivos na infância ⁽⁸¹⁾. No entanto, as possíveis consequências a longo prazo dos efeitos da poluição na CC e no volume cerebral são de difícil determinação. Alguns estudos investigaram a associação entre a exposição à poluição na vida intrauterina e o desenvolvimento cognitivo na infância. Perera et al. ⁽⁸²⁾ avaliaram 249 crianças e observaram que gestantes expostas a altos níveis de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), na cidade de New York, tiveram filhos com menores índices de inteligência, aos 5 anos de idade, quando comparados com os filhos de gestantes expostas a baixos níveis de HAPs. Em outro estudo, conduzido na Polônia, com uma coorte de 214 crianças de 5 anos de idade, também foram constatados menores índices de inteligência nos filhos de gestantes expostas a altos níveis de HAPs ⁽⁸³⁾. Ainda, Peterson et al. ⁽⁸⁴⁾, em 2015, observaram associação direta entre elevados níveis de exposição a HAPs, no terceiro trimestre da gestação, e redução na superfície da substância branca cerebral, no final da infância, principalmente no hemisfério esquerdo do cérebro, avaliado por ressonância magnética. A redução da substância branca no hemisfério esquerdo foi associada ao processamento mais lento de informações, durante testes de inteligência, e a problemas comportamentais, incluindo déficit de atenção, hiper-reatividade e transtorno de conduta. Dessa forma, a exposição

ao O₃ no primeiro trimestre poderia causar alterações na arquitetura cerebral, refletindo na redução da CC observada em nosso estudo.

Em contraste, no presente estudo, a exposição ao NO₂ no primeiro trimestre teve um efeito positivo inesperado na CC. Alguns estudos anteriores não observaram associação entre exposição ao NO₂ e a CC avaliada durante a vida intrauterina. Em Brisbane, Austrália, Hansen et al. ⁽²⁸⁾ não encontraram associação entre a exposição ao NO₂ nos primeiros 4 meses da gestação e os parâmetros ultrassonográficos como DBP, CC, CA e FL, utilizando estações fixas de monitoramento do ar. Além desse estudo, Aguilera et al. ⁽²⁷⁾, na Espanha, usando o método de "land use regression", tampouco encontraram associação com os parâmetros da biometria fetal avaliados, exceto quando a análise foi restrita às gestantes que passavam menos de 2 horas em locais abertos não residenciais. Contudo, em outros dois estudos, realizados com parâmetros ultrassonográficos fetais, foi observado que a exposição ao NO₂ causou menor CC ^(30, 31). Em relação aos efeitos dos poluentes O₃ e NO₂ na CC avaliadas no terceiro trimestre, no presente estudo, é importante ressaltar que a influência do O₃ em diminuir a CC (beta padronizado = -0,111) foi maior que a influência do NO₂ em aumentar a CC (beta padronizado = 0,093), ou seja, comparando os dois poluentes avaliados, houve preponderância do efeito negativo da poluição na CC.

Os demais parâmetros biométricos avaliados no terceiro trimestre, como DBP, CA, FL e o peso fetal estimado, não sofreram influência dos poluentes O₃ e NO₂. Um dos possíveis motivos de isso ter ocorrido é que as gestantes recrutadas são moradoras da mesma região de São Paulo e a maioria tem estilo de vida semelhante (tabela 3). Dessa forma, para observar determinados efeitos dos poluentes, seria necessário uma diferença maior de exposição no grupo de gestantes avaliado.

Diversos mecanismos biológicos têm sido estudados para explicar de que forma a poluição do ar afeta o crescimento fetal. Em 2012, Janssen et al. ⁽⁸⁵⁾ observaram que a exposição ao MP₁₀, durante o último mês de gestação, foi associada com menor conteúdo de DNA mitocondrial placentário, o que pode refletir a ocorrência de estresse oxidativo. Em 2014, Nagiah et al. ⁽⁸⁶⁾ constataram que 26 genes, relacionados ao estresse oxidativo, foram regulados de forma diferente quando mulheres grávidas foram expostas a elevados níveis de poluentes do ar. A placenta, órgão de troca entre o feto e a mãe, também pode ser afetada pela poluição, influenciando o crescimento fetal. Veras et al. ⁽⁸⁷⁾ compararam ratos expostos e não expostos à poluição, antes e durante a gestação, a fim de investigar os efeitos da poluição na morfologia e função da placenta. Foi observado que, quando houve exposição à poluição, no período pré-gestacional, notou-se aumento significativo na área de superfície capilar fetal e na área total e específica de condutância, porém, o diâmetro interno dos espaços de sangue materno da placenta foi reduzido. Durante a gestação, a exposição à poluição foi associada com menores volumes, menores diâmetros internos e reduzidas áreas de espaços de sangue materno placentários, porém houve maior superfície de capilares fetais e de condutância difusora. Os resultados indicaram que a poluição atmosférica afetou a morfologia funcional placentária e também o peso fetal, apesar de tentativas para melhorar o transporte de difusão pela placenta ⁽⁸⁷⁾.

É mister ressaltar que o tabagismo influenciou negativamente todas as medidas ultrassonográficas (CC, DBP CA, FL e peso fetal), conforme pode ser observado na tabela 6. Diversos estudos já comprovaram os efeitos deletérios do tabagismo, durante a gestação, no desenvolvimento fetal ⁽⁸⁸⁻⁹²⁾. Alguns estudos têm investigado os mecanismos subjacentes. Garrabou et al. ⁽⁹³⁾ observaram que a redução do peso ao nascimento está associada ao dano mitocondrial. Ademais, Ingvarsson et al. ⁽⁹³⁾

observaram que o impacto negativo do tabagismo materno no peso, comprimento e CC ao nascimento pode ser causado pela diminuição do transporte de oxigênio para o feto e por concentrações reduzidas de insulina e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1.

6.2 Dopplervelocimetria

Esta é a primeira vez que a hemodinâmica materno-fetal foi estudada, utilizando o monitoramento individual do NO_2 e O_3 em todos os três trimestres da gestação. Neste estudo, maior exposição ao O_3 no segundo trimestre foi associada a maiores valores de IP da artéria umbilical, ou seja, a maior resistência fetoplacentária, sempre dentro de valores considerados normais ^(94, 95).

Os mecanismos subjacentes à influência da poluição na dopplervelocimetria ainda não foram muito estudados. Até o momento, apenas van den Hooven et al. ⁽⁴³⁾ investigaram a associação dos poluentes NO_2 e MP_{10} , medidos por estações fixas e modelos de dispersão, com a dopplervelocimetria das artérias umbilicais e uterinas e com a dosagem dos fatores placentários PLGF e sFlt-1, sendo que os resultados encontrados em relação a esses parâmetros foram contraditórios, conforme já mencionado anteriormente. Entretanto, altos níveis de NO_2 e MP_{10} foram associados a baixo peso placentário ao nascimento.

Nesse contexto, um mecanismo possível para explicar o resultado encontrado seria por meio da ação da endotelina. Estudos anteriores observaram que a poluição do ar influenciou no aumento da regulação da endotelina, causando vasoconstrição arterial ^(96, 97). Além disso, Karsdorp et al. ⁽⁹⁸⁾ observaram que, em gestações de alto risco, que apresentavam fluxo diastólico anormal da artéria umbilical (ausente ou reverso), foram

encontrados elevados níveis plasmáticos de endotelina, tanto maternos quanto fetais. Apesar de não haver estudos que dosaram a endotelina em gestantes expostas à poluição e de não ser conhecido por quanto tempo permaneceria a ação desse fator, pode-se supor que a ação vasoconstritora da endotelina seja um dos mecanismos que elucidem a ocorrência de maiores valores de IP da artéria umbilical, em fetos cujas mães foram expostas a elevados níveis de O₃ no segundo trimestre.

Outro mecanismo plausível seriam as alterações na própria morfologia do cordão umbilical causada pela exposição à poluição. Veras et al. ⁽⁸⁷⁾ encontraram, nos cordões umbilicais de ratas prenhas expostas à poluição, alterações estruturais, de tónus e de estresse oxidativo, associadas ao menor peso ao nascimento. Além disso, a ocorrência de menor volume do cordão umbilical nas ratas expostas à poluição poderia contribuir também para maior resistência placentária.

Em contraste, a exposição ao O₃, no terceiro trimestre, influenciou em menores valores de IP da artéria umbilical avaliados no terceiro trimestre, sendo o contrário do que ocorreu durante a exposição ao O₃ no segundo trimestre. Embora não haja nenhum paralelo na literatura para esse achado, algumas possibilidades devem ser discutidas.

O O₃ promove vasodilatação arterial e alguns estudos avaliam sua eficácia no tratamento de doenças isquêmicas e distúrbios circulatórios ⁽⁹⁹⁻¹⁰²⁾. Clavo et al. ⁽¹⁰¹⁾, com o objetivo de avaliar a terapia com O₃ em desordens isquêmicas, realizaram um estudo com sete adultos (cinco portadores de doença vascular cerebral e dois saudáveis). Foi mensurado o fluxo sanguíneo das artérias carótidas e a velocidade sistólica e diastólica da ACM, após terapia com sangue autólogo enriquecido com O₃, durante 3 dias alternados por 1 semana. A dopplervelocimetria dos vasos foi realizada em 3 momentos, antes da terapia, imediatamente após a terapia e 1 semana após a terapia. O fluxo na artéria carótida aumentou 75% em relação ao basal, imediatamente após a

terapia, e aumentou 29%, 1 semana após a terapia. Na ACM, a velocidade sistólica aumentou 22% em relação ao basal, após a sessão de terapia, e 15%, 1 semana após, enquanto a velocidade diastólica aumentou 33% após a sessão de terapia e 18%, 1 semana após. Pôde-se concluir que, em ambos os vasos, houve uma diminuição da resistência vascular após a terapia com O₃ endovenoso, sendo mais acentuado no primeiro momento após a terapia. Na gestação, Andikyan et al. ⁽¹⁰³⁾ observaram placentas macroscopicamente e microscopicamente, após terapia com O₃, em gestantes com insuficiência placentária, entre 39 e 40 semanas, e compararam com um grupo controle de gestantes sem comorbidades, que não foi submetido a essa terapia. As gestantes com insuficiência placentária após terapia com O₃ não apresentaram alteração no tamanho das placentas, porém, após essa terapia, foi constatado aumento, crescimento e diferenciação dos vilos terminais.

Ademais, um estudo experimental observou áreas do centro respiratório localizadas no cérebro de ratos adultos após expô-los, por via inalatória, a 0,5 ppm de O₃, durante 3 horas, e avaliaram por imuno-histoquímica o "vascular endothelial growth factor" (VEGF), que é um fator associado à permeabilidade vascular, à recuperação celular, após lesão cerebral, além de ser um potente estimulador de mitose de células endoteliais. Ao final da exposição e por mais 3 horas após o término dessa, foi observada grande expressão do VEGF. Além disso, a área dos vasos sanguíneos dessa região teve um aumento de 58%, após 3 horas do término da exposição ao O₃ ⁽¹⁰⁴⁾.

A partir desses estudos, podemos postular que o efeito vasodilatador do O₃ ao qual às gestantes estiveram expostas na semana precedente ao exame poderia influenciar na resistência placentária por meio, por exemplo do VEGF placentário, causando menores IPs de artéria umbilical. Este é o primeiro estudo a avaliar a influência da exposição individual ao O₃ na resistência placentária. Assim, mais estudos

são necessários para investigar a influência da exposição ao O₃ na resposta dopplervelocimétrica do território placentário.

Quanto às artéria uterinas, não se observou influência dos poluentes NO₂ e O₃ na média do IP da artéria umbilical. Somente um estudo, até o momento, avaliou as artérias uterinas no contexto da exposição à poluição na gestação e não houve associações significativas ⁽⁴³⁾. Poderia ser esperado, uma maior resistência nas artérias uterinas de gestantes expostas a níveis elevados de poluição. Contudo, como os mecanismos de resposta vascular à poluição na gestação ainda são pouco conhecidos, mais estudos são necessários para verificar os efeitos da poluição na placentação e na hemodinâmica desses vasos.

No presente estudo, não houve influência dos poluentes NO₂ e O₃ na dopplervelocimetria da ACM. Esse resultado foi esperado uma vez que todos os fetos avaliados no terceiro trimestre apresentavam IPs da artéria umbilical dentro da faixa de normalidade e a alteração da ACM é mecanismo compensatório frente a hipóxia fetal ^(105, 106).

6.3 Prevalência do Diabetes Gestacional

Foram excluídas 5 gestantes por diagnóstico de diabetes gestacional no grupo de 453 gestantes recrutadas. Sabe-se que a prevalência de diabetes gestacional pode chegar a 17,8 %, de acordo com os últimos critérios diagnósticos adotados ^(107, 108). Um dos motivos dessa diferença, em relação à literatura, pode ser pelo tipo de rastreamento de diabetes gestacional adotado, uma vez que existem diferentes protocolos de rastreamento ⁽¹⁰⁹⁻¹¹¹⁾. Nas quatro UBS em que foi realizado o pré natal, conforme orientação da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, o rastreamento, entre 24 e 28

semanas, era feito quando a glicemia de jejum do primeiro trimestre fosse maior que 90 ou se a gestante tivesse dois ou mais fatores de risco como idade maior que 35 anos, obesidade, antecedente familiar de Diabetes Mellitus, antecedente de Diabetes Gestacional, entre outros ^(112, 113).

6.4 Correlação entre os poluentes

Quanto aos poluentes avaliados, a correlação entre o NO₂ e O₃ não foi alta (tabela 6). Ritz et al. ⁽³²⁾ avaliaram diferentes poluentes, utilizando como método de exposição as estações fixas e o modelos de "land use regression", e não mostraram quais seriam as correlações específicas entre NO₂ e O₃. Choi et al. ⁽¹¹⁴⁾ avaliaram os poluentes NO₂, O₃, SO₂, MP₁₀, MP_{2,5}, em um período de 2000 a 2010, na cidade de Cracóvia, Polônia, e observaram somente nos dias da semana (segunda a sexta) uma associação inversa entre as concentrações dos poluentes NO₂ e O₃. Segundo o último relatório da CETESB de 2015 ⁽⁴⁸⁾, as concentrações de NO₂ e O₃ não apresentam uma tendência específica na cidade de São Paulo. Conforme mencionado anteriormente, o O₃ é um poluente secundário e o NO₂ participa da formação desse, contudo a maior ou menor produção de O₃ depende também das condições meteorológicas. Em períodos de baixa nebulosidade e pouca chuva, as concentrações de O₃ aumentam, enquanto as concentrações de NO₂ são mais dependentes da emissão veicular ^(34, 48). Dessa forma, é difícil estabelecer uma correlação precisa entre esses poluentes na cidade de São Paulo.

Nesse contexto, sabe-se que a poluição do ar é uma mistura de muitos compostos e um efeito encontrado de um poluente pode ser atribuível a outro, incluindo aqueles não medidos. Um ponto positivo deste estudo é que foi possível avaliar os efeitos de cada poluente, independentemente, uma vez que as correlações não foram

altas entre o NO_2 e O_3 . Além disso, as correlações entre os diferentes trimestres de cada poluente não foram altas também, sendo inclusive baixa entre os períodos de exposição ao O_3 . Esses achados demonstraram que as gestantes dessa coorte tiveram um comportamento diferente ao longo da gestação ⁽¹¹⁵⁾.

O ponto mais forte deste estudo foi o uso do monitoramento pessoal em todos os trimestres da gravidez para avaliar a exposição ao NO_2 e O_3 . Estudos anteriores mostram que entre 22 e 33% das mulheres mudam de endereço residencial durante a gravidez, o que pode levar a resultados errôneos, uma vez que a exposição está sendo avaliada incorretamente ⁽¹¹⁶⁻¹¹⁹⁾. Outra vantagem dos APIs é que, além de medir os poluentes na mesma zona de respiração da gestante, é factível avaliar a exposição à poluição durante as atividades de transporte, trabalho e lazer e em ambientes fechados ⁽³⁵⁾.

6.5 Limites do estudo

Uma limitação do presente estudo foi não ter um grupo controle em uma região com níveis mais baixos de poluição do ar. Como todo o grupo de gestantes vivia na mesma região, os níveis de exposição avaliados eram todos de centro urbano. Entretanto, os APIs avaliam a exposição individual e, mesmo as gestantes que vivem na mesma área podem ter diferentes graus de exposição à poluição dependendo da rotina diária ⁽³⁷⁾. Outra limitação é que o uso do monitoramento pessoal restringe os poluentes mensurados, sendo que apenas o NO_2 e O_3 foram avaliados neste estudo. Por outro lado, esse método aumenta a precisão das medições e, por conseguinte, a precisão das análises dos efeitos desses dois poluentes ^(35, 37-42). Além disso, os APIs são um método barato e fácil de usar e não requerem baterias ou outros dispositivos, servindo como

amostradores portáteis para estimar a exposição à poluição, tanto em ambientes internos quanto externos ^(60, 61).

6.6 Considerações finais

Este estudo abordou questões importantes relacionadas à fisiologia dos efeitos da poluição atmosférica sobre o desenvolvimento e hemodinâmica fetais. Pela primeira vez, foi investigada a associação entre exposição à poluição e avaliação ultrassonográfica fetal na América do Sul e em uma das cidades mais populosas do mundo.

São necessários estudos adicionais para entender melhor quais são os mecanismos subjacentes aos resultados encontrados. Por exemplo, qual tipo de influência exerceriam os fatores placentários PLGF, Sflt-1, VEGF e endotelina ao longo da gestação em mulheres expostas à poluição? Existem mecanismos compensatórios ou de proteção do feto quando há exposição elevada à poluição? Nossos achados apontam para a existência da influência negativa da exposição à poluição no primeiro trimestre no crescimento do polo cefálico. A partir disso, surgem novos questionamentos. Quais seriam as outras janelas críticas da exposição à poluição? A exposição no período pré-concepcional teria também efeitos deletérios?

Esperamos que ao investigar os efeitos causados pelos poluentes, no período intrauterino, tenhamos contribuído minimamente para o debate e para o entendimento desse fenômeno complexo e multifatorial que é a poluição urbana.

CONCLUSÃO

As conclusões deste estudo foram:

- 1- O peso fetal estimado no terceiro trimestre não sofreu influência dos poluentes avaliados.
- 2- O DBP no terceiro trimestre não sofreu influência dos poluentes avaliados.
- 3- A exposição ao O_3 no primeiro trimestre causou menor CC, contudo a exposição ao NO_2 no segundo trimestre foi associada a maior CC.
- 4- A CA não teve influência dos poluentes avaliados.
- 5- A medida do FL não sofreu efeito dos poluentes avaliados.
- 6- O ILA não teve influência dos poluentes avaliados
- 7- Elevados níveis de exposição ao O_3 no segundo trimestre causaram maior resistência placentária no terceiro trimestre, por meio dos IPs da umbilical, porém a exposição a maiores valores de O_3 , no terceiro trimestre, foi associada a menores IPs da umbilical.
- 8- A dopplervelocimetria da ACM não teve influência dos poluentes avaliados.
- 9- A dopplervelocimetria das artérias uterinas não sofreu efeito dos poluentes avaliados.

8.1 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de **10/08/2011**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **193/11** intitulado: **"AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS EXPOSIÇÕES DO BINÔMIO MATERNO-FETAL À POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA NA CIDADE DE SÃO PAULO."** apresentado pelo Departamento de OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, 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: **Rossana Pulcineli Vieira Francisco**

Pesquisador (a) Executante: **Luciana Duzolina Manfré Pastro**

CEP-FMUSP, 16 de Agosto de 2011.

 Prof. Dr. Marcelo Zugaib
 Coordenador do Programa de Pós-Graduação
 Obstetrícia e Ginecologia
 FMUSP

 Prof. Dr. Roger Chammas
 Coordenador
 Comitê de Ética em Pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina
 e-mail: cep_fmusp@hcrnet.usp.br

CIÊNCIA

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 24 de Abril de 2013, **TOMOU CIÊNCIA do(s) documento(s)** abaixo mencionado(s) no Protocolo de Pesquisa nº 193/11, intitulado: "AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS EXPOSIÇÕES DO BINÔMIO MATERNO-FETAL À POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA NA CIDADE DE SÃO PAULO." apresentado pelo **DEPARTAMENTO DE OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA**.

•Inclusão das pesquisadoras Lisandra Stein Bernardes, Karen Hettfleisch e Mariana Azevedo Carvalho.

Pesquisador (a) Responsável: **Rossana Pulcineli Vieira Francisco**

CEP-FMUSP, 29 de Abril de 2013.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – “Impacto das exposições à poluição durante a vida intrauterina e pós-natal sobre a saúde respiratória da criança”

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME:

SEXO : .M ☐ F ☐

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

2.RESPONSÁVEL LEGAL

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

SEXO : .M ☐ F ☐

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

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA **"Impacto das exposições à poluição atmosférica durante a vida intrauterina e pós-natal sobre a saúde respiratória da criança"**

PESQUISADOR: Sandra Elisabete Vieira (Médica pediatra do Instinto da Criança, responsável pelo projeto).

CARGO/FUNÇÃO: Médica - docente. Inscrição no Conselho Regional N°57724

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Pediatria da FMUSP

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	☐	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	x	RISCO MAIOR	☐

3.DURAÇÃO DA PESQUISA : 42 meses

A poluição do ar pode causar problemas respiratórios nas crianças. Este estudo tem o objetivo de analisar os efeitos da poluição do ar respirado pela gestante e pelas crianças no primeiro ano de vida sobre a saúde da mãe, da criança e o desenvolvimento de infecções respiratórias. Queremos analisar a exposição da gestante a gases produzidos por indústrias e automóveis e também à fumaça de cigarro. Para isto, convidamos à senhora e seu filho a participarem deste estudo.

Serão colocados filtros (papel especial) em pequenos crachás entregues durante consultas de rotina ou na sua casa. Os crachás podem ser presos à roupa, bolsa ou sacola para que permaneçam o mais próximo possível do seu corpo por 15 dias seguidos e serão trocados a cada 3 meses durante a gestação. A senhora irá realizar 3 exames de ultrassonografia durante a gravidez. Esse exame será feito de forma rotineira, no Hospital das Clínicas. Para isso o projeto arcará com os custos de sua locomoção ao Hospital das Clínicas. Durante esse exame, serão avaliadas sua frequência cardíaca, pressão arterial e será feito um exame para saber os efeitos da poluição no seu pulmão. Esse exame se chama espirometria. A senhora terá que soprar em um cano (bocal) descartável. Na primeira e na terceira ultrassonografia, serão retirados 10 ml de sangue de sua veia para analisar algumas substâncias que fazem a placenta se desenvolver de forma correta. Caso seja diagnosticado algum problema nos seus exames que precise ser tratado em hospitais, a senhora terá sua consulta agendada no HC ou no HU. Após o nascimento, os crachás deverão permanecer próximos ao bebê, por 15 dias a cada 3

meses, no primeiro ano de vida. A senhora responderá perguntas sobre hábitos de vida, doenças que teve ou tem e sua alimentação. O bebê será acompanhado normalmente na Unidade Básica de Saúde. Durante visitas em sua casa ou, se preferir, durante consultas de rotina serão feitas perguntas sobre a saúde e alimentação do bebê, e medidas de peso e comprimento. Durante o primeiro ano de vida, caso a criança tenha problema respiratório que necessite avaliação médica, como chiado no peito, tosse e febre ou falta de ar, deve procurar o Hospital Universitário onde será atendida e realizará exame da secreção nasal para pesquisar vírus. Este exame é feito rotineiramente no HU nesses casos. Os resultados desta pesquisa serão utilizados para orientar a senhora e sua família sobre as melhores formas para diminuir os efeitos da poluição sobre a saúde e como prevenir infecções respiratórias. Os membros de sua família que forem fumantes e desejarem abandonar esse hábito poderão ser matriculados no grupo antitabágico do HU.

Garantimos a sua liberdade de não assinar ou retirar o consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, mesmo após o seu início, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu atendimento e de seu filho na UBS ou no HU. As informações serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes. Não será divulgada a identificação do paciente. A senhora será mantida atualizada sobre os resultados da pesquisa. Não há despesas adicionais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Comprometemo-nos a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

O principal investigador, neste estudo, é a Dra. Sandra E. Vieira que pode ser encontrada no HU-USP - Av. Lineu Prestes 2565 – Telefone: 3091 9404. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com: Comitê

de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappespq@hcnet.usp.br, ou Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde - R. Gal. Jardim, 36-1 andar - V. Buarque - fone 33972464 - email: smscep@gmail.com.

Acredito ter sido suficientemente informada a respeito do que li ou foi lido para mim, sobre a pesquisa: "Impacto das exposições à poluição atmosférica durante a vida intrauterina e pós-natal sobre a saúde respiratória da criança". Discuti com a Dra Sandra Vieira ou com seu substituto, participante da pesquisa, sobre minha decisão em participar do estudo. Ficaram claros para mim os propósitos do estudo, os procedimentos, desconfortos e riscos, garantias de sigilo, de esclarecimentos permanentes e isenção de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo

_____/____/____

Assinatura do paciente/representante legal

_____/____/____

Assinatura da testemunha

(Para casos de pais menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo

_____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo

REFERÊNCIAS

1. Zhu Y, Lao Y, Jang C, Lin CJ, Xing J, Wang S, et al. Development and case study of a science-based software platform to support policy making on air quality. *J Environ Sci (China)*. 2015;27:97-107.
2. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet*. 2009;374(9691):733-43.
3. Barbosa SM, Farhat SC, Martins LC, Pereira LA, Saldiva PH, Zanobetti A, et al. Air pollution and children's health: sickle cell disease. *Cad Saude Publica*. 2015;31(2):265-75.
4. Arbex MA, Pereira LA, Carvalho-Oliveira R, Saldiva PH, Braga AL. The effect of air pollution on pneumonia-related emergency department visits in a region of extensive sugar cane plantations: a 30-month time-series study. *J Epidemiol Community Health*. 2014;68(7):669-74.
5. Arbex MA, de Souza Conceição GM, Cendon SP, Arbex FF, Lopes AC, Moysés EP, et al. Urban air pollution and chronic obstructive pulmonary disease-related emergency department visits. *J Epidemiol Community Health*. 2009;63(10):777-83.
6. Jacobson LaS, Hacon SeS, de Castro HA, Ignotti E, Artaxo P, Saldiva PH, et al. Acute effects of particulate matter and black carbon from seasonal fires on peak expiratory flow of schoolchildren in the Brazilian Amazon. *PLoS One*. 2014;9(8):e104177.
7. Hamra GB, Guha N, Cohen A, Laden F, Raaschou-Nielsen O, Samet JM, et al. Outdoor particulate matter exposure and lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect*. 2014;122(9):906-11.
8. Hamra GB, Laden F, Cohen AJ, Raaschou-Nielsen O, Brauer M, Loomis D. Lung Cancer and Exposure to Nitrogen Dioxide and Traffic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environ Health Perspect*. 2015.

9. Arbex MA, Saldiva PH, Pereira LA, Braga AL. Impact of outdoor biomass air pollution on hypertension hospital admissions. *J Epidemiol Community Health*. 2010;64(7):573-9.
10. Sørensen M, Lühndorf P, Ketzel M, Andersen ZJ, Tjønneland A, Overvad K, et al. Combined effects of road traffic noise and ambient air pollution in relation to risk for stroke? *Environ Res*. 2014;133:49-55.
11. Klümper C, Krämer U, Lehmann I, von Berg A, Berdel D, Herberth G, et al. Air pollution and cytokine responsiveness in asthmatic and non-asthmatic children. *Environ Res*. 2015;138:381-90.
12. Freitas F, Brucker N, Durgante J, Bubols G, Bulcão R, Moro A, et al. Urinary 1-hydroxypyrene is associated with oxidative stress and inflammatory biomarkers in acute Myocardial Infarction. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(9):9024-37.
13. Barnett AG, Plonka K, Seow WK, Wilson LA, Hansen C. Increased traffic exposure and negative birth outcomes: a prospective cohort in Australia. *Environ Health*. 2011;10:26.
14. Bobak M. Outdoor air pollution, low birth weight, and prematurity. *Environ Health Perspect*. 2000;108(2):173-6.
15. Gehring U, Wijga AH, Fischer P, de Jongste JC, Kerkhof M, Koppelman GH, et al. Traffic-related air pollution, preterm birth and term birth weight in the PIAMA birth cohort study. *Environ Res*. 2011;111(1):125-35.
16. Ha S, Hu H, Roussos-Ross D, Haidong K, Roth J, Xu X. The effects of air pollution on adverse birth outcomes. *Environ Res*. 2014;134:198-204.
17. Hansen C, Neller A, Williams G, Simpson R. Low levels of ambient air pollution during pregnancy and fetal growth among term neonates in Brisbane, Australia. *Environ Res*. 2007;103(3):383-9.

18. Le HQ, Batterman SA, Wirth JJ, Wahl RL, Hoggatt KJ, Sadeghnejad A, et al. Air pollutant exposure and preterm and term small-for-gestational-age births in Detroit, Michigan: long-term trends and associations. *Environ Int.* 2012;44:7-17.
19. Liu S, Krewski D, Shi Y, Chen Y, Burnett RT. Association between gaseous ambient air pollutants and adverse pregnancy outcomes in Vancouver, Canada. *Environ Health Perspect.* 2003;111(14):1773-8.
20. Vinikoor-Imler LC, Davis JA, Meyer RE, Messer LC, Luben TJ. Associations between prenatal exposure to air pollution, small for gestational age, and term low birthweight in a state-wide birth cohort. *Environ Res.* 2014;132:132-9.
21. Romão R, Pereira LA, Saldiva PH, Pinheiro PM, Braga AL, Martins LC. The relationship between low birth weight and exposure to inhalable particulate matter. *Cad Saude Publica.* 2013;29(6):1101-8.
22. Hansen C, Neller A, Williams G, Simpson R. Maternal exposure to low levels of ambient air pollution and preterm birth in Brisbane, Australia. *BJOG.* 2006;113(8):935-41.
23. Pedersen M, Wichmann J, Autrup H, Dang DA, Decordier I, Hvidberg M, et al. Increased micronuclei and bulky DNA adducts in cord blood after maternal exposures to traffic-related air pollution. *Environ Res.* 2009;109(8):1012-20.
24. Veras MM, Guimarães-Silva RM, Caldini EG, Saldiva PH, Dolnikoff M, Mayhew TM. The effects of particulate ambient air pollution on the murine umbilical cord and its vessels: a quantitative morphological and immunohistochemical study. *Reprod Toxicol.* 2012;34(4):598-606.
25. Lee PC, Talbott EO, Roberts JM, Catov JM, Sharma RK, Ritz B. Particulate air pollution exposure and C-reactive protein during early pregnancy. *Epidemiology.* 2011;22(4):524-31.

26. van den Hooven EH, de Kluizenaar Y, Pierik FH, Hofman A, van Ratingen SW, Zandveld PY, et al. Chronic air pollution exposure during pregnancy and maternal and fetal C-reactive protein levels: the Generation R Study. *Environ Health Perspect.* 2012;120(5):746-51.
27. Aguilera I, Garcia-Esteban R, Iñiguez C, Nieuwenhuijsen MJ, Rodríguez A, Paez M, et al. Prenatal exposure to traffic-related air pollution and ultrasound measures of fetal growth in the INMA Sabadell cohort. *Environ Health Perspect.* 2010;118(5):705-11.
28. Hansen CA, Barnett AG, Pritchard G. The effect of ambient air pollution during early pregnancy on fetal ultrasonic measurements during mid-pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2008;116(3):362-9.
29. Slama R, Thiebaugeorges O, Goua V, Aussel L, Sacco P, Bohet A, et al. Maternal personal exposure to airborne benzene and intrauterine growth. *Environ Health Perspect.* 2009;117(8):1313-21.
30. Iñiguez C, Ballester F, Estarlich M, Esplugues A, Murcia M, Llop S, et al. Prenatal exposure to traffic-related air pollution and fetal growth in a cohort of pregnant women. *Occup Environ Med.* 2012;69(10):736-44.
31. van den Hooven EH, Pierik FH, de Kluizenaar Y, Willemsen SP, Hofman A, van Ratingen SW, et al. Air pollution exposure during pregnancy, ultrasound measures of fetal growth, and adverse birth outcomes: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect.* 2012;120(1):150-6.
32. Ritz B, Qiu J, Lee PC, Lurmann F, Penfold B, Erin Weiss R, et al. Prenatal air pollution exposure and ultrasound measures of fetal growth in Los Angeles, California. *Environ Res.* 2014;130:7-13.

33. Setton E, Marshall JD, Brauer M, Lundquist KR, Hystad P, Keller P, et al. The impact of daily mobility on exposure to traffic-related air pollution and health effect estimates. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2011;21(1):42-8.
34. World Health Organization. Principles of characterizing and applying human exposure models. IPCS harmonization project document, no. 3. Geneva: World Health Organization; 2005. p. 74.
35. Steinle S, Reis S, Sabel CE. Quantifying human exposure to air pollution--moving from static monitoring to spatio-temporally resolved personal exposure assessment. *Sci Total Environ*. 2013;443:184-93.
36. Valero N, Aguilera I, Llop S, Esplugues A, de Nazelle A, Ballester F, et al. Concentrations and determinants of outdoor, indoor and personal nitrogen dioxide in pregnant women from two Spanish birth cohorts. *Environ Int*. 2009;35(8):1196-201.
37. Cattaneo A, Taronna A, Garramone A, Peruzzo C, Schlitt C, Consonni D. Comparison between personal and individual exposure to urban air pollutants. *Aerosol Sci Technol*. 2010;44:370-9.
38. Greaves S, Issarayangyun T, Liu Q. Exploring variability in pedestrian exposure to fine particulates (PM_{2.5}) along a busy road. *Atmospheric Environment*. 2008;42(8):1665-76.
39. Gulliver J, Briggs DJ. Personal exposure to particulate air pollution in transport microenvironments. *Atmospheric Environment*. 2004;38(1):1-8.
40. Kaur S, Nieuwenhuijsen M, Colvile R. Personal exposure of street canyon intersection users to PM_{2.5}, ultrafine particle counts and carbon monoxide in Central London, UK. *Atmospheric Environment*. 2005;39(20):3629-41.

41. Piechocki-Minguy A, Plaisance H, Schadkowski C, Sagnier I, Saison JY, Galloo JC, et al. A case study of personal exposure to nitrogen dioxide using a new high sensitive diffusive sampler. *Sci Total Environ*. 2006;366(1):55-64.
42. Wu C-F, Delfino RJ, Floro JN, Quintana PJE, Samimi BS, Kleinman MT. Exposure assessment and modeling of particulate matter for asthmatic children using personal nephelometers. *Atmospheric Environment*. 2005;39(19):3457-69.
43. van den Hooven EH, Pierik FH, de Kluizenaar Y, Hofman A, van Ratingen SW, Zandveld PY, et al. Air pollution exposure and markers of placental growth and function: the generation R study. *Environ Health Perspect*. 2012;120(12):1753-9.
44. World Health Organization. Air quality guidelines. Global update 2005. Particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. 2005.
45. Arbex MA, Santos UdP, Martins LCM, Saldiva PHN, Pereira LAAP, Braga ALF. Air pollution and the respiratory system. *J Bras Pneumol*. 2012;38(5):643-55.
46. Geyh AS, Xue J, Ozkaynak H, Spengler JD. The Harvard Southern California Chronic Ozone Exposure Study: assessing ozone exposure of grade-school-age children in two Southern California communities. *Environ Health Perspect*. 2000;108(3):265-70.
47. Paoletti E, De Marco A, Beddows DC, Harrison RM, Manning WJ. Ozone levels in European and USA cities are increasing more than at rural sites, while peak values are decreasing. *Environ Pollut*. 2014;192:295-9.
48. CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade do ar no estado de São Paulo 2014. São Paulo. 2015.
49. Levy I, Michele C, Lu G, Narayan J, Brook J. Evaluating multipollutant exposure and urban air quality: pollutant interrelationships, neighborhood variability, and nitrogen dioxide as a proxy pollutant. *Environ Health Perspect* 2014;122:65-72.

50. da Silva AS, Cardoso MR, Meliefste K, Brunekreef B. Use of passive diffusion sampling method for defining NO₂ concentrations gradient in São Paulo, Brazil. *Environ Health*. 2006;5:19.
51. Chow JC, Engelbrecht JP, Watson JG, Wilson WE, Frank NH, Zhu T. Designing monitoring networks to represent outdoor human exposure. *Chemosphere*. 2002;49(9):961-78.
52. Meng X, Chen L, Cai J, Zou B, Wu CF, Fu Q, et al. A land use regression model for estimating the NO₂ concentration in shanghai, China. *Environ Res*. 2015;137:308-15.
53. Jerrett M, Arain A, Kanaroglou P, Beckerman B, Potoglou D, Sahsuvaroglu T, et al. A review and evaluation of intraurban air pollution exposure models. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2005;15(2):185-204.
54. Wallace LA, Ott WR. Personal monitors—a state-of-the-art survey. *J Air Pollut Control Assoc* 982;32:601-10.
55. Demokritou P, Kavouras IG, Ferguson ST, Koutrakis P. Development and laboratory performance evaluation of a personal multipollutant sampler for simultaneous measurements of particulate and gaseous pollutants. *Aerosol Sci Technol* 2001;35:741-52.
56. Lioy PJ. Exposure science: a view of the past and milestones for the future. *Environ Health Perspect*. 2010;118(8):1081-90.
57. Mitchell CS, Zhang JJ, Sigsgaard T, Jantunen M, Lioy PJ, Samson R, et al. Current state of the science: health effects and indoor environmental quality. *Environ Health Perspect*. 2007;115(6):958-64.

58. Elgethun K, Fenske RA, Yost MG, Palcisko GJ. Time-location analysis for exposure assessment studies of children using a novel global positioning system instrument. *Environ Health Perspect.* 2003;111(1):115-22.
59. Wu XM, Bennett DH, Lee K, Cassady DL, Ritz B, Hertz-Picciotto I. Feasibility of using web surveys to collect time-activity data. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2012;22(2):116-25.
60. André CDSd, André PAd, Rocha FM, Saldiva PHN, Oliveira RCd, Singer JM. Reliability of reflectance measures in passive filters. *Atmospheric Environment.* 2014;92:178-81.
61. Carneiro MFH, Ribeiro FQ, Fernandes-Filho FN, Lobo DJA, Barbosa Jr. F, Rhoden CR, et al. Pollen abortion rates, nitrogen dioxide by passive diffusive tubes and bioaccumulation in tree barks are effective in the characterization of air pollution *Environmental and Experimental Botany.* 2011;72:272-7.
62. Srám RJ, Binková B, Dejmek J, Bobak M. Ambient air pollution and pregnancy outcomes: a review of the literature. *Environ Health Perspect.* 2005;113(4):375-82.
63. Shah PS, Balkhair T, births KSGoDoPL. Air pollution and birth outcomes: a systematic review. *Environ Int.* 2011;37(2):498-516.
64. Stieb DM, Chen L, Eshoul M, Judek S. Ambient air pollution, birth weight and preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Environ Res.* 2012;117:100-11.
65. Conceição GM, Miraglia SG, Kishi HS, Saldiva PH, Singer JM. Air pollution and child mortality: a time-series study in São Paulo, Brazil. *Environ Health Perspect.* 2001;109 Suppl 3:347-50.
66. Novaes P, do Nascimento Saldiva PH, Kara-José N, Macchione M, Matsuda M, Racca L, et al. Ambient levels of air pollution induce goblet-cell hyperplasia in human conjunctival epithelium. *Environ Health Perspect.* 2007;115(12):1753-6.

67. Vieira SE, Stein RT, Ferraro AA, Pastro LD, Pedro SSC, Lemos M, et al. Los contaminantes atmosféricos urbanos son factores de riesgo significativos para el asma y la neumonía en niños: influencia del lugar de medición de los contaminantes. *Archivos Bronconeumol* 2012;48(11):389–395. 2012;48(11):389-95.
68. Khatib N, Weiner Z, Beloosesky R, Vitner D, Thaler I. The effect of maternal supine position on umbilical and cerebral blood flow indices. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;175:112-4.
69. Hadlock FP, Harrist RB, Carpenter RJ, Deter RL, Park SK. Sonographic estimation of fetal weight. The value of femur length in addition to head and abdomen measurements. *Radiology*. 1984;150(2):535-40.
70. Callen PW. *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology*. 5th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2008. 1180 p.
71. Ricci AG, Brizot MeL, Liao AW, Nomura RM, Zugaib M. [Ultrasonographic accuracy of fetal weight estimation and influence of maternal and fetal factors]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2011;33(9):240-5.
72. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements--a prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;151(3):333-7.
73. Phelan JP, Smith CV, Broussard P, Small M. Amniotic fluid volume assessment with the four-quadrant technique at 36-42 weeks' gestation. *J Reprod Med*. 1987;32(7):540-2.
74. Abramowicz JS, Warsof SL, Arrington J, Levy DL. Doppler analysis of the umbilical artery. The importance of choosing the placental end of the cord. *J Ultrasound Med*. 1989;8(4):219-21.

75. Mari G, Abuhamad AZ, Cosmi E, Segata M, Altaye M, Akiyama M. Middle cerebral artery peak systolic velocity: technique and variability. *J Ultrasound Med.* 2005;24(4):425-30.
76. Gosling RG, King DH. Ultrasonic Angiology. In: Adamson L, editor. *Arteries and Veins.* Edinburgh London New York: Curchill Linvigstone; 1975. p. 346.
77. Seber GAF, Lee AJ. *Linear Regression Analysis.* 2nd ed. Hoboken, New Jersey, USA.: John Wiley & Sons; 2003. 549 p.
78. Chen D, Cho SI, Chen C, Wang X, Damokosh AI, Ryan L, et al. Exposure to benzene, occupational stress, and reduced birth weight. *Occup Environ Med.* 2000;57(10):661-7.
79. Wang X, Chen D, Niu T, Wang Z, Wang L, Ryan L, et al. Genetic susceptibility to benzene and shortened gestation: evidence of gene-environment interaction. *Am J Epidemiol.* 2000;152(8):693-700.
80. Lindley AA, Benson JE, Grimes C, Cole TM, Herman AA. The relationship in neonates between clinically measured head circumference and brain volume estimated from head CT-scans. *Early Hum Dev.* 1999;56(1):17-29.
81. Babson SG, Henderson NB. Fetal undergrowth: relation of head growth to later intellectual performance. *Pediatrics.* 1974;53(6):890-4.
82. Perera FP, Li Z, Whyatt R, Hoepner L, Wang S, Camann D, et al. Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and child IQ at age 5 years. *Pediatrics.* 2009;124(2):e195-202.
83. Edwards SC, Jedrychowski W, Butscher M, Camann D, Kieltyka A, Mroz E, et al. Prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and children's intelligence at 5 years of age in a prospective cohort study in Poland. *Environ Health Perspect.* 2010;118(9):1326-31.

84. Peterson BS, Rauh VA, Bansal R, Hao X, Toth Z, Nati G, et al. Effects of prenatal exposure to air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons) on the development of brain white matter, cognition, and behavior in later childhood. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(6):531-40.
85. Janssen BG, Munters E, Pieters N, Smeets K, Cox B, Cuypers A, et al. Placental mitochondrial DNA content and particulate air pollution during in utero life. *Environ Health Perspect*. 2012;120(9):1346-52.
86. Nagiah S, Phulukdaree A, Naidoo D, Ramcharan K, Naidoo R, Moodley D, et al. Oxidative stress and air pollution exposure during pregnancy: A molecular assessment. *Hum Exp Toxicol*. 2014.
87. Veras MM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, Maciel Ribeiro AA, Mayhew TM, Saldiva PH, et al. Particulate urban air pollution affects the functional morphology of mouse placenta. *Biol Reprod*. 2008;79(3):578-84.
88. Hodyl NA, Grzeskowiak LE, Stark MJ, Scheil W, Clifton VL. The impact of Aboriginal status, cigarette smoking and smoking cessation on perinatal outcomes in South Australia. *Med J Aust*. 2014;201(5):274-8.
89. Winden DR, Barton DB, Betteridge BC, Bodine JS, Jones CM, Rogers GD, et al. Antenatal exposure of maternal secondhand smoke (SHS) increases fetal lung expression of RAGE and induces RAGE-mediated pulmonary inflammation. *Respir Res*. 2014;15:129.
90. Rogers JM. Tobacco and pregnancy: overview of exposures and effects. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008;84(1):1-15.
91. Rogers JM. Tobacco and pregnancy. *Reprod Toxicol*. 2009;28(2):152-60.

92. Leary SD, Smith GD, Rogers IS, Reilly JJ, Wells JC, Ness AR. Smoking during pregnancy and offspring fat and lean mass in childhood. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(12):2284-93.
93. Garrabou G, Hernández AS, Catalán García M, Morén C, Tobías E, Córdoba S, et al. Molecular basis of reduced birth weight in smoking pregnant women: mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Addict Biol*. 2014.
94. Cooley SM, Donnelly JC, Walsh T, MacMahon C, Gillan J, Geary MP. The impact of umbilical and uterine artery Doppler indices on antenatal course, labor and delivery in a low-risk primigravid population. *J Perinat Med*. 2011;39(2):143-9.
95. Harman CR, Baschat AA. Comprehensive assessment of fetal wellbeing: which Doppler tests should be performed? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003;15(2):147-57.
96. Brook RD, Brook JR, Urch B, Vincent R, Rajagopalan S, Silverman F. Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation*. 2002;105(13):1534-6.
97. Calderón-Garcidueñas L, Vincent R, Mora-Tiscareño A, Franco-Lira M, Henríquez-Roldán C, Barragán-Mejía G, et al. Elevated plasma endothelin-1 and pulmonary arterial pressure in children exposed to air pollution. *Environ Health Perspect*. 2007;115(8):1248-53.
98. Karsdorp VH, Dekker GA, Bast A, van Kamp GJ, Bouman AA, van Vugt JM, et al. Maternal and fetal plasma concentrations of endothelin, lipidhydroperoxides, glutathione peroxidase and fibronectin in relation to abnormal umbilical artery velocimetry. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998;80(1):39-44.
99. Neimark AI, Nepomnyashchikh LM, Lushnikova EL, Bakarev MA, Abdullaev NA, Sizov KA. Microcirculation and structural reorganization of the bladder mucosa in

chronic cystitis under conditions of ozone therapy. Bull Exp Biol Med. 2014;156(3):399-405.

100. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. J Nat Sci Biol Med. 2011;2(1):66-70.

101. Clavo B, Catalá L, Pérez JL, Rodríguez V, Robaina F. Ozone Therapy on Cerebral Blood Flow: A Preliminary Report. Evid Based Complement Alternat Med. 2004;1(3):315-9.

102. Frosini M, Contartese A, Zanardi I, Travagli V, Bocci V. Selective ozone concentrations may reduce the ischemic damage after a stroke. Free Radic Res. 2012;46(5):612-8.

103. Andikyan VM, Voloshchuk IN, Kovganko PA, Clemente JM. Morphofunctional changes in the placenta after ozone therapy. Bull Exp Biol Med. 2000;130(7):715-8.

104. Araneda S, Commin L, Atlagich M, Kitahama K, Parraguez VH, Pequignot JM, et al. VEGF overexpression in the astroglial cells of rat brainstem following ozone exposure. Neurotoxicology. 2008;29(6):920-7.

105. Sütterlin MW, Seelbach-Göbel B, Oehler MK, Heupel M, Dietl J. Doppler ultrasonographic evidence of intrapartum brain-sparing effect in fetuses with low oxygen saturation according to pulse oximetry. Am J Obstet Gynecol. 1999;181(1):216-20.

106. Scherjon SA, Smolders-DeHaas H, Kok JH, Zondervan HA. The "brain-sparing" effect: antenatal cerebral Doppler findings in relation to neurologic outcome in very preterm infants. Am J Obstet Gynecol. 1993;169(1):169-75.

107. Association AD. Standards of medical care in diabetes--2011. Diabetes Care. 2011;34 Suppl 1:S11-61.

108. Zugaib M, Bittar RE. Protocolos Assistenciais. 4a ed. São Paulo: Atheneu; 2013.
109. Gupta Y, Kalra B, Baruah MP, Singla R, Kalra S. Updated guidelines on screening for gestational diabetes. *Int J Womens Health*. 2015;7:539-50.
110. Malkani S, DeSilva T. Controversies on how diabetes is diagnosed. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012;19(2):97-103.
111. Benhalima K, Van Crombrugge P, Hanssens M, Devlieger R, Verhaeghe J, Mathieu C. Gestational diabetes: overview of the new consensus screening strategy and diagnostic criteria. *Acta Clin Belg*. 2012;67(4):255-61.
112. Secretaria Municipal da Saúde, Mãe Paulistana. Assistência Pré Natal. Disponível em: http://ww2.prefeitura.sp.gov.br/arquivos/secretarias/saude/mulher/0013/Protocolo_Assistencia_Prenatal.pdf.
113. Secretaria Municipal da Saúde, Prefeitura do Município de São Paulo. Saúde da Mulher nas Unidades Básicas de Saúde. 4a ed. São Paulo. 2012.
114. Choi H, Melly S, Spengler J. Intraurban and longitudinal variability of classical pollutants in kraków, poland, 2000-2010. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(5):4967-91.
115. Pastro LDM. *Avaliação da espirometria de gestantes expostas à poluição atmosférica da Região Metropolitana de São Paulo* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.
116. Canfield MA, Ramadhani TA, Langlois PH, Waller DK. Residential mobility patterns and exposure misclassification in epidemiologic studies of birth defects. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2006;16(6):538-43.
117. Miller A, Siffel C, Correa A. Residential mobility during pregnancy: patterns and correlates. *Matern Child Health J*. 2010;14(4):625-34.

118. Schulman J, Selvin S, Shaw GM, Malcoe LH. Exposure misclassification due to residential mobility during pregnancy in epidemiologic investigations of congenital malformations. *Arch Environ Health*. 1993;48(2):114-9.
119. Shaw GM, Malcoe LH. Residential mobility during pregnancy for mothers of infants with or without congenital cardiac anomalies: a reprint. *Arch Environ Health*. 1992;47(3):236-8.