**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Departamento de Saúde Ambiental**

**Chumbo e cádmio em unhas das mãos como biomarcadores
de exposição subcrônica na biomonitorização de pré-
escolares**

Allan Santos de Oliveira

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública
da Faculdade de Saúde Pública da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Linha de pesquisa: Saúde ambiental, modos de
vida e sustentabilidade

Orientadora: Profa. Dra. Kelly Polido Kaneshiro
Olympio.

São Paulo
2019

Chumbo e cádmio em unhas das mãos como biomarcadores de exposição subcrônica na biomonitorização de pré-escolares

Allan Santos de Oliveira

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Linha de pesquisa: Saúde ambiental, modos de vida e sustentabilidade

Orientadora: Profa. Dra. Kelly Polido Kaneshiro Olympio.

Versão revisada
São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Santos de Oliveira, Allan

Chumbo e cádmio em unhas das mãos como biomarcadores de exposição subcrônica na biomonitorização de pré-escolares / Allan Santos de Oliveira; orientadora Kelly Polido Kaneshiro Olympio. -- São Paulo, 2019.
107 p.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2019.

1. Exposição Ambiental. 2. Saúde Pública. 3. Biomarcadores de Exposição. 4. Saúde Ambiental. 5. Elementos Potencialmente Tóxicos. I. Polido Kaneshiro Olympio, Kelly, orient. II. Título.

Dedico este trabalho a todos que acreditaram em mim, que me fortaleceram e reestruturaram minha fé, principalmente nos momentos em que pensava ter perdido a esperança.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo o apoio estrutural e emocional;

A minha orientadora, exemplo de ser humano e fonte inesgotável de fé e motivação.
Sem a senhora, nada disso seria possível;

Aos meus colegas e amigos do eXsat, pelos conselhos, pelas risadas, pelas lamentações e por todos os bons momentos compartilhados;

À FSP e seus professores, por terem me acolhido e serem fonte de conhecimento, de luz;

Ao IPT, em especial ao Dr. Maciel Santos Luz, a Millena Aparecida Sousa de Freitas e demais funcionários e pesquisadores do Laboratório de Processos Metalúrgicos do Centro de Tecnologia em Metalurgia e Materiais, por terem cedido seu espaço e recursos e por terem compartilhado seus conhecimentos, me auxiliando no preparo das amostras;

À UFABC, em especial ao Prof. Dr. Bruno Lemos Batista e sua aluna, Bruna Moreira Freire, por também cederem seu laboratório e compartilharem conhecimento, na realização das análises das amostras;

À CAPES, pela bolsa de mestrado que usufruí no período de março de 2017 a fevereiro de 2019;

À FAPESP, pelos auxílios (Processos 2011/13076-0, 2011/23272-0, 2012/21840-4) na pesquisa original, de minha orientadora, cujo presente estudo está diretamente associado.

“Precisamos, entretanto, dar um sentido humano às nossas construções. E, quando o amor ao dinheiro, ao sucesso nos estiver deixando cegos, saibamos fazer pausas para olhar os lírios do campo e as aves do céu”.

Trecho da carta de Olívia a Eugênio em “Olhai os Lírios do Campo” (VERÍSSIMO, E.; 1938).

RESUMO

Introdução - Crianças estão expostas diariamente a diversos fatores de risco que podem afetar sua saúde, desde condições socioculturais e fisiológicas, até exposições endógenas e exógenas. Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) podem ser mais absorvidos por crianças em comparação a adultos. Os efeitos crônicos surgem mesmo com exposição a baixas doses, pois as crianças estão em fase de desenvolvimento e, portanto, são mais vulneráveis. Níveis desses EPTs em matrizes biológicas são comumente usados como biomarcadores de exposição ambiental. **Objetivo** - Explorar o uso de biomarcadores de exposição subcrônica a chumbo e cádmio em unhas das mãos. **Métodos** - Foram analisadas e comparadas amostras de sangue e unha de 592 indivíduos, as quais foram coletadas em estudo prévio. A população de estudo foi composta por pré-escolares entre 1 e 4 anos de idade que frequentavam 50 Centros de Educação Infantil (CEI) da cidade de São Paulo na época da coleta. As análises de ambas as amostras foram realizadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para avaliar se a intensidade da exposição a chumbo e ao cádmio impacta nos níveis dos elementos analisados em unhas, os resultados dos metais no sangue foram estratificados por níveis de exposição ao chumbo e ao cádmio. Para baixa exposição foram consideradas as amostras com níveis sanguíneos menores do que os valores de referência do *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) ($< 5 \mu\text{g.dL}^{-1}$ para chumbo e $< 0,24 \mu\text{g.L}^{-1}$ para cádmio). No grupo de alta exposição, foram incluídas as amostras com níveis sanguíneos acima dos percentis 97,5 para o chumbo e 95 para o cádmio, encontrados nas crianças anteriormente estudadas ($> 13,9 \mu\text{g.dL}^{-1}$ e $2,97 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente). O intervalo entre os valores de referência e os percentis ficou estabelecido como faixa de exposição intermediária. Testes de correlação de Spearman foram aplicados entre as concentrações de ambos os metais no sangue e na unha ($p < 0,05$), considerando fatores de risco potenciais (localização do CEI por densidade de tráfego veicular e zona geográfica, e existência de fumante no domicílio). **Resultados** - A média geométrica dos níveis de chumbo nas unhas foi de $0,02 \mu\text{g.g}^{-1}$ (IC 95%: $0,02\text{-}0,03 \mu\text{g.g}^{-1}$). Para o cádmio, a média não foi calculada devido ao alto percentual de valores abaixo do limite de detecção (LD). Correlações positivas foram encontradas entre os níveis de chumbo nas unhas e no sangue ($r = 0,08$; $p = 0,04$), entre os níveis do elemento nas unhas e CEI localizado em rua com alta densidade de tráfego de veículos ($r = 0,23$; $p < 0,0001$). Houve correlação positiva entre os níveis de chumbo e cádmio nas unhas ($r = 0,31$; $p < 0,0001$) e no sangue ($r = 0,35$; $p < 0,0001$), sendo mais expressiva nas unhas do grupo de pré-escolares de escolas localizadas na zona leste ($r = 0,44$; $p < 0,0001$). **Conclusão** - Chumbo na unha pode ser eleito como biomarcador de exposição, quando se pretende iniciar um *screening* de exposição ambiental, sobretudo em áreas de alta densidade de tráfego de veículos. Os pré-escolares sofreram co-exposição entre chumbo e cádmio. O uso da unha na biomonitorização de pré-escolares pode auxiliar no delineamento de estudos posteriores de exposições ambientais aos EPTs, redirecionando recursos com maior precisão.

Descritores: Exposição ambiental. Metais. Chumbo. Cádmio. Biomarcadores. Unhas. Pré-escolar. Saúde Pública.

Lead and cadmium in fingernails as subchronic exposure biomarkers in preschool children biomonitoring

ABSTRACT

Introduction - Children are daily exposed to several risk factors that can affect their health, from sociocultural and physiological conditions to endogenous and exogenous substances exposure. Potentially toxic elements (PTE) can be more absorbed by children than adults. Chronic effects can appear even at low exposures, because children are in development phase and, therefore, are more vulnerable. PTE levels in biological matrices are commonly used as environmental exposure biomarkers. **Objective** - To explore the use of lead and cadmium sub chronic exposure biomarkers in fingernails. **Methods** - blood and nail samples of 592 individuals will be analyzed and compared, which were collected in previous study. The study population was composed of preschool children aged between 1 and 4 years old who attended 50 day care centers (DCC) in the city of São Paulo at the sampling time. Both sample analysis were performed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). To assess if lead and cadmium exposure intensity impacts in analyzed nail element levels, the results of blood metals were stratified by lead and cadmium exposure levels. As low exposure was considered samples with blood levels lower than the Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) reference values ($<5 \mu\text{g.dL}^{-1}$ for lead and $<0.24 \mu\text{g.L}^{-1}$ for cadmium). High exposure group included samples with blood levels above the 97.5th percentile for lead and 95th for cadmium found in the previously studied children ($> 13.9 \mu\text{g.dL}^{-1}$ and $2.97 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectively). The interval between the reference values and the percentiles was established as the intermediate exposure range. Spearman's correlation tests were applied between the concentration of both metals in the blood and the nail ($p < 0.05$), considering PTE exposure risk factors (DCC location by vehicle traffic density and geographic region, and smoker in the home). **Results** - The geometric mean of nail lead levels was $0.02 \mu\text{g.g}^{-1}$ (95% CI: $0.02\text{--}0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$). Cadmium means are not calculated because high percentage of values below limit of detection (LD). Positive correlations were found between nail and blood lead levels ($r = 0.08$; $p = 0.04$), between nail lead level and DCC located in high vehicle traffic density street ($r = 0.23$; $p < 0.0001$). Positive correlation also found between nail and lead and cadmium levels ($r = 0.31$; $p < 0.0001$) and between blood ($r = 0.35$; $p < 0.0001$), being more expressive in nails of DCC east region preschool children group ($r = 0.44$; $p < 0.0001$). **Conclusions** - Nail lead can be elected as biomarker of exposure, when are intend to start a screening of environmental exposure, especially in high traffic vehicle areas. Preschool children suffered co-exposure between lead and cadmium. Nail use in preschool children biomonitoring can assist in later PTE environmental exposure studies design, redirecting resources more accurately.

Descriptors: Environmental exposure. Metals. Lead. Cadmium. Biomarkers. Nails. Child, Preschool. Public Health.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 EXPOSIÇÃO AMBIENTAL DE CRIANÇAS A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS	18
1.1.1 Exposição Ambiental ao Chumbo em Ambientes Urbanos	19
1.1.2 Exposição Ambiental ao Cádmio em Ambientes Urbanos	27
1.2 EFEITOS DOS ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NA SAÚDE DE CRIANÇAS	29
1.2.1 Toxicocinética do Chumbo e Efeitos Associados	29
1.2.2 Toxicocinética do Cádmio e Efeitos Associados	37
1.2.3 Efeitos Tóxicos Pela Interação entre Chumbo e Cádmio	42
1.3 O USO DE BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS	44
1.3.1 Chumbo e Cádmio em Sangue Venoso	46
1.3.2 Chumbo e Cádmio em Unhas	47
1.4 JUSTIFICATIVA	48
2 OBJETIVOS	51
2.1 OBJETIVO GERAL	51
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
3 METODOLOGIA	52
3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO E PREPARO PRÉ-COLETA	52
3.2 COLETA, ARMAZENAMENTO, PREPARO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS	54
3.2.1 Sangue Venoso	55
3.2.2 Unhas	56
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
3.3.1 Estatística Descritiva	61
3.3.2 Estatística Inferencial	62
4 RESULTADOS	64
5 DISCUSSÃO	72

6 CONCLUSÕES	90
---------------------	-----------

7 REFERÊNCIAS	92
----------------------	-----------

ANEXOS

CURRÍCULO LATTES

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Distribuição de crianças pré-escolares segundo características sociodemográficas e fatores de risco (n = 602)	66
Tabela 02	Comparação entre as médias aritmética, geométrica, mediana e percentis das concentrações de chumbo e cádmio encontradas nas amostras de unha (N = 592) e sangue (N = 602) entre crianças pré-escolares	67
Tabela 03	Teste de normalidade das concentrações de chumbo (Pb) e cádmio (Cd) nas amostras de unhas e sangue	46
Tabela 04	Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso e unhas das mãos de crianças pré-escolares (N=592)	46
Tabela 05	Comparação entre as médias geométricas das amostras de unha pós-lavagem categorizadas por aspecto visual (N=602)*	47
Tabela 06	Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso (N=277) e unhas das mãos de aspecto visual normal de crianças pré-escolares (N=278)	47
Tabela 07	Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso (N=315) e unhas das mãos de aspecto visual diferenciado de crianças pré-escolares (N=324)	48
Tabela 08	Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso (N = 592) e unhas das mãos de crianças pré-escolares (N = 602), por localização geográfica do CEI (NO = noroeste, S = sul e L = leste)	49
Tabela 09	Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso (N = 592) e unhas das mãos (N = 602) de crianças pré-escolares, por densidade de tráfego veicular na localidade do CEI	49
Tabela 10	Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso (N = 592) e unhas das mãos (N = 602) de crianças pré-escolares, pela presença de fumantes no domicílio	50
Tabela 11	Diferença entre as médias geométricas da concentração de chumbo em amostras de unha de pré-escolares, categorizadas por faixa de exposição (N=592)*	67

SIGLAS UTILIZADAS

ALAD – Ácido δ -aminolevulínico desidratase

ATSDR – Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças

Cd – Cádmio

CDC – *Centers for Diseases Control and Prevention*

CEI – Centro de Educação Infantil

CET – Companhia de Engenharia do Tráfego de São Paulo

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONASQ – Comissão Nacional de Segurança Química

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DRE – Diretoria Regional de Ensino

EPT – Elementos Potencialmente Tóxicos

GIS – Geographic Information System

GPS – Global Positioning System

GSH-Px – Glutathione peroxidase

HNO₃ – Ácido nítrico

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

IARC-WHO – *International Agency for Research on Cancer-World Health Organization*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC95% – Intervalo de confiança de 95%

ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado

IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo

JECFA – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*

L – Leste

LD – Limite de Detecção

LEHCA – Laboratório de Análises da Exposição Humana à Contaminantes Ambientais

MMA – Ministério do Meio Ambiente

MS – Ministério da Saúde

NHANES – *National Health and Nutrition Examination Survey*

NO – Noroeste

OMS – Organização Mundial de Saúde

Pb – Chumbo

Pb₃O₄ – Tetróxido de chumbo

ppm – Partes por milhão

PTWI – Ingestão semanal tolerável provisória

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

Rh – Ródio

RMSP – Região Metropolitana de São Paulo

RNase – Ribonuclease

S – Sul

Sn – Estanho

SNC – Sistema Nervoso Central

UFABC – Universidade Federal do ABC

US-EPA – *United States Environmental Protection Agency*

WHO – *World Health Organization*

1 INTRODUÇÃO

No mundo inteiro, todo ser humano está sujeito a exposições que ocorrem desde sua concepção até a sua morte. Dá-se o nome de “Expossoma” ao somatório de todas essas exposições, que se dividem entre fatores internos (fisiologia, idade, morfologia corporal e o genoma do indivíduo), externos gerais (condições socioeconômicas, fatores sociodemográficos e local de residência) e específicos (dieta, exposições ambientais e ocupacionais e estilo de vida, entre outros) (OLYMPIO et al., 2019).

Desse universo do expossoma, as exposições ambientais a compostos químicos continuam sendo amplamente estudadas, conjuntamente com alguns dos fatores internos e os demais fatores externos, através de uma série de ferramentas disponíveis (uso de biomarcadores, aplicação de questionários de exposição, Sistemas de Informação Geográfica (GIS), sensores GPS, acelerômetro e aplicativos de *smartphone*, bioinformática, entre outras) (BETTS, 2012; PATEL et al., 2017; OLYMPIO et al., 2019).

Cada tipo ou conjunto de ferramentas é direcionado para responder questões distintas e, para o delineamento do estudo pretendido, deverá ser feita a escolha correta desse conjunto de ferramentas, levando em conta questões como a caracterização do cenário de exposição de interesse, os recursos (financeiros, materiais e humanos) disponíveis e as limitações potenciais na condução da pesquisa pretendida (MORGENSTERN e THOMAS, 1993; LIU et al., 2012; HAMRA e BUCKLEY, 2018; SPINAZZE et al., 2019).

Um dos principais cenários de exposição comumente estudado corresponde ao das áreas urbanas. Espalhadas ao redor do mundo, essas áreas geralmente são caracterizadas pela

poluição e pela contaminação por diversos compostos químicos em diferentes meios (GOUVEIA, 1999; GÜNTHER, 2006; ARAUJO e GÜNTHER, 2009).

No Brasil, durante a década de 1950, o desenvolvimento industrial acarretou o surgimento de grandes cidades, gerando regiões metropolitanas caracterizadas por aglomerados de pessoas vivendo em meio a problemas ambientais oriundos da disposição inadequada de resíduos e rejeitos de indústrias, inativação de indústrias, geração de áreas contaminadas, emissões atmosféricas (gases, fumaças, fumos e materiais particulados emitidos por indústrias e automóveis) e da poluição de corpos hídricos devido ao lançamento de esgoto sanitário e efluentes industriais (GOUVEIA, 1999; GÜNTHER, 2006; ARAUJO e GÜNTHER, 2009).

Esses problemas estão ainda mais presentes em locais de exclusão social, onde são escassos os serviços básicos e com ausência de infraestrutura, ressaltando a desigualdade socioambiental (GOUVEIA, 1999; GÜNTHER, 2006; ARAUJO e GÜNTHER, 2009; DENALDI e FERRARA, 2018). Além disso, essas áreas geralmente comportam ao mesmo tempo residências, escolas e ruas com fluxo veicular significativo, além de áreas contaminadas (SEXTON et al., 2000; ÂNTICO, 2005; WERE et al., 2008; MAZAHARI et al., 2014; RUIZ et al., 2016; OLYMPIO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019).

Tal cenário de degradação ambiental, urbanização e desigualdade social em meio às escolas e residências se reproduz na Região Metropolitana de São Paulo – RMSP (OLYMPIO et al., 2018; OLIVEIRA et al. 2019), sendo que em toda sua extensão, existem diversos espaços destinados à educação infantil. Entre as zonas geográficas da cidade, as crianças pré-escolares frequentam Centros de Educação Infantil (CEI), distribuídos de acordo com as Diretorias Regionais de Ensino (DRE). Geralmente, essas crianças estão inseridas em um

microambiente composto pelas escolas e pelas residências, sendo que, tanto a localização do CEI, quanto da residência podem apresentar fatores de exposição a elementos tóxicos, tais como a existência de áreas contaminadas e de ruas de alto tráfego veicular, o que acaba colocando sua saúde em risco (OLYMPIO et al., 2018; OLIVEIRA et al. 2019).

As influências dos ambientes físico (ar, água, dieta, superfícies, produtos, entre outros), biológico (fatores fisiológicos, toxicocinética e dinâmica) e social (família, cultura, comunidade, entre outros) correspondem a fatores que podem impactar a saúde das crianças (NEEDHAM e SEXTON, 2000), principalmente em relação a alterações no desenvolvimento do seu Sistema Nervoso Central (SNC), ao desempenho comportamental e de crescimento, havendo uma grande preocupação quanto à exposição das mesmas a elementos tóxicos (REHMAN et al. 2017).

Um dos grupos de elementos tóxicos de grande importância para os estudos toxicológicos em crianças é o dos metais pesados. O termo “metal pesado” foi empregado para classificar uma série de metais tóxicos, mas que incluía compostos não-metais (DUFFUS, 2002). Atualmente, vem sendo adotado o termo “Elementos Potencialmente Tóxicos” (EPT), melhor correspondendo ao conjunto químico que também inclui elementos como o antimônio, o arsênio e o selênio (BACON e DAVIDSON, 2008; HILL, 2010; SALLES, 2017), sendo este o termo a ser empregado para os dois elementos estudados: chumbo (Pb) e cádmio (Cd).

Ambos os elementos são persistentes no ambiente (REHMAN et al. 2017), sendo que a exposição ambiental a esses elementos pode se dar por diversas vias, em especial por inalação, ingestão e até mesmo contato dérmico. Seus níveis podem ser analisados por meio de coletas de amostras oriundas de matrizes ambientais (água, solo e ar), de alimentos, bem

como em amostras biológicas (sangue, urina, unha, cabelo, entre outros) que, uma vez somadas, têm o potencial de fornecer dados mais completos da exposição humana (AB RAZAK et al., 2015a).

A partir do contexto das áreas urbanas, a seguir serão mais bem detalhados: as rotas e vias de exposição de pré-escolares a ambos os elementos, os efeitos tóxicos – em especial os efeitos crônicos, e o emprego de biomarcadores de exposição a elementos potencialmente tóxicos.

1.1 EXPOSIÇÃO AMBIENTAL DE CRIANÇAS A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

A exposição ambiental de pré-escolares a elementos tóxicos é uma questão relevante em saúde pública. Estes indivíduos fazem parte de um grupo de risco que, por sofrer mudanças constantes no seu desenvolvimento, são mais vulneráveis a poluentes e contaminantes (OLYMPIO et al., 2009; KIRA et al., 2016; OLYMPIO et al., 2017). Além disso, crianças frequentemente brincam fora de seus domicílios e colocam a mão na boca sem prévia higienização, sendo que esses hábitos aumentam o contato da pele com substâncias presentes no solo, em poeiras, entre outras rotas de exposição (OLYMPIO et al., 2009; OLYMPIO et al., 2010; BURM et al., 2016).

Outros fatores que acabam refletindo em um ambiente nocivo para as crianças são os socioeconômicos. Por exemplo, um baixo *status* socioeconômico (pobreza e baixa escolaridade dos pais) pode aumentar o risco de exposição das crianças ao chumbo, bem como contribuir para a ocorrência de deficiências nutricionais que aumentam a vulnerabilidade ao elemento (KIM et al., 2018a; KIM et al., 2018b). Esses fatores, somados à suscetibilidade desses indivíduos, podem aumentar o risco de ocorrência de desfechos negativos à saúde, tais como atrasos no desenvolvimento e distúrbios comportamentais (OLYMPIO et al., 2009; OLYMPIO et al., 2010; BURM et al., 2016; KIM et al., 2018a).

Sabe-se que tanto o chumbo quanto o cádmio podem ser tóxicos, mesmo que haja exposição em pequenas doses (KARRI et al., 2016; KIRA et al., 2016; SOARES et al., 2017; OLYMPIO et al., 2017). Ambos são mutagênicos e possuem um potencial de alterar o DNA das células, bem como atuar como disruptores endócrinos, acarretando em distúrbios no desenvolvimento (JIN et al., 2003; HENSON e CHEDRESE, 2004; IAVICOLI et al., 2009; AB RAZAK et al., 2015a; BURM et al., 2016; ATSDR, 2017b; ATSDR, 2019). Por exemplo, em relação às alterações genéticas, alguns estudos associaram o autismo em crianças com mutações no DNA, ocasionadas por exposições ambientais a EPT (WINDHAM et al., 2006; SEBAT et al., 2007; SMITH et al., 2009; KINNEY et al., 2010). Além disso, estudos têm apontado que exposições a metais tóxicos podem ocasionar em deficiências de minerais essenciais para o organismo (WERE et al., 2008; ATSDR, 2019).

1.1.1 Exposição Ambiental ao Chumbo em Ambientes Urbanos

Encontrado na cor branco-azulado brilhoso, o chumbo é um elemento químico de número atômico 82, com peso molecular de $207,2 \text{ g.mol}^{-1}$ e que pertence ao grupo 14 da tabela periódica e, assim como o estanho (Sn), é um dos dois metais existentes neste grupo (MANDAL e ROESKY, 2012; ATSDR, 2011b; 2019). No ambiente, o elemento pode ocorrer tanto em sua forma natural na crosta terrestre (0,0016%), sendo composto por uma mistura dos isótopos ^{204}Pb (1,4%), ^{206}Pb (24,1%), ^{207}Pb (22,1%) e ^{208}Pb (52,4%); quanto através de atividades humanas, tais como a queima de combustíveis fósseis, mineração e atividades industriais, podendo estar presente também na composição de baterias, pesos, munição, soldas, encanamentos, e protetores de raios-X (KIRA et al., 2016; ATSDR, 2011b; ATSDR, 2019). Esses usos se devem a suas propriedades físico-químicas, em especial a anticorrosividade, a alta densidade e o baixo ponto de fusão (ATSDR, 2019). Em geral, os resultados de exposição humana ao chumbo e outros metais que são relevantes em relação à saúde são aqueles oriundos dessas atividades antropogênicas (KUNO et al., 2013).

As principais fontes de exposição ao chumbo para a população em geral, em especial para os pré-escolares, são: viver em ambiente urbano, principalmente em áreas próximas de fontes estacionárias do elemento (fábricas e indústrias metalúrgicas, de fundição, entre outras) e as áreas contaminadas geradas por essas fontes; o recobrimento de casas usando tintas contendo chumbo em sua composição e o contato com poeiras oriundas do desgaste dessas tintas; a alotriofagia (ato de consumir materiais não alimentícios); e as exposições ocupacionais secundárias (familiares de trabalhadores das fontes estacionárias) (BEAUCHEMIN et al., 2011; SANDERS et al., 2014; DIGNAM et al., 2018; OLYMPIO et al., 2018; HWANG et al., 2019; ATSDR, 2019, OLIVEIRA et al., 2019). O principal uso dos compostos de chumbo é em baterias de chumbo ácido (ATSDR, 2019). Apesar de esses

compostos poderem ser transformados em outros compostos, o elemento não pode ser degradado, fazendo com que o chumbo se deposite no ambiente, gerando altas concentrações do elemento e consequentes fontes potenciais de exposição ambiental (ATSDR, 2019).

Atualmente, o chumbo pode estar presente em ambientes urbanos que anteriormente foram áreas industriais, devido às emissões geradas por atividades de fundição, produção de aço e ferro, manufatura de baterias de chumbo ácido, incineradores, entre outras atividades industriais (MOODY e GRADY, 2017). Os níveis de chumbo no ar podem ser mais elevados em áreas próximas a essas indústrias, especialmente quando não há um controle da emissão para a atmosfera, afetando a qualidade do ar (CZAPLICKA e BUZEK, 2011; MOODY e GRADY, 2017). Apesar do tempo de residência do elemento na atmosfera ser de 10 dias, as partículas de chumbo podem se depositar no solo, podendo até contaminar a água subterrânea, sendo que, nessas duas matrizes o elemento é persistente (CZAPLICKA e BUZEK, 2011; MOODY e GRADY, 2017; ATSDR, 2019).

No último levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, em 2016, havia no Brasil 2.102 empresas de metalurgia e 19.737 empresas de fabricação de produtos de metal. Entretanto, esse número pode ser ainda maior, pois não foram incluídas empresas clandestinas. Em São Paulo, além das empresas ativas, existem diversas áreas contaminadas por metais. A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) realiza o levantamento de áreas contaminadas na Região Metropolitana de São Paulo - RMSP (KUNO et al., 2013). Até dezembro de 2018, foram contabilizadas no Estado de São Paulo 6.110 áreas contaminadas. Dessas áreas, 1.150 (18,8%) correspondem a áreas contaminadas por metais. Na RMSP, das 3.297 as áreas cadastradas, 716 (21,7%) são áreas contaminadas

por atividades industriais (CETESB, 2019). Cabe ressaltar que esse número pode estar subnotificado, pois podem existir outras áreas ainda não descobertas.

Essas áreas contaminadas por metais podem influenciar na elevação dos níveis de chumbo em pré-escolares, pois, conforme mencionado anteriormente, esse grupo encontra-se em fase de exploração, levam as mãos à boca, entrando em contato com o chumbo presente no solo, em poeiras e no ar (MENEZES-FILHO et al., 2012; OLYMPIO et al., 2017; 2018; ATSDR, 2019).

Em São Paulo, OLIVEIRA et al. (2019) estudaram a relação entre proximidade e posição (horizontal e vertical) de áreas contaminadas localizadas próximos aos CEI e os níveis de exposição ao chumbo no sangue dos pré-escolares que frequentaram esses CEI. Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas das médias geométricas da distância horizontal entre o CEI e a área contaminada mais próxima tanto entre os grupos de baixa e média exposição ($p=0,0004$), quanto entre os grupos de baixa e alta exposição ($p=0,0004$).

No Brasil, a Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009 dispõe sobre os valores orientadores de substâncias químicas no solo. Nela, foi adotada a concentração de 72 mg.kg^{-1} de chumbo no solo como valor de prevenção e, em áreas residenciais, o valor orientador foi de 300 mg.kg^{-1} . Em 2016, no Estado de São Paulo, a Decisão de Diretoria nº 256/2016/E, alterou o limite do elemento em solos residenciais, adotando um valor mais restritivo (240 mg.kg^{-1}) (CETESB, 2016).

Quanto à exposição correspondente às tintas que contém chumbo na composição, o elemento pode estar presente em pigmentos, sendo os principais o amarelo cromo, na forma de cromato de chumbo (II) (PbCrO_4), o zarcão, como o composto químico tetróxido de

chumbo (Pb_3O_4) e o alvaiade, na forma de carbonato de chumbo (II) (PbCO_3) (LIN et al., 2012; WHITE et al., 2013; GONZALEZ et al., 2017; PANETTA et al., 2018). A fonte de exposição de maior ocorrência se deve à deterioração de construções antigas, cujas paredes eram pintadas com tintas que continham chumbo sendo fontes potenciais de exposição ao elemento (SANDERS et al., 2014, NIH, 2018b; SILVA et al., 2018). O desgaste da cobertura de tinta dessas paredes aumenta a concentração do metal na poeira das residências, podendo ser facilmente inaladas (BEAUCHEMIN et al., 2011; OLYMPIO et al., 2018; HWANG et al., 2019).

O zarcão é um composto químico em pó de aparência alaranjada que era usado como revestimento anticorrosivo, protegendo materiais feitos de ferro da corrosão (OLYMPIO, 2018; PANETTA et al., 2018). Devido a essa propriedade, além de ser utilizado em tintas como pigmento, o zarcão pode ser aplicado também em materiais de ferro, tais como portões de residências e escolas (OLYMPIO et al., 2018; PANETTA et al., 2018). Além disso, em ambiente escolar, os pré-escolares também podem ser expostos a tintas à base de chumbo oriundas dos brinquedos de parquinhos das escolas (OLYMPIO et al., 2018; SILVA et al., 2018).

No cenário nacional, em 2008 a Lei Federal nº 11.762/2008 estabeleceu restrições quanto ao uso do chumbo, limitando a concentração do metal em tintas imobiliárias, escolares e infantis a 600 ppm (BRASIL, 2008). Apesar de a legislação brasileira ter limitado a concentração do metal, um estudo realizado em 2011 pela *University of Cincinnati* em contrato com a *United States Environmental Protection Agency* analisou tintas fabricadas no Brasil, encontrando concentrações do metal em tintas excedendo o limite adotado em 25% das amostras (n=20) (UC, 2013 apud UNEP, 2013). Em 2016, a Comissão Nacional de

Segurança Química (CONASQ) estabeleceu um Grupo de Trabalho com o objetivo de propor um decreto regulamentador e aperfeiçoar a lei vigente visando reduzir o limite estabelecido, bem como incluir diversas categorias de tintas até então excluídas. Apesar dos esforços, o grupo encerrou suas atividades em outubro de 2017 (MMA, 2018).

No dia 20 de março de 2018, foi regulamentada a Lei criada em 2008, através do Decreto nº 9.315/2018. No Art. 3º do referido documento ficaram excluídas da limitação imposta às tintas, aos vernizes ou similares para revestimento de superfícies de equipamentos agrícolas e industriais; estruturas metálicas industriais, agrícolas e comerciais; tratamento anticorrosivo à base de pintura; sinalização de trânsito e de segurança; veículos automotores, aviões, embarcações e trens; artes gráficas; eletrodomésticos e móveis metálicos; tintas e materiais de uso artístico; e tinta gráfica. (BRASIL, 2018).

Em alguns países o aumento dos níveis do elemento no meio ambiente está relacionado ao uso do chumbo como aditivo na gasolina (KIRA et al., 2016). No Brasil, o uso do tetraetilchumbo como aditivo na gasolina foi descontinuado, sendo substituído pelo etanol desde o estabelecimento da Lei nº 8.723, de 28 de outubro de 1993 (KIRA et al., 2016; OLYMPIO, 2018). Essa substituição se deveu não apenas em função da conscientização dos riscos que o elemento poderia trazer para a saúde, mas principalmente por inviabilizar a adoção de catalisadores em veículos (RANGEL e CARVALHO, 2003). Atualmente, apenas a gasolina utilizada em aeronaves contém o elemento em sua composição (OLYMPIO et al., 2018).

Apesar disso, áreas de alto tráfego veicular continuam sendo fontes potenciais do elemento, não mais devido à composição da gasolina, mas sim devido à alta circulação de veículos ocasionarem a ressuspensão de poeiras contendo chumbo, oriundos de *hot spots* e

áreas contaminadas pelo elemento que foi depositado nas vias do entorno (OLYMPIO et al., 2018).

Além da gasolina, com o passar dos anos, o chumbo presente em tintas e materiais cerâmicos também vêm sofrendo reduções devido às questões de saúde (ATSDR, 2011b). Apesar dessa redução, a Organização Mundial de Saúde (OMS) ainda aponta o chumbo como uma das 10 substâncias químicas de maior preocupação à Saúde Pública (WHO, 2010). Os Estados Unidos, um dos países que vem investindo na redução e eliminação das fontes de exposição ao elemento, mantém o chumbo na segunda posição da lista prioritária da Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR) como substância mais perigosa (ATSDR, 2017a; MAJID et al., 2017).

Outra fonte de exposição ao chumbo que vem sendo estudada ao longo dos anos é a dieta. Estudos feitos em zonas rurais mostram indícios da influência da agricultura no acúmulo de metais, bem como maior risco de exposição de crianças a fertilizantes, pesticidas e outros agrotóxicos utilizados, sendo seus níveis ainda maiores nas crianças com uma dieta rica no consumo de vegetais (GHAZALI et al., 2012; SHERIEF et al., 2015). Uma vez que o chumbo é aplicado na agricultura, ele pode ser absorvido por vegetais consumíveis devido ao uso de agrotóxicos contendo o elemento em sua composição (KOLLBYE JR et al., 1974; TCHOUNWOU et al., 2012). Além disso, o elemento pode estar presente nos alimentos pela deposição do chumbo da atmosfera para o solo e para a superfície das plantas; por ser usado indiscriminadamente durante o processamento de alimentos; por sofrer migração de utensílios feitos de cerâmica contendo o elemento; ser transferido ao alimento durante o seu transporte ou preparo; ou ainda, estar presente na água para consumo humano (KOLLBYE JR et al., 1974; HAHLADAKIS et al., 2018; ATSDR, 2019).

Em relação aos níveis permissíveis do elemento em alimentos, a Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013 dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, sendo aprovado em seu Art.1º o Regulamento Técnico sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos em Anexo (MS, 2013). Nele, diversas categorias de alimentos tiveram limites máximos de chumbo estabelecidos, em mg.kg^{-1} , variando entre $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ para gelos comestíveis, e $2,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ para sal para consumo humano.

No Brasil, a Portaria de Consolidação nº5, de 28 de setembro de 2017 consolidou as normas sobre ações e serviços de saúde do Sistema Único de Saúde – SUS, incorporando em seu Anexo XX a Portaria MS 2.914, de 12 de dezembro de 2011, que dispõe sobre procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Nela, foi adotado o Valor Máximo Permitido (VMP) para o chumbo de $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$, sendo esse valor mantido na nova portaria.

Por fim, outra fonte de exposição ao chumbo corresponde ao fumo. O cigarro pode conter mais de 4.000 substâncias químicas, dentre elas Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) como o cádmio e o chumbo (RICHTER et al., 2009; JUNG et al., 2015; LI et al., 2018). A planta *Nicotiana tabacum*, de onde é extraído o tabaco, pode ser produzida em solos contaminados por metais como o chumbo, o cádmio, entre outros, sendo absorvidos pelas raízes, posteriormente transferidos para os brotos (LYUBENOVA et al., 2009).

No mundo, o fumo passivo vem sendo considerado a terceira causa de doenças que poderiam ser prevenidas, atrás apenas do fumo ativo e do etilismo (LI et al., 2018). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, estima-se que globalmente cerca de 40% das crianças estão expostas às fumaças oriundas do fumo passivo (LI et al., 2018). Com isso, os metais

presentes na fumaça podem ser inalados, podendo aumentar os níveis dos elementos no organismo.

Alguns estudos apontaram níveis maiores de chumbo em amostras biológicas de crianças expostas ao fumo passivo quando comparadas àquelas não expostas (RICHTER, 2009; APOSTOLOU et al., 2012; LI et al., 2018). Entretanto, existem poucos estudos que buscaram verificar associação entre o fumo passivo e os níveis de metais em crianças (LI et al. 2018).

1.1.2 Exposição Ambiental ao Cádmio em Ambientes Urbanos

O cádmio é um elemento encontrado naturalmente na crosta terrestre e oceânica, geralmente como mineral em conjunto a outros elementos minerais, como zinco, chumbo e cobre em solos, rochas e carvão mineral (WASEEM, 2016; ATSDR, 2011a). Por apresentar baixa corrosão, o elemento é utilizado na fabricação de baterias, pigmentos, revestimentos metálicos e plásticos (ATSDR, 2011a).

Devido ao fato dos metais terem origem geológica semelhante, geralmente estão presentes no ambiente de maneira associada, como misturas (JHO et al., 2011; EGIEBOR et al., 2013; ANDRADE et al., 2015; ANDJELKOVIC et al., 2019), a presença de cádmio comumente é associada à do chumbo. Com isso, as fontes de exposição de pré-escolares ao chumbo que foram citadas anteriormente podem também ser aplicadas para o cádmio. Dentre essas fontes, merece destaque o fumo passivo, onde nos estudos epidemiológicos o elemento

é comumente mais expressivo que o chumbo em matrizes biológicas. Conforme citado anteriormente, a planta *Nicotiana tabacum* consegue extrair os metais do solo e acumular em sua biomassa (LYUBENOVA et al., 2009). Esse processo é muito mais expressivo para o cádmio, sendo que a planta é considerada hiperacumuladora do elemento (LIU et al., 2019).

No solo, a Resolução CONAMA nº420/2009 adotou o limite de concentração de 1,3 mg.kg⁻¹ de cádmio como valor preventivo e 8 mg.kg⁻¹ do elemento como valor orientador para solos de residências (BRASIL, 2009). Diferentemente do chumbo, no Estado de São Paulo, a Decisão de Diretoria nº 256/2016/E fixou um valor orientador para o cádmio em solo residencial superior ao previsto na Resolução, adotando o valor de 14 mg.kg⁻¹ (CETESB, 2016).

Na agricultura, os fertilizantes fosfatados podem conter cádmio como impureza, sendo que a aplicação desses fertilizantes impuros pode resultar no acúmulo do metal no solo (WITHERS et al. 2015; MUNIRA et al., 2016).

Assim como no chumbo, a Resolução RDC nº 42/2013 também adota Limites Máximos de cádmio em alimentos, ficando entre 0,01 mg.kg⁻¹ em sorvetes de água saborizados, e 2,00 mg.kg⁻¹, em moluscos (MS, 2013).

Já em relação à água para consumo humano, o Anexo XX da Portaria de Consolidação MS nº 5/2017 também trouxe um limite de concentração de cádmio em água para consumo humano, sendo adotado o Valor Máximo Permitido de 0,005 mg.L⁻¹ (BRASIL, 2017).

Quanto à sua relevância no contexto da Saúde Pública, o elemento também está contemplado na lista das 10 substâncias químicas de maior preocupação à Saúde Pública pela OMS (WHO, 2010). Ainda, os Estados Unidos classifica o elemento na 7ª posição da lista de substâncias mais tóxicas (ATSDR, 2017a).

1.2 EFEITOS DOS ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NA SAÚDE DE CRIANÇAS

1.2.1 Toxicocinética do Chumbo e Efeitos à Saúde Associados

A toxicidade do chumbo no organismo humano vem sendo extensivamente estudada, sendo que existem diversos modelos toxicocinéticos que visam explicar sua absorção, distribuição e excreção do sangue, de tecidos moles e dos ossos (ATSDR, 2019). O elemento pode ser absorvido por inalação, ingestão ou contato dérmico, nas formas inorgânica e orgânica - sendo mais comum a primeira - e, dependendo da concentração, o elemento pode causar desfechos negativos à saúde das crianças, causando tanto efeitos crônicos como agudos, sendo que sua absorção se dá por complexação por macromoléculas (BECHARA et al., 1993; MOREIRA E MOREIRA, 2004; OLYMPIO et al., 2009; ATSDR, 2019).

Quando inalado na forma inorgânica (aerossóis de partículas no ar), o elemento será depositado no trato respiratório, sendo que a deposição irá variar de acordo com o tamanho e a solubilidade das partículas inaladas, a idade do indivíduo exposto, a características de sua via respiratória e a velocidade da corrente de ar no trato respiratório (ATSDR, 2019). A absorção do chumbo inorgânico também dependerá

do tamanho e da solubilidade das partículas, além da região aonde as partículas irão se depositar (ATSDR, 2019). As partículas grossas ($>2,5 \mu\text{m}$) se depositarão nas regiões traqueobronquial e nasofaríngea e podem ser transferidas ao esôfago pelo transporte mucociliar e, posteriormente, ingeridas (ATSDR, 2019). Já as partículas finas ($<2,5 \mu\text{m}$) poderão se depositar nos alvéolos pulmonares, sendo posteriormente absorvidas por dissolução extracelular ou ingestão por células fagocíticas (ATSDR, 2019).

A absorção gastrointestinal de chumbo inorgânico também sofrerá influência da fisiologia do indivíduo, por fatores como idade, jejum, estado nutricional de cálcio e ferro; e das propriedades físico-químicas do elemento, incluindo a dimensão das partículas, mineralogia, solubilidade e espécie de chumbo; além da dose ingerida (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019). Ela irá ocorrer primeiramente no duodeno, por mecanismos saturados, sendo que a exatidão de seu mecanismo de absorção, apesar de incerta, pode envolver transporte ativo e/ou difusão trans ou paracelular, podendo, ainda envolver o chumbo na forma ionizada ou seus complexos orgânicos e inorgânicos (ATSDR, 2019). Nas crianças, o chumbo solúvel parece ser mais absorvido do que em adultos, chegando entre 40-50% do elemento em uma dose oral, contra 3-10% no grupo de maior idade (SANDERS et al., 2014; ATSDR, 2019).

Na dieta, o teor de minerais presente em alimentos pode contribuir com uma menor absorção do chumbo, pois o cálcio e fósforo das refeições consumidas reduzem a absorção do elemento ingerido (ATSDR, 2019). Além disso, deficiências

nutricionais de ferro e cálcio em crianças podem resultar em uma maior absorção do elemento, chegando até a mesma proporção de crianças expostas, mas com nutrição rica em ferro e cálcio (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019). A principal hipótese para ocorrência de tal fato provavelmente se deve ao aumento da ligação do chumbo às proteínas intestinais que se ligariam ao ferro, bem como de interações entre esses elementos que podem envolver mecanismos de transferência intracelular ou basolateral (ATSDR, 2019). O mesmo pode ocorrer com o cálcio e provavelmente com outros elementos catiônicos divalentes, tais como o cádmio, o cobre, o magnésio e o zinco (ATSDR, 2019).

A absorção do chumbo solúvel oriundo do solo dependerá de sua bioacessibilidade no trato gastrointestinal e poderá envolver a digestão física ou química das partículas de chumbo depositadas para os fluidos gastrointestinais, a transferência de espécies de chumbo de partículas presentes na superfície do solo para o meio aquoso do trato gastrintestinal e a transformação química desses minérios em chumbo solúvel que sofrerão transporte absorptivo (ATSDR, 2019). Em crianças, entretanto, não há estudos que reportem mensurações sobre a absorção do chumbo proveniente de solo no organismo (ATSDR, 2019).

Além das vias inalatória e oral, o chumbo inorgânico também pode ser absorvido pela via dérmica, sendo que, em comparação às outras duas, essa é menos eficiente em termos de absorção no organismo humano, ocorrendo mais em compostos orgânicos de chumbo (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019).

A distribuição do chumbo no organismo não dependerá da via de exposição, mas sim da taxa de transferência do sangue para diferentes órgãos e tecidos, que irá divergir significativamente pela idade (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019).

O primeiro compartimento de chumbo que o chumbo irá percorrer é o sangue (MOREIRA e MOREIRA, 2004). Os níveis do elemento na matriz irão variar com a idade, fisiologia e outros diversos fatores, também sendo comumente encontrados níveis mais elevados nas crianças do que em adultos (ATSDR, 2019). Ainda que menos de 2% da carga corpórea de chumbo esteja presente nessa matriz, cerca de 90 a 99,8% do chumbo presente no sangue se concentra nas hemácias (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019).

O principal caminho proposto que facilita transferência do chumbo pelas hemácias é o bloqueio de um trocador iônico dependente de bicarbonato (HCO_3^-) por inibidores (ATSDR, 2019). Além disso, a relação entre chumbo e cálcio também pode facilitar na permeabilidade do chumbo (ATSDR, 2019). Nas hemácias, o chumbo irá se ligar com proteínas intracelulares, podendo ocasionar um polimorfismo da enzima ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALAD) (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019). Em relação às alterações cinéticas do chumbo no organismo, essa ligação saturada entre o metal e a enzima será a mais significativa (MOREIRA e MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019), podendo elevar a concentração de chumbo na fração plasmática do sangue em relação ao sangue total, com consequente aumento do chumbo disponível para conferir toxicidade, sendo geralmente observado quando a concentração do elemento é superior a $10 \mu\text{g.dL}^{-1}$ (ATSDR, 2019). Conforme isso ocorre, o chumbo no sangue irá saturar e uma parte do chumbo no sangue se torna disponível no plasma sanguíneo é distribuído para o cérebro e outros tecidos e órgãos receptivos ao metal, conferindo toxicidade (MOREIRA e MOREIRA,

2004; ATSDR, 2019). Essa disponibilidade é notada em crianças, onde vêm sendo constatado que a relação entre os níveis de chumbo no sangue e a dose ingerida do elemento sofre decréscimo com o aumento da idade (ATSDR, 2019). Essa distribuição do sangue para outros órgãos dependerá de um gradiente de concentração, bem como da afinidade do órgão por onde o chumbo permeia (MOREIRA e MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019)

O segundo compartimento de chumbo onde o chumbo é distribuído no organismo são os tecidos moles. Os principais tecidos onde o elemento é encontrado são a aorta, o fígado e os rins e, à exceção da aorta, a capacidade de armazenamento nos órgãos tenderá a se estabilizar na vida adulta, podendo, ainda, decrescer com a idade (MOREIRA E MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019). A presença do elemento nos tecidos moles se deve às ligações do metal com proteínas. Apesar das funções dessas ligações ainda não estarem bem estabelecidas é sugerido que essas proteínas atuam como um receptor de chumbo sistólico que, ao ser transportado para o núcleo, forma ligações com a cromatina, modulando expressões genéticas (ATSDR, 2019).

O terceiro principal compartimento de distribuição do chumbo se consiste basicamente nos ossos (MOREIRA e MOREIRA, 2004). A maior parte do elemento irá bioacumular nessa matriz, sendo que nas crianças, cerca de 73% da carga corpórea do elemento está presente nessa matriz, um percentual menor em comparação à carga dos adultos (94%) (MOREIRA e MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019).

Outro fator importante que contribui com o aumento dos níveis de chumbo no sangue de crianças é a amamentação, onde o metal pode ser transferido de mães expostas aos filhos, sendo que diversos estudos vêm correlacionando níveis do elemento no sangue materno e no

leite, bem como sugerindo que o chumbo presente no leite materno contribui significativamente (40-80%) com o perfil isotópico do sangue de crianças (ATSDR, 2019).

O tempo de meia-vida do chumbo sofre variação de acordo com o compartimento no corpo (até 36 dias no sangue, 40 dias em tecidos moles e 27 anos nos ossos) (MOREIRA e MOREIRA, 2004).

A excreção do chumbo se dá principalmente pela urina (excreção renal) e pelas fezes (excreção gastrointestinal), independentemente da via de exposição (MOREIRA e MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019). A excreção irá variar com a idade, com as características da exposição e espécie do elemento (MOREIRA e MOREIRA, 2004). Em crianças, a taxa total de excreção é maior quando comparadas aos adultos, sendo que crianças de até dois anos, por exemplo, retém cerca de 34% do total de chumbo absorvido, contra 1% da população adulta (MOREIRA e MOREIRA, 2004).

A excreção gastrointestinal irá ocorrer por secreção de glândulas, incluindo a pancreática, além da excreção biliar formando um complexo chumbo-glutationa. Cerca de 90% do total excretado corresponde ao chumbo ingerido e engolido nas partículas atmosféricas que não foram absorvidos (MOREIRA e MOREIRA, 2004)

Já em relação à excreção renal, há dificuldades em caracterizar um mecanismo de excreção do elemento, devido à medição do chumbo ultrafiltrável no plasma e, portanto, na medição de uma taxa de filtração glomerular (MOREIRA e MOREIRA, 2004; ATSDR, 2019).

Além dessas duas vias de excreção, o chumbo também pode ser eliminado pelo suor, pela saliva, pelo cabelo, pelas unhas, pelo leite materno e pelos fluídos seminais, porém em menor proporção em relação as outras duas (ATSDR, 2019).

Abaixo é apresentado um exemplo de mecanismo toxicocinético do elemento (Figura 01).

Figura 01 Mecanismo toxicocinético do chumbo no organismo humano

Fonte: Paoliello e de Capitani in: Azevedo e Chasin, 2003.

Quanto aos efeitos observados em crianças, o chumbo afetará principalmente o Sistema Nervoso Central (SNC) em crianças em fase de desenvolvimento, não possuindo nenhum nível seguro no sangue para as mesmas (IKEGAMI et al., 2016; ATSDR, 2019). Mesmo a exposição de gestantes ao elemento também pode trazer alterações no desenvolvimento neurológico de seus filhos, podendo transferir o chumbo de seu sangue para

o feto, ou ainda, pelo leite materno, conforme discutido anteriormente (MOREIRA e MOREIRA, 2004; IKEGAMI et al., 2016; ATSDR, 2019).

No período da infância, a alta concentração de chumbo no sangue ($>5 \mu\text{g.dL}^{-1}$) vem sendo associada com desfechos de hiperatividade, déficit de atenção, problemas comportamentais e deficiências na cognição, perda auditiva e anemia (OLYMPIO et al., 2009; OLYMPIO et al., 2010; CHEN et al., 2018; LIU et al., 2018a; NIH, 2018a; ATSDR, 2019). Comportamentos antissociais em adolescentes e adultos, tais como agressividade e delinquência podem ser sintomas de exposição na infância ao elemento (DIETRICH et al., 2001; NEEDLEMAN et al., 2002; WRIGHT et al., 2008; OLYMPIO et al., 2009; OLYMPIO et al., 2010).

Mesmo estando em níveis considerados baixos no sangue ($<5 \mu\text{g.dL}^{-1}$), o chumbo ainda pode ocasionar transtornos de déficit de aprendizagem e redução de rendimento escolar (OLYMPIO et al., 2009; BURM et al., 2016, EOM et al., 2018, LIU et al., 2018a; LIU et al., 2018b).

Anteriormente, o *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) havia estabelecido uma ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) de $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ peso corporal⁻¹. Porém, com o surgimento de evidências em estudos epidemiológicos associando exposições ao elemento pela dieta com desfechos negativos à saúde, ainda a níveis inferiores ao valor tolerável, a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a definir que não existe limite de tolerância para ingestão de chumbo (WHO, 2011).

O *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), que tem por objetivo avaliar a saúde e a alimentação de crianças e adultos estadunidenses (CDC, 2018a), adota como valor de referência para tomada de ações de saúde pública a concentração de 5

$\mu\text{g.dL}^{-1}$ em crianças, sendo que só nos Estados Unidos, um país desenvolvido, cerca de meio milhão de crianças entre 1 e 5 anos têm níveis de chumbo no corpo acima desse valor (CDC, 2017).

Quanto aos efeitos carcinogênicos, o elemento está classificado pela US-EPA (1988) como B2 (provável carcinógeno para humanos, devido evidências de carcinogenicidade em animais) e pela IARC-WHO (2018) como possivelmente carcinogênico para humanos (2B) quando na forma elementar; provavelmente carcinogênicos para humanos (2A) para seus compostos inorgânicos; e classificado como não carcinogênico para humanos (3) quando em compostos orgânicos.

1.2.2 Toxicocinética do Cádmio e Efeitos Associados

Diferentemente do chumbo o cádmio tanto na forma metálica, quanto em sais não possuem uma boa absorção, sendo que apenas <1% de uma possível dose é absorvida via inalação, ingestão ou contato dérmico e a maior parte do cádmio que é absorvido tem como destino os rins e o fígado e sua excreção ocorrerá lentamente (ATSDR, 2012b; WANG et al., 2017, CHEN et al., 2018). Além disso, sua toxicidade dependerá do seu estado físico, forma química e estado de oxidação (SAH et al., 2017).

O cádmio metálico e seus sais estão presentes em partículas finas suspensas que, quando inaladas uma parcela pode acabar sendo depositada nas vias aéreas ou mesmo nos

pulmões, enquanto o restante é exalado, sendo que a forma com que será absorvido não apresenta correlação com a solubilidade, mas sim do tamanho da partícula (ATSDR, 2012b). Partículas grossas ($>10\ \mu\text{m}$) irão se depositar nas vias aéreas superiores, ao passo que as partículas menores (aproximadamente $0,1\ \mu\text{m}$) tenderão a entrar nos alvéolos pulmonares (ATSDR, 2012b). Os sais solúveis do metal (cloretos e sulfatos de cádmio) podem ter sua absorção limitada pelas partículas que são depositadas na árvore brônquica (ATSDR, 2012b).

Entretanto, não existem dados precisos acerca da deposição de cádmio, sua retenção e absorção em pulmões humanos, havendo apenas estudos realizados em animais (ATSDR, 2012b). A carga pulmonar de cádmio, quando cessada a exposição ao elemento, irá declinar lentamente ao passo que será absorvido nos pulmões (ATSDR, 2012b).

Quanto à exposição oral, a maior parte do cádmio ingerido não é absorvido pelo trato gastrointestinal, sendo que sua absorção é difícil de ser mensurada, pois uma parte da dose retida pelo trato gastrointestinal pode não ser absorvida, ficando presa na mucosa intestinal (ATSDR, 2012b). Há uma estimativa de que pessoas americanas saudáveis e não-fumantes absorvem entre 3-5% de cádmio (ATSDR, 2012b). A reserva de ferro no corpo pode influenciar na absorção do cádmio no organismo, sendo que enquanto alguns estudos apontam que a deficiência do primeiro proporcionará o aumento da absorção do segundo, outros encontraram baixos níveis do elemento em pessoas anêmicas (ATSDR, 2012a; 2012b). Já a exposição dérmica ao elemento, quando ocorre, é lenta e necessita do contato com soluções concentradas de cádmio, durante várias horas (ATSDR, 2012b).

Após absorvido, o cádmio será distribuído no corpo e, conforme mencionado anteriormente, a maior carga corpórea está localizada no fígado e nos rins, sendo o segundo o principal local de armazenamento e alvo do elemento após exposições prolongadas

(ATSDR, 2012b; WANG et al., 2017). A maior parcela de pessoas expostas em ambiente não-ocupacional está exposta ao elemento em função principalmente da dieta, sendo que o cádmio pode ser encontrado em todos os tecidos de adultos de países industrializados (ATSDR, 2012b). Diferentemente do chumbo, as concentrações de cádmio nos rins tendem a aumentar com a idade, com auge entre 50-60 anos (ATSDR, 2012b). De maneira semelhante, os níveis do elemento no fígado tendem a aumentar significativamente com a idade até atingir entre 20-25 anos e, após essa idade, sofre leves aumentos (ATSDR, 2012b).

Durante a gravidez, a placenta pode reter certo nível do cádmio, acumulando uma concentração cerca de dez vezes maior do que a encontrada no sangue materno, o que acaba reduzindo a exposição do feto ao elemento (ATSDR, 2012b). No leite materno, os níveis de cádmio são cerca de 5-10% do encontrado no sangue materno, provavelmente devido às ligações da metalotioneína com o cádmio nas células sanguíneas, o que acaba por inibir a transferência do elemento do sangue (ATSDR, 2012).

Conforme mencionado anteriormente, a excreção do cádmio ocorre lentamente pela urina e pelas fezes, em proporções semelhantes, sendo que sua meia vida chega a variar entre 15 e 30 anos (ATSDR, 2012b; WANG et al., 2017; CHEN et al., 2018). Além do fígado e dos rins, a carga corpórea do elemento inclui músculos, pele e ossos (ATSDR, 2012b).

A figura abaixo exemplifica um dos modelos farmacocinéticos proposto para o cádmio (Figura 02).

Figura 02 Exemplo de modelo farmacocinético para o cádmio

Fonte: adaptado de ATSDR, 2012.

Em relação aos efeitos tóxicos observados, o mais relevante é a carcinogenicidade. O cádmio está classificado pela US-EPA (1987) como provável carcinógeno em humanos, baseado em estudos limitados realizados com humanos (B1). Porém, para a Agência Internacional para Pesquisa em Câncer da Organização Mundial de Saúde (IARC-WHO), o elemento é classificado como carcinogênico para humanos (1), podendo causar câncer de pulmão, além de estar associado a outros tipos de câncer em rins e próstata (WASEEM, 2016; IARC-WHO, 2018). Além da associação a câncer de pulmão, o cádmio também é nefrotóxico e pode causar desordens fisiológicas (KIM et al., 2018; LIU et al. 2018a).

Existem evidências de que o cádmio causa danos às células ao produzir espécies ativas de oxigênio, causando danos na fita simples e destruição do ácido nucléico (CHEN et al., 2018). Dentre os efeitos sistêmicos por longa exposição ao elemento, quando a via de exposição se dá pela ingestão, o elemento afetará principalmente os rins e os ossos (ATSDR, 2012a; WASEEM, 2016; WANG et al., 2017; KIM et al., 2018b; LIU et al., 2018b). Já se inalado, irá acometer os pulmões e os rins (ATSDR, 2012a; WASEEM, 2016; WANG et al., 2017). Os principais desfechos observados são: lesões de túbulo renal, danos glomerulares, diminuição da mineralização dos ossos e aumento de fraturas, redução das funções pulmonares e enfisema (ATSDR, 2012a; WASEEM, 2016; WANG et al., 2017).

Em baixas doses por longo período de exposição, o elemento pode causar apoptose celular no fígado e nos rins, doença cardiovascular, disfunção reprodutiva, diabetes e osteoporose (CHEN et al., 2018; KIM et al., 2018). Em crianças, devido à bioacumulação do metal, exposições em baixos níveis podem ocasionar desfechos em longo prazo, especialmente na composição e desenvolvimento dos ossos (ATSDR, 2012a; WASEEM, 2016; WANG et al., 2017).

Pesquisas vêm sugerindo que a exposição ao cádmio em países industrializados pode causar toxicidade já nos primeiros anos de vida, sendo que, relativo à dieta de crianças expostas à baixas doses de cádmio foram encontradas associações entre os níveis de cádmio na urina e disfunção renal, retardamento do crescimento e problemas no desenvolvimento cognitivo (DE BURBURE et al., 2006; CIESIELSKI et al., 2012; KIPPLER et al., 2012; GARDNER et al., 2013; RODRÍGUEZ-BARRANCO et al., 2014; WANG et al., 2017).

1.2.3 Efeitos Tóxicos Pela Interação entre Chumbo e Cádmio

Com o avanço da tecnologia, diversas ferramentas estatísticas vêm possibilitando mensurar os componentes de exposições agregadas, como as exposições múltiplas no ambiente e em amostras biológicas, e possibilitando entender melhor o impacto à saúde que elas trazem (HAMRA e BUCKLEY, 2018). O termo mistura pode estar relacionado a um conjunto de compostos ou classes químicas, ou ainda, no conceito do expossoma, descrever todas as exposições que um ser humano sofre (HAMRA e BUCKLEY, 2018).

Existem basicamente quatro tipos de exposição a misturas. A exposição agregada irá ocorrer quando todo um conjunto de compostos é tratado como uma única exposição - tal como ocorre quando observamos os efeitos das partículas finas no ambiente, por exemplo (HAMRA e BUCKLEY, 2018). Já os estudos de efeitos aditivos são constituídos de uma combinação individual dos componentes da mistura, sendo atribuídos pesos para cada um deles (HAMRA e BUCKLEY, 2018). Os estudos de efeitos independentes irão se concentrar

em avaliar o efeito isolado de cada componente da mistura - como ocorreria se fossem conhecidos cada componente das partículas finas, bem como o devido impacto à saúde que cada um ocasiona (HAMRA e BUCKLEY, 2018). Por fim, os estudos de efeito conjunto buscarão avaliar interações entre as múltiplas exposições (HAMRA e BUCKLEY, 2018).

As misturas de elementos potencialmente tóxicos aos quais o ser humano pode estar exposto podem estar associadas a efeitos sinérgicos prejudiciais à saúde (SANDERS et al., 2014; FREIRE et al., 2017). Quanto a essa combinação de elementos, estudos com animais já evidenciaram que a exposição a mais de um metal potencializa os efeitos toxicológicos das substâncias (SANDERS et al., 2014). Entretanto, as limitações estatísticas acabam afetando os estudos que avaliam a sinergia entre metais (SANDERS et al., 2015). Por exemplo, o efeito dessa interação entre os metais no desenvolvimento do cérebro permanece limitado, com alguns resultados inconsistentes (FREIRE et al., 2017).

KIM et al. (2013) encontraram associação inversa entre os níveis de chumbo e os escores para desenvolvimento psicomotor e cognitivo em 17 crianças de 6 meses de idade com maior exposição ao cádmio. Contrariamente a essa associação, outro estudo (CIESIELSKI et al., 2012) mostrou não haver interação significativa entre chumbo no sangue e cádmio na urina na associação entre problemas de aprendizado em crianças de 6 a 15 anos e exposição aos metais.

Na Tailândia, LIN e LIN (2018) relacionaram a avaliação probabilística de riscos à abordagem do Índice de Risco Interativo (HI_{INT}) para avaliar o risco à saúde humana de populações de diferentes faixas etárias devido à exposição à mistura de chumbo, cádmio, arsênio inorgânico, e metilmercúrio, representada pela ingestão alimentar de frutos do mar, através da técnica de Monte Carlo. Os autores sugerem que a mistura entre esses elementos

influencia sinergicamente na toxicidade neurológica, sendo que os pré-escolares apresentaram um maior risco neurológico, com uma probabilidade de 19%. Em contraponto, a mistura também pode causar efeitos antagônicos renais e hematológicos, além de efeitos aditivos cardiovasculares, o que demonstra que a não consideração das interações tóxicas das misturas químicas podem subestimar ou superestimar os riscos à saúde (LIN e LIN, 2019).

1.3 O USO DE BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO A ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

Quando falamos em exposição aos EPTs, uma das formas de se avaliar a exposição a esses elementos é a biomonitorização humana, sendo este um importante instrumento de avaliação das concentrações desses compostos em amostras biológicas (sangue, urina, saliva, unha, cabelo, entre outros) (LAOHAUDOMCHOK et al., 2011; WASEEM E ARSHAD, 2016). Para isso, é feito o uso de biomarcadores.

Uma das definições aplicáveis a este termo é a de que “biomarcadores são características que são objetivamente medidas e avaliadas como indicadores de processos fisiológicos normais, processos patológicos, ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica” (BIOMAKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001 apud SWENBERG et al., 2008).

Dentro desse contexto, os biomarcadores de exposição (ou biomarcadores de dose interna) são aqueles que indicarão a presença de um xenobiótico ou de um produto de

biotransformação em uma amostra biológica devido a determinada exposição, mas não necessariamente apresentando risco de ocorrência de desfechos negativos ao organismo (NRC, 1987; DELLA ROSA, 2008 apud KUNO, 2009). Estes são importantes indicadores que permitem verificar a presença de contaminantes e de seus metabólitos no organismo, além de auxiliar na compreensão da relação entre uma exposição, as doses biologicamente efetivas de um contaminante e o progresso ocasional de um desfecho em fase clínica ou subclínica. Em função disso, os biomarcadores são amplamente utilizados em estudos epidemiológicos (LAOHAUDOMCHOK et al., 2011; WASEEM E ARSHAD, 2016).

A escolha correta de um biomarcador que será capaz de refletir uma exposição ambiental à determinada substância química dependerá de uma análise meticulosa de fatores intrínsecos à sua escolha, permitindo assim compreender os mecanismos que estão associados a seus efeitos no organismo (KUNO et al., 2009).

Primeiramente, é necessário que seja possível quantificar seus níveis (ou de seus metabólitos) na matriz biológica pretendida. É necessário levar em conta também: a população a ser estudada (características que podem levá-la à exposição), a exposição a qual está submetida (seu tipo, suas rotas no ambiente e suas principais vias) e a matriz onde a substância ou metabólito será encontrado (KUNO et al., 2009). O período da exposição a ser estudado também é um critério importante para a seleção correta de um biomarcador (GRASHOW et al., 2015).

As matrizes biológicas de escolha para análise da exposição humana aos metais tem sido sangue e urina (BARBOSA JR. et al., 2005), especialmente para chumbo e cádmio, respectivamente. No entanto, a coleta de sangue é invasiva e isso pode diminuir a adesão do

participante ao estudo e, tanto o sangue, quanto a urina precisam de cuidados específicos no transporte e armazenamento das amostras (AB RAZAK et al., 2015b).

A seguir será dado enfoque aos biomarcadores de chumbo e cádmio no sangue e na unha. A primeira matriz será utilizada como biomarcador de escolha para a avaliação da exposição de pré-escolares, uma vez que seu uso na avaliação da exposição aos elementos potencialmente tóxicos é mais bem estabelecido na literatura se comparado à unha, principalmente para o chumbo. Já a segunda é objeto de interesse do presente estudo, sendo correlacionada com a primeira na busca de estabelecer tendências entre os níveis dos elementos nas matrizes.

1.3.1 Chumbo e Cádmio em Sangue Venoso

De todas as matrizes disponíveis para a biomonitorização da exposição ao chumbo, o sangue é o mais utilizado, sendo que o elemento presente nessa matriz é considerado o mais confiável biomarcador de exposição, sendo preferível o sangue venoso (ATSDR, 2019).

Conforme mencionado anteriormente, nas crianças o valor de referência de chumbo no sangue é dinâmico e atualmente estabelecido pelo CDC em $5 \mu\text{g.dL}^{-1}$, correspondendo ao percentil 97,5 nas crianças estadunidenses encontrado em 2012 (CDC, 2013; 2017; ATSDR, 2019). Valores acima dessa concentração são considerados elevados em crianças (CDC, 2017; ATSDR, 2019).

Existem, entretanto, algumas limitações quanto ao uso do chumbo no sangue para avaliar a carga corpórea do elemento. Apenas 2% do elemento estão presentes nessa matriz, uma vez que a carga corpórea se concentra nos ossos. Além disso, o chumbo, comparado ao osso, é rapidamente eliminado do organismo. Ainda, os níveis de chumbo no sangue conseguem refletir apenas exposições mais recentes (ATSDR, 2019), a não ser que se façam coletas sucessivas ao longo do tempo.

Apesar de o cádmio ser encontrado principalmente na urina, o elemento também pode ser quantificado no sangue e, de forma semelhante ao chumbo, o cádmio no sangue poderá refletir exposições recentes ao elemento (ATSDR, 2012b).

1.3.2 Chumbo e Cádmio em Unhas

Os níveis de metais em unha podem ser biomarcadores de exposição ambientais potenciais. O uso desta matriz biológica possui aplicabilidade na avaliação de exposição aos EPTs, apresentando vantagens em comparação a outras matrizes citadas anteriormente. A coleta das amostras ocorre de maneira simples, não-invasiva e indolor. Outra vantagem é a facilidade no transporte e armazenamento desse tipo de amostra devido sua estabilidade (BARBOSA JR. et al., 2005; GRASHOW et al., 2015).

Um dos fatores mais importante para definir o tipo de exposição à qual um indivíduo pode estar sujeito é o tempo. Exposições subcrônicas são aquelas que ocorrem repetidas vezes, pelas vias oral, inalatória ou contato dérmico por mais de 30 dias, até

aproximadamente 10% do tempo de vida do ser humano (US-EPA, 2011). Em unhas, é possível refletir exposições subcrônicas aos EPTs, podendo variar entre 2 e 12 meses para unhas dos pés, e entre 5 e 6 meses para unha das mãos, chegando a uma taxa de crescimento de 3 a 3,47 mm/mês, sendo que o biomarcador já não participa mais de processos metabólicos após a formação das mesmas (VIANA et al., 2014; AB RAZAK et al., 2015a; SAKAMOTO et al., 2015).

Apesar do chumbo na unha poder ser utilizado como biomarcador de exposição, as unhas podem sofrer contaminação de chumbo por fontes externas à matriz (BARBOSA et al., 2005; ATSDR, 2019; OLYMPIO et al., 2019¹). Já em relação ao cádmio nas unhas, não é bem definida sua significância como biomarcador de exposição nesses elementos (ATSDR, 2012b) porque os mecanismos farmacocinéticos do cádmio anteriormente apresentados não relatam unhas como matrizes de excreção do elemento.

1.4 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho complementa estudo anterior realizado por OLYMPIO et al (2018), cujos achados contribuíram para o estudo da exposição de pré-escolares aos metais. A contar da provável subestimação do número de crianças sob risco de exposição ao chumbo na América Latina e da existência de *hot spots* de áreas contaminadas por metais (OLYMPIO

¹ Este estudo trata-se do artigo submetido à revista Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, intitulado “*Are fingernail lead levels a reliable biomarker of lead internal dose?*” Atualmente, encontra-se em vias de publicação

et al, 2017)), é necessário que haja cada vez mais estudos que busquem não somente avaliar os níveis desses elementos em pré-escolares, mas também comprovar a eficácia de candidatos a biomarcadores promissores na avaliação dos diversos tipos de exposição.

Estudar a exposição subcrônica aos elementos por níveis de exposição é uma das formas de tentar encontrar correlações mais robustas entre os níveis de metais encontrados no sangue (biomarcador “padrão-ouro”) com os níveis dos mesmos metais encontrados na urina de forma a tentar estabelecer valores de referência para os metais em urina.

A urina foi escolhida para este estudo em função da coleta simplificada, não invasiva e economicamente viável em comparação a outras matrizes biológicas (BARBOSA JR et al., 2005; GRASHOW et al., 2015). No mais recente cenário da pesquisa no Brasil, temos os mais baixos níveis de financiamento federal para ciência e tecnologia da história moderna (ESCOBAR, 2017), além da falta de engajamento da população com a pesquisa (ALISSON, 2018). Frente ao exposto, o uso da urina seria uma alternativa tecnológica aplicável. Para isso, fez-se necessário verificar sua eficácia para a exposição aos metais, comparando-se os resultados obtidos na urina com os encontrados por OLYMPIO et al (2018) no sangue venoso.

A negligência do poder público e/ou a falta de conhecimento dos diretores de secretarias de educação, diretorias regionais de ensino, de escolas, dos professores e dos pais e responsáveis acerca do cenário de exposição ambiental a elementos potencialmente tóxicos, no qual as crianças pré-escolares estão ou podem estar inseridas, pode perpetuar o risco de ocorrência dos desfechos abordados anteriormente. Desta forma, este estudo se justifica por propor estudar biomarcadores, cujos empregos sejam mais viáveis financeiramente para estudos de exposição ambiental de crianças ao chumbo e ao cádmio, ambos elementos

químicos presentes entre os dez químicos prioritários eleitos pela Organização Mundial de Saúde.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os biomarcadores chumbo e cádmio em unha das mãos de crianças pré-escolares como instrumentos de biomonitorização de exposição subcrônica em crianças pré-escolares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Correlacionar as concentrações de chumbo e cádmio no sangue com as concentrações determinadas nas unhas;
- 2) Analisar se a correlação possivelmente encontrada sofre interferência da intensidade de exposição;
- 3) Verificar a correlação entre as concentrações dos elementos chumbo e cádmio tanto no sangue, quanto na unha.

3 METODOLOGIA

Este estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (Protocolo #128.943) e todos os pais ou responsáveis dos pré-escolares que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO E PREPARO PRÉ-COLETA

A população participante deste estudo faz parte do estudo realizado por OLYMPIO et al. (2018), intitulado “*Blood lead and cadmium levels in preschool children and associated risk factors in Sao Paulo, Brazil*”, com amostragem realizada em 2013.

Originalmente participaram do estudo 2.433 pré-escolares, com idade entre 1 e 4 anos, de 50 Centros de Educação Infantil (CEI), distribuídos entre 12 Diretorias Regionais de Educação (DRE) da Secretaria Municipal de Educação de São Paulo-SP, localizadas nas Zonas Geográficas Noroeste², Sul e Leste da cidade de São Paulo. Essas crianças permaneciam no CEI por um período de 10 horas por dia.

² Para equilíbrio da distribuição amostral, as Zonas Geográficas Norte e Oeste foram agrupadas em uma nova zona, denominada “Zona Noroeste”.

Metade das escolas estavam localizadas em ruas de alta densidade de tráfego e o restante em ruas de baixa densidade de tráfego de veículos, sendo a densidade de tráfego veicular um dos fatores de risco categorizados. Essa categorização foi baseada na classificação das vias realizadas pela Companhia de Engenharia do Tráfego de São Paulo (CET), de acordo com suas funções (expressas; arteriais 1, 2 e 3; coletoras 1 e 2; e locais). Essa classificação está correlacionada ao volume de tráfego (SILVA et al., 2006), sendo consideradas as vias coletoras e locais como de baixa densidade e as vias expressas e arteriais como de alta densidade (OLYMPIO et al., 2018).

Durante o planejamento do referido estudo, houve articulação com as Diretorias de Ensino de cada região, diretores e funcionários dos CEI. Também foram realizadas palestras para atores envolvidos, em especial os pais e responsáveis dos pré-escolares, sempre realizadas nos CEI, com o objetivo de contextualizar e esclarecer a relevância do estudo, obtendo como resultado uma grande adesão por parte dos pais e responsáveis.

Dois questionários foram aplicados pelos pesquisadores do estudo de Olympio et al (2018), com o intuito de coletar dados sociodemográficos e investigar fatores potenciais de risco de exposição a chumbo e cádmio oriundos tanto do domicílio quanto do CEI frequentado pelo pré-escolar. O primeiro foi aplicado aos pais ou responsáveis da criança, enquanto o segundo foi preenchido pelos pesquisadores por observação *in loco* e auxílio do diretor do CEI. Os questionários foram tabulados, gerando-se um banco de dados para posterior análise estatística.

Para o presente estudo foi selecionada uma subamostra de 602 crianças pré-escolares distribuídas em 21 CEI (Figura 03), para determinação das concentrações de chumbo e cádmio na matriz unha, que foi coletada conjuntamente ao sangue venoso. O

mesmo banco foi utilizado, sendo gentilmente cedido pela autora principal do estudo original. Importante destacar que, para o presente estudo, foram analisadas as amostras de unha coletadas em estudo de OLYMPIO et al (2018) e, para o sangue, foram usados dados secundários, obtidos no mesmo estudo.

Figura 03 Localização dos CEI por zonas da cidade de São Paulo

3.2 COLETA, ARMAZENAMENTO E PREPARO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de sangue venoso e unhas das mãos dos pré-escolares participantes, por uma equipe de pesquisadores da Universidade de São Paulo e auxiliares de

enfermagem da mesma equipe de pesquisa, coordenada pela Professora Dra. Kelly Polido Kaneshiro Olympio, em cada CEI, ao final de um dia letivo, sempre na presença do pai ou responsável. O número de dias necessário para coletar as amostras de cada CEI variou em função do número de pré-escolares que frequentavam o respectivo CEI. Foram distribuídas senhas por ordem de chegada dos pais e responsáveis, formando-se filas. Devido a rotina dos mesmos, a coleta deveria ocorrer o mais brevemente possível, a fim de evitar possíveis desistências (OLYMPIO et al., 2018).

3.2.1 Sangue Venoso

Para o sangue venoso, foram coletados cerca de 5 mL de amostra, totalizando 2.433 amostras. Os materiais usados para coleta foram tubos Vacutainer heparinizados e livres de metais. As amostras foram armazenadas a -22 °C, no Laboratório de Análise da Exposição Humana à Contaminantes Ambientais (LEHCA), para posterior determinação dos níveis de chumbo e cádmio.

Cerca de 200 µL da amostra de sangue foram diluídos na proporção 1:50 em tubo Falcon® (15 mL) de polipropileno, contendo solução de 0,01% (v/v) Triton® X-100, 0,5% (v/v) de ácido nítrico (HNO₃) e 10 µg.L⁻¹ de Ródio (Rh) como padrão interno (OLYMPIO et al., 2018).

As amostras de sangue foram encaminhadas para análise na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A análise foi realizada por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, em quadruplicata (Elan DRC II ICP-MS), em modo padrão. O controle de qualidade foi

realizado analisando Material de Referência para sangue humano (QMEQAS07B06 e QMEQAS07B03) (Seronom® TE Whole Blood Level I and II, Immuno Heidelberg, do *L'Institut National de Sante Publique du Quebec*, Canadá) (OLYMPIO et al., 2018).

Todas as etapas realizadas acima foram realizadas pela equipe anteriormente citada, cujo detalhamento está descrito no estudo de Olympio et al. (2018).

3.2.2 Unhas

Geralmente, nos estudos que avaliam níveis de metais em unhas, há maior preferência pelo uso das unhas dos pés às das mãos em função de uma maior possibilidade de ocorrência dessas contaminações externas em unhas das mãos, visto que as unhas dos pés podem estar menos expostas ao ambiente (HE, 2011; LAOHAUDOMCHOK et al., 2011). Entretanto, no presente estudo, por questões de preservação do bem-estar, de otimização da pesquisa de campo e de limitação de recursos humanos e financeiros, optou-se pela coleta das unhas das mãos às dos pés. A coleta ocorria ao final do dia, necessitando ser breve para minimamente interferir na rotina dos pais e responsáveis, bem como otimizar o tempo disponível. Além disso, as coletas de sangue, seguida pela das unhas dos pés poderia resultar em um maior estresse da criança e, conseqüentemente do responsável, uma vez que seria necessário remover os calçados da criança e depois recolocá-los, resultando em um processo mais demorado.

Foram coletadas amostras das unhas dos polegares das mãos esquerda e direita

de cada indivíduo de cerca de 1.500 pré-escolares. Os clipes de unha foram obtidos através do corte com cortador de aço inoxidável. As amostras de unhas foram armazenadas em tubos de microcentrífuga, livres de Ribonuclease (RNase), em temperatura ambiente, até o segundo semestre de 2018, quando se deu início à etapa de preparo das amostras selecionadas para o presente estudo (Figura 04).

Figura 04 Fluxograma das etapas de coleta e armazenamento das amostras de unha.

Fonte: figuras retiradas de Google imagens.

Cabe ressaltar que a coleta e armazenamento das amostras de unha também foram realizados pela equipe coordenada pela Professora Dra. Kelly Polido Kaneshiro Olympio.

Já em relação ao preparo das amostras, pares de unhas das mãos esquerda e direita foram reunidas, para cada indivíduo, visando compor uma única amostra a ser analisada, sendo selecionadas amostras de 602 pré-escolares. As amostras foram lavadas com cerca

de 600 μ L de acetona (Merck, Darmstadt, Germany) sob agitação em ultrassom (LU, SERCON) em potência máxima, por 1 minuto.

Em seguida, a acetona era descartada e foi adicionada água deionizada para o enxágue. Realizou-se lavagem com solução de ácido clorídrico 0,1M (HCl 37% Emsure®, Merck), agitando-se a amostra (Mesa agitadora, modelo Q225M, fabricante Quimis, São Paulo, Brasil) por 1 minuto à 450 rpm, enxaguando-se novamente com água deionizada de alta pureza. Em uma sala limpa, foi removido o excesso da água de enxágue dos tubos que em seguida foram dispostos em capela (1000, Vidy) para secagem, durante 1 semana.

Após a secagem, as amostras foram pesadas em uma balança micro analítica (ED124S, Sartorius). A massa das amostras variou entre 0,15 e 11,28 mg. Durante a pesagem das unhas foi observado que parte das amostras apresentaram uma aparência diferenciada do comumente observado em uma unha considerada limpa, com um aspecto visual amarelado, acinzentado ou com manchas. Foram então classificadas em dois grupos: “aparência normal” e “aparência diferenciada”. Dois pesquisadores julgaram o aspecto com base na comparação visual.

Posteriormente, em sala limpa com pressão positiva (ISO 8, Vidy), as amostras pesadas e classificadas foram transferidas para tubos Falcon® (15 mL) de polipropileno, para digestão através de adição de 200 μ L de ácido nítrico 65% (v/v) (Emsure®, Merck), bidestilado (BSB-939-IR, Sub Boiling Destillacid, Berghof). Os tubos foram aquecidos em banho termostatizado Dubnoff (MA 127, Marconi) a 90 °C, por 30 minutos. Logo após a digestão, as soluções foram diluídas para 2 mL com água deionizada de alta pureza e armazenadas sob refrigeração (Electrolux Frost Free DF34) entre 6-10°C, durante 1 semana até o momento da análise.

Tanto no procedimento de lavagem, quanto no preparo das soluções e no avolumamento das amostras, foi utilizada água deionizada ultrapura tipo I usando um sistema de purificação Milli-Q (Millipore®).

O procedimento de preparo das amostras (lavagem e digestão) foi realizado no Laboratório de Processos Metalúrgicos do Centro de Tecnologia em Metalurgia e Materiais do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT). O pesquisador responsável pelo presente estudo participou de todo o trabalho realizado nessa etapa.

A figura abaixo resume ilustrativamente as etapas de preparo das amostras de unha, anteriormente citadas (Figura 05).

Figura 05 Fluxograma das etapas de lavagem e digestão das amostras de unha.

Fonte: algumas figuras retiradas de Google imagens.

As determinações elementares totais de chumbo e cádmio foram realizadas

através de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS 7900, Agilent Technologies, Hachioji, Japan), operado com argônio de alta pureza (99.999%, White Martins, Brazil), no Laboratório do Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC. Da mesma forma que o preparo, o pesquisador responsável pelo estudo participou de todo o trabalho realizado.

As condições de operação do equipamento no momento da análise estão descritas no quadro abaixo (Quadro 01).

Quadro 01 Condições de operação do ICP-MS

Condições operacionais	
Isótopos monitorados	^{111}Cd e ^{208}Pb
Padrão interno	^{103}Rh ($10\ \mu\text{g.L}^{-1}$)
Radiofrequência	1550 W
Fluxo de gás argônio nebulizador	$1,01\ \text{L.min}^{-1}$
Célula de colisão	Hélio (pureza >99,999%) ($5\ \text{mL.min}^{-1}$)
Câmara de nebulização	<i>Scott (double pass)</i>
Cones de interface	Níquel
<i>Sampling</i>	1 mm
<i>Skimmer</i>	0,45 mm
Replicatas de leitura	3

Os limites de detecção metodológicos (LOD) foram calculados considerando uma concentração elementar cuja intensidade de sinal é equivalente a três vezes o desvio padrão de 10 brancos do reagente de leitura dividido pelo gradiente da curva de calibração

(IUPAC, 2006). Para o chumbo e o cádmio, os valores de LOD foram de $0,02184 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,01465 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

Como a unha não possui material de referência específico, o controle de qualidade foi realizado analisando Material de Referência (ERM®-DB001, cabelo humano), baseando-se em estudos já reportados por outros pesquisadores (AB RAZAK, et al., 2015). O procedimento de preparo do material seguiu de acordo com o relatório de certificação disponibilizado pelo fabricante. A recuperação do material para os elementos chumbo e cádmio foram de 85,93% e 85,02%, respectivamente.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico Stata® v. 14.2. As concentrações dos metais que ficaram abaixo de LD foram substituídos pela metade do valor do próprio limite de detecção (LD/2) visando melhorar a precisão para os referidos valores (CROGHAN E EGEGHY, 2003).

3.3.1 Estatística Descritiva

Foram calculadas as distribuições, as médias geométricas, os percentis 95 e 97,5

e os desvios-padrão das concentrações de chumbo e cádmio tanto nas unhas (n=602), quanto no sangue (n=592)³.

3.3.2 Estatística Inferencial

Primeiramente, foi testada a normalidade dos dados por teste de Shapiro-Wilk para posterior escolha de teste estatístico.

Para verificar a correlação entre grupos, de acordo com os níveis dos elementos nas matrizes, foram aplicados testes de correlação de Spearman. Foram analisadas as possíveis co-exposições entre chumbo e cádmio visando verificar a existência de relações entre os níveis dos metais nas matrizes, tanto entre cada elemento, quanto entre as unhas e o sangue.

Teste U de Mann-Whitney foi aplicado para analisar uma possível diferença estatística dos níveis de chumbo entre as amostras agrupadas por aspecto visual. O teste também foi utilizado para avaliar se a intensidade da exposição a chumbo e ao cádmio impacta nos níveis dos elementos analisados em unhas. Os resultados dos metais no sangue foram estratificados por níveis de exposição ao chumbo e ao cádmio, de acordo com os resultados encontrados por OLYMPIO et al. (2018). Como baixa exposição foram consideradas as amostras com níveis menores do que os valores de referência do *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) ($<5 \mu\text{g.dL}^{-1}$ para chumbo e $<0,24 \mu\text{g.L}^{-1}$ para

³ 10 indivíduos da subamostra não tiveram resultados válidos para o sangue.

cádmio). No grupo de alta exposição foram incluídas as amostras com níveis acima dos percentis 97,5 do chumbo e 95 do cádmio, encontrados nas crianças anteriormente estudadas ($>13,9 \mu\text{g.dL}^{-1}$ e $>2,97 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente) (OLYMPIO et al., 2018). O intervalo entre os valores de referência e os percentis ficou estabelecido como faixa de exposição intermediária. Visando obter maior significância estatística, os grupos das crianças classificadas sob exposição ao chumbo intermediária e alta foram unificados. Diferentemente do chumbo, para o cádmio os grupos não foram unificados.

Além disso, também foram comparados os níveis dos elementos entre os grupos categorizados pelos fatores de risco apontados por OLYMPIO et al. (2018), considerando-se: densidade de tráfego veicular na localização da escola (baixa ou alta), zona geográfica onde está localizada a escola (noroeste, sul ou leste) e presença de fumante no domicílio (sim ou não).

4 RESULTADOS

Dos 602 pré-escolares, selecionados para este estudo, que responderam ao questionário de informações sociodemográficas e fatores de risco de exposição ao cádmio e ao chumbo, 325 (54,0%) representaram o sexo masculino. Quanto à idade, a prevalência maior foi de crianças de 3 anos completos (45,2%), seguida pelas idades de 2 anos (31,8%), 1 ano (11,4%), 4 anos (10,9%) e menor que 1 ano (0,7%). Não foi possível obter a informação de 5 crianças, pois não foi apresentado documento comprobatório de idade.

Considerando os fatores de risco de exposição aos metais que apresentaram significância estatística no estudo de OLYMPIO et al (2018), a variável “presença de fumante no domicílio”, 71,1% não conviviam com fumantes.

Na distribuição das crianças por localização da escola, a Zona Noroeste de São Paulo foi a mais representada (37,0%). Em seguida, apareceu a Zona Leste (36,0%) e, por fim, a Zona Sul (26,9%). Além disso, 314 pré-escolares (52,2%) frequentavam centros localizados em ruas de alto tráfego de veículos.

Por fim, quanto ao nível de exposição aos metais, 93,1% compuseram o grupo de baixa exposição ao chumbo e 77,9% apresentaram exposição intermediária ao cádmio.

Abaixo é apresentada a distribuição da população amostrada (Tabela 01).

Tabela 01 Distribuição de crianças pré-escolares segundo características sociodemográficas e fatores de risco (n = 602)

Variável/categoria	N	(%)
Sexo		
Feminino	277	(46,0)
Masculino	325	(54,0)
Idade, em anos completos (N = 597)		
<1	4	(0,7)
1	68	(11,4)
2	190	(31,8)
3	270	(45,2)
4	65	(10,9)
Fumante no domicílio		
Sim	174	(28,9)
Não	428	(71,1)
Localização geográfica do CEI*		
Zona Noroeste	223	(37,0)
Zona Sul	162	(26,9)
Zona Leste	217	(36,0)
Densidade de tráfego veicular onde no local do CEI		
Baixa	288	(47,8)
Alta	314	(52,2)
Exposição ao chumbo (N = 592)		
Baixa (<5,0 µg.dL ⁻¹)	551	(93,1)
Intermediária/alta (>5,0 µg.dL ⁻¹)	41	(6,9)
Exposição ao cádmio (N = 592)		
Baixa (<0,24 µg.L ⁻¹)	80	(13,5)
Intermediária (0,24 – 2,57 µg.L ⁻¹)	461	(77,9)
Alta (>2,57 µg.L ⁻¹)	51	(8,6)

*Divisão oficial do território da cidade de São Paulo

Na unha, os valores de chumbo foram expressos em µg.g⁻¹ e os de cádmio, por serem relativamente baixos em µg.kg⁻¹. Já no sangue as unidades de medida para o chumbo e o cádmio foram expressas em µg.dL⁻¹ e µg.L⁻¹, respectivamente.

Dentre as concentrações dos metais nas matrizes biológicas (Tabela 02), nas unhas, as médias aritmética e geométrica para chumbo e seus intervalos de confiança (IC95%) foram

de 0,23 (0,19-0,28) $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 0,02 (0,02-0,03) $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. A amostra apresentou mediana de 0,09 (0,08-0,10) $\mu\text{g.g}^{-1}$ e percentil 95 de 0,89 (0,72-1,12) $\mu\text{g.g}^{-1}$. Para cádmio nas unhas, não foram calculadas as médias aritmética e geométrica, bem como a mediana, pois a maioria das concentrações das amostras ficou abaixo de LD (89,7%). O percentil 95 calculado foi de 1,80 (0,95-3,19) $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabela 02 Médias aritmética, geométrica, mediana e percentis das concentrações de chumbo e cádmio encontradas nas amostras de unha (N = 592) e sangue (N = 602) em pré-escolares

Metal	Matriz biológica					
	Unha N = 602	IC95%	Sangue* N = 592	IC95%	Sangue** N = 2397	IC95%
Chumbo	$\mu\text{g.g}^{-1}$	$\mu\text{g.g}^{-1}$	$\mu\text{g.dL}^{-1}$	$\mu\text{g.dL}^{-1}$	$\mu\text{g.dL}^{-1}$	$\mu\text{g.dL}^{-1}$
Média Aritmética	0,23	(0,19-0,28)	2,89	(2,51-3,28)	-	-
Média Geométrica	0,02	(0,02-0,03)	2,02	(1,91-2,14)	2,16	(2,10-2,22)
Mediana	0,09	(0,08-0,10)	1,91	(1,83-1,99)	-	-
P95	0,92	(0,72-1,12)	6,77	(5,08-10,28)	6,9	(6,3-8,1)
P97,5	-	-	14,83	(8,01-24,93)	13,9	(10,0-17,3)
Cádmio	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$	$\mu\text{g.L}^{-1}$
Média Aritmética	***	***	0,87	(0,77-0,97)	-	-
Média Geométrica	***	***	0,60	(0,56-0,64)	0,48	(0,47-0,50)
Mediana	***	***	0,63	(0,60-0,67)	-	-
P95	18,91	(9,46-31,85)	2,83	(2,72-2,99)	2,57	(2,26-2,75)

* Estudo de OLYMPIO et al., 2018, recalculado para a amostra considerada no presente estudo

** Estudo de OLYMPIO et al., 2018

*** Proporção de resultados <LD muito alta para determinar um resultado válido

No sangue, o chumbo apresentou médias aritmética e geométrica de 2,89 (2,51-3,28) $\mu\text{g.dL}^{-1}$ e 2,02 (1,91-2,14) $\mu\text{g.dL}^{-1}$, respectivamente. As amostras também apresentaram mediana de 1,91 (1,83-1,99) $\mu\text{g.dL}^{-1}$ e percentis 95 e 97,5 de 6,77 (5,08-10,28) $\mu\text{g.dL}^{-1}$ e 14,83 (8,01-24,93) $\mu\text{g.dL}^{-1}$, respectivamente. Já para o cádmio, as médias aritmética e

geométrica, a mediana e o percentil 95 foram de 0,87 (0,77-0,97) $\mu\text{g.L}^{-1}$, 0,60 (0,56-0,64) $\mu\text{g.L}^{-1}$, 0,63 (0,60-0,67) $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 2,83 (2,72-2,99) $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

Para os níveis de chumbo e cádmio, tanto nas unhas, quanto no sangue, as amostras não seguiram distribuição normal ($Z = 13,4; 13,6; 13,5$ e $13,2$; respectivamente; $p < 0,00001$) (Tabela 03).

Tabela 03 Teste de normalidade das concentrações de chumbo (Pb) e cádmio (Cd) nas amostras de unhas e sangue

Metal-matriz biológica	N	Z	p-valor
Chumbo-unhas	602	13,4	< 0,00001
Cádmio-unhas		13,6	
Chumbo-sangue	592	13,5	
Cádmio-sangue		13,2	

Correlações positivas significativas foram encontradas entre chumbo nas unhas e no sangue ($r = 0,08$; $p = 0,04$), chumbo e cádmio nas unhas ($r = 0,31$; $p < 0,0001$) e chumbo e cádmio no sangue ($r = 0,35$; $p < 0,0001$). Nota-se também que a força de correlação entre os elementos no sangue é moderada, cerca de 4,4 vezes maior do que na unha, que apresentou uma pequena correlação (Tabela 04).

Tabela 04 Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso e unhas das mãos de crianças pré-escolares (N=592)

Metal-matriz biológica	Cádmio-sangue	Chumbo-sangue	Cádmio-unhas
Cádmio-unhas	0,06	0,01	-
Chumbo-unhas	0,04	0,08*	0,31**
Cádmio-sangue	-	0,35**	0,06

* p-valor <0,05

** p-valor <0,0001

Houve diferença estatística significativa da concentração de chumbo entre os dois grupos de unhas separados por aparência, sendo a concentração de ambos os elementos maior

para o grupo de unhas de aspecto visual diferenciado (com manchas amareladas ou acinzentadas) (Tabela 05).

Tabela 05 Diferença entre as médias geométricas dos níveis de chumbo nas amostras de unha pós-lavagem categorizadas por aspecto visual (N=602)*

Aspecto visual	N	%	Média Geométrica** Chumbo ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Normal	278	46,2	0,01 (IC95%: 0,00-0,01)
Diferenciado	324	53,8	0,06 (IC95%: 0,05-0,09)
p-valor			<0,0001

* Teste U de Mann-Whitney

** Não calculado para cádmio. Proporção de resultados <LD muito alta para determinar um resultado válido

Ao realizar os testes de correlação para cada grupo (aspecto normal ou diferenciado) (Tabelas 06 e 07), tanto o grupo de unhas visualmente normais, quanto o grupo de unhas de aspecto diferenciado apresentaram correlações positivas entre as concentrações de chumbo e cádmio nas unhas ($r = 0,27$ e $r = 0,33$; respectivamente; $p < 0,0001$) e entre ambos os elementos no sangue ($r = 0,36$ e $r = 0,33$; respectivamente; $p < 0,0001$). Já para os níveis de chumbo entre as matrizes, houve correlação apenas no grupo visualmente diferenciado ($r = 0,13$; $p = 0,02$), apesar de haver correlação positiva significativa quando todas as amostras de unhas são analisadas juntas.

A correlação entre os elementos nas unhas foi maior para o grupo visualmente diferenciado, ao contrário do observado no sangue.

Tabela 06 Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso (N=277) e unhas das mãos de aspecto visual normal de crianças pré-escolares (N=278)

Metal-matriz biológica	Cádmio-sangue	Chumbo-sangue	Cádmio-unhas
Cádmio-unhas	0,01	-0,02	-
Chumbo-unhas	-0,02	-0,01	0,27*
Cádmio-sangue	-	0,36*	0,01

* p-valor <0,0001

Tabela 07 Matriz de correlação de Spearman (r) para chumbo e cádmio em sangue venoso (N=315) e unhas das mãos de aspecto visual diferenciado de crianças pré-escolares (N=324)

Metal-matriz biológica	Cádmio-sangue	Chumbo-sangue	Cádmio-unhas
Cádmio-unhas	0,07	0,01	-
Chumbo-unhas	-0,00	0,13*	0,33**
Cádmio-sangue	-	0,33**	0,07

* p-valor <0,05

** p-valor <0,0001

Quanto à localização do CEI, correlações positivas significativas foram encontradas entre os elementos nas unhas para as zonas leste ($r = 0,44$; $p < 0,0001$) e noroeste ($r = 0,20$; $p = 0,003$) da cidade de São Paulo, sendo mais forte na primeira. Entretanto, na zona sul não houve significância estatística (Tabela 08). Já em relação à subamostra obtida do estudo anterior, houve correlação positiva significativa entre os níveis dos elementos no sangue em todos os grupos categorizados por zona geográfica, sendo maior na zona sul ($r = 0,39$; $p < 0,0001$), seguido pelas zonas noroeste ($r = 0,35$; $p < 0,0001$) e leste ($r = 0,24$; $p = 0,0004$). Entre as matrizes, nenhuma correlação estatisticamente significativa foi observada, tanto para os níveis chumbo, quanto de cádmio.

Tabela 08 Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso (N = 592) e unhas das mãos de crianças pré-escolares (N = 602), por localização geográfica do CEI (NO = noroeste, S = sul e L = leste)

Biomarcadores correlacionados	Zona		
	NO (N = 222)	S (N = 162)	L (N = 208)
Pb unhas - Cd unhas ¹	0,20*	0,08	0,44**
Pb unhas - Pb sangue	0,12	- 0,01	0,12
Pb sangue - Cd sangue	0,35**	0,39**	0,24***
Cd unhas - Cd sangue	-0,04	-0,05	0,12

¹ n(NO) = 223; n(L) = 217

* p-valor <0,01

** p-valor <0,0001

*** p-valor <0,05

Considerando o fluxo veicular, houve correlação positiva entre os níveis de chumbo e cádmio tanto nas unhas de pré-escolares de escolas localizados em ruas de baixa e alta densidade de tráfego veicular ($r = 0,36$ e $r = 0,26$; respectivamente; $p < 0,0001$), quanto no sangue venoso ($r = 0,44$; $p < 0,0001$; $r = 0,29$; $p < 0,0001$; respectivamente) (Tabela 09). Em ambas as matrizes biológicas, as correlações foram mais expressivas para o grupo com baixa densidade de tráfego. Quanto à correlação entre os níveis de chumbo na unha e no sangue, houve correlação positiva significativa apenas para o grupo de alto fluxo veicular ($r = 0,23$; $p = 0,0001$).

Tabela 09 Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso (N = 592) e unhas das mãos (N = 602) de crianças pré-escolares, por densidade de tráfego veicular na localidade do CEI

Biomarcadores correlacionados	Densidade de tráfego	
	Baixa (N = 287)	Alta (N = 305)
Pb unhas - Cd unhas ¹	0,36**	0,26**
Pb unhas - Pb sangue	-0,05	0,23*
Pb sangue - Cd sangue	0,44**	0,29**
Cd unhas - Cd sangue	0,11	0,03

¹ N(baixo) = 288; N(alto) = 314

* p-valor <0,05

** p-valor <0,0001

Em relação às crianças que conviviam ou não com ao menos um fumante em seus domicílios, houve correlação positiva significativa entre os níveis dos metais em ambos os grupos, tanto nas unhas ($r = 0,35$ e $r = 0,30$; respectivamente; $p < 0,0001$), quanto no sangue ($r = 0,38$ e $r = 0,35$; respectivamente; $p < 0,0001$), mas não entre as matrizes (Tabela 10).

Tabela 10 Correlação de Spearman (r) entre os elementos chumbo e cádmio em sangue venoso ($N = 592$) e unhas das mãos ($N = 602$) de crianças pré-escolares, pela presença de fumantes no domicílio

Biomarcadores correlacionados	Fumante no domicílio	
	Não ($N = 420$)	Sim ($N = 172$)
Pb unhas - Cd unhas ¹	0,30*	0,35*
Pb unhas - Pb sangue	0,09	0,06
Pb sangue - Cd sangue	0,35*	0,38*
Cd unhas - Cd sangue	0,09	0,01

¹ $N(\text{não}) = 428$; $N(\text{sim}) = 174$

* $p\text{-valor} < 0,0001$

Por fim, o grupo de pré-escolares categorizados em alta exposição pelo sangue apresentou média geométrica de chumbo maior nas unhas em relação aos de baixa exposição. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 11).

Tabela 11 Diferença entre as médias geométricas da concentração de chumbo em amostras de unha de pré-escolares, categorizadas por faixa de exposição ($N=592$)*

Exposição ao Pb	N	%	Média Geométrica**
			Chumbo em unhas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Baixa exposição	551	46,2	0,02 (IC95%: 0,01-0,03)
Media/alta exposição	41	53,8	0,05 (IC95%: 0,02-0,14)
p-valor			0,1346

* Teste U de Mann-Whitney

** Não calculado para cádmio. Proporção de resultados $<LD$ muito alta para determinar um resultado válido

5 DISCUSSÃO

Até onde se tem conhecimento, este estudo trata-se do primeiro realizado no Brasil que explorou em profundidade o uso da unha como matriz biológica no biomonitoramento da exposição de crianças pré-escolares aos metais chumbo e cádmio e que buscou correlacionar os níveis dos metais tanto nessa matriz, quanto com o sangue e que reportou resultados das concentrações desses elementos em unhas.

Ao avaliarmos o chumbo nas unhas como candidato a biomarcador de exposição subcrônica de pré-escolares ao elemento, foi encontrada uma correlação positiva fraca, porém significativa entre os níveis de chumbo na unha e no sangue ($r = 0,08$; $p = 0,04$). A princípio, pode-se implicar que, de maneira geral, a exposição ao chumbo refletida no sangue se replica, em grau reduzido, nas unhas. Do material bibliográfico consultado, foi encontrado um estudo realizado no Vietnã por SANDERS et al. (2014). Nele, foram analisados unhas dos pés ($n = 20$) e sangue venoso ($n = 17$) de pré-escolares com idade entre 1,5 e 4 anos, que residiam em uma vila onde era realizada fundição domiciliar de baterias de veículos, sendo encontrada uma forte correlação positiva significativa entre os níveis do metal nas matrizes ($r = 0,65$; $p < 0,05$). Considerando-se que este se trata de um estudo piloto, com uma amostra de número reduzido, com possível exposição dos participantes a níveis ocupacionais pela atividade exercida na área estudada, podendo haver contaminação exógena das unhas, seria esperado que a correlação reportada no presente estudo, com população exposta ambientalmente, sem cenário de exposição notória, fosse mais fraca em comparação ao estudo vietnamita.

Considerando os fatores de risco de exposição, apenas o grupo de pré-escolares que frequentavam escolas localizadas em ruas com alta densidade de tráfego veicular apontou

correlação positiva significativa ($r = 0,23$; $p = 0,0001$) entre os níveis de chumbo nas unhas e no sangue, sendo esta cerca de três vezes maior se comparada à do grupo geral. Esse resultado aponta para um potencial do uso da unha em refletir a exposição dos pré-escolares ao chumbo oriundo da ressuspensão de poeiras em ruas de alto tráfego veicular. Esse achado reforça os resultados reportados por OLYMPIO et al. (2018), que mostraram que o tráfego veicular se mantém como fonte de risco de exposição ao chumbo, sendo apontadas maiores chances de encontrar níveis mais altos de chumbo ($>5 \mu\text{g.dL}^{-1}$ e $>10 \mu\text{g.dL}^{-1}$) no grupo que frequentava escolas localizadas em ruas de alto tráfego veicular (OR 1,70 (IC95% 1,14-2,53); $p = 0,009$ e OR 2,42 (IC95%: 1,37-4,25); $p = 0,002$; respectivamente). Além disso, o resultado reforça também a importância de, tanto o poder público, quanto a iniciativa privada voltada aos Centros de Educação Infantil se atentar à localização de futuras escolas, bem como na necessidade de avaliação de risco das atuais, possibilitando a adoção de medidas preventivas e de controle e consequente redução do risco de exposição ao elemento.

Quanto às correlações entre os níveis de chumbo nas matrizes sangue e unha, por zonas geográficas das escolas, nenhum dos grupos apresentou correlação estatisticamente significativa. Entretanto, OLYMPIO et al. (2018) encontraram associações entre os níveis do elemento no sangue e as zonas leste e sul de São Paulo (OR 7,33 (IC95%: 2,66-20,19) e OR 4,73 (IC95%: 2,36-9,49); $p < 0,001$, respectivamente). Dentre as hipóteses levantadas, o grupo de crianças que frequentavam escolas da zona leste apresentou mais de 50 áreas contaminadas em um raio de 1,5 km de seus domicílios, em sua maioria contaminação por metais no solo e na água. Quanto ao grupo da zona sul, apesar de não terem sido observadas áreas contaminadas, uma das escolas que apresentou altos níveis de chumbo foi construída na década de 1930, havendo a possibilidade de a própria construção ser fonte de exposição

ao elemento (OLYMPIO et al., 2018).

Quanto ao grupo de pré-escolares categorizados pelos níveis do elemento no sangue, apesar da média geométrica do chumbo na unha ter sido maior no grupo sob média/alta exposição, a diferença entre os grupos não foi significativa, indicando que os níveis de chumbo nas unhas de pré-escolares não sofrem interferência da intensidade de exposição ao elemento. Entretanto, um fator limitante nessa análise foi a desproporcionalidade entre o número de indivíduos em cada grupo, sendo maior no grupo sob baixa exposição ($n = 551$) em comparação ao grupo sob média/alta exposição ($n = 41$).

Outro ponto relevante refere-se às condições das amostras de unha pós-lavagem. Quando classificadas por aspecto visual, as unhas com aspecto visual diferenciado tiveram uma correlação mais expressiva ($r = 0,13$; $p = 0,02$) do que o grupo geral, enquanto que no grupo visualmente normal a correlação perde sua significância, mesmo após a lavagem. Isso evidencia uma possível indicação de contaminação exógena (chumbo impregnado na unha de fontes externas), o que pode interferir no uso sistemático da unha como biomarcador de dose interna para o chumbo (Olympio et al., 2019, submetido). Um caso de contaminação externa ocorreu no Paquistão (IKEGAMI et al., 2016). No estudo, os pesquisadores avaliaram 84 amostras de unhas das mãos e dos pés de mulheres paquistanesas grávidas, com o objetivo de analisar os níveis de chumbo possivelmente relacionados à exposição por cosméticos para olhos (delineador). Aproximadamente 15,5% das amostras apresentaram níveis de chumbo nas unhas das mãos acima de níveis encontrados em casos de exposição fatal ($13,6 \mu\text{g.g}^{-1}$), mesmo tendo sofrido lavagem, sendo que a principal hipótese levantada foi a influência de nanopartículas de chumbo, oriundas de sulfetos do metal em cosméticos para os olhos (IKEGAMI et al., 2016).

As médias aritmética e geométrica da concentração de chumbo nas unhas dos pré-escolares reportadas neste estudo foram de $0,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $0,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Em comparação às médias encontradas em outros países, de maneira geral essas médias são menores do que as reportadas nos outros estudos (Tabela 12).

Tabela 12 Concentração de chumbo em unhas de grupos de indivíduos contendo crianças em estudos de biomonitorização.

País	Ano de amostragem	Matriz biológica	População de estudo	N	Cenário de exposição/ Critérios do estudo	Concentração de Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Referência
Brasil	2013	Unhas das mãos	Pré escolares 1-4 anos	602	Exposição ambiental (escola e residência) em área urbana	0,02*; 0,23**	Presente estudo
Vietnã	2011	Unhas dos pés	Pré escolares 1,5-4 anos	20	Fundição domiciliar de baterias	29,3*	SANDERS et al., 2014
Estados Unidos	2011-2013	Unhas dos pés	Crianças 1-11 anos	60	Mina de cobre inativada e de área de fundição	5,22	LOH et al., 2016
Quênia	2006-2007	Unhas das mãos	Crianças < 6 anos	104 66	Área urbana Área rural	27,5** 19,7**	WERE et al., 2008
Paquistão	NI	Unhas das mãos e dos pés	Crianças 10-15 anos	12	Áreas com atividade industrial e agricultura	1,16	BIBI et al., 2015
Paquistão	2001-2002	Unhas dos pés	Indivíduos entre 1-20 anos	23	Residentes saudáveis de uma Unidade Básica de Saúde	3,06*	ANWAR, 2005
Índia	NI	Unhas das mãos	Crianças 4-12 anos	45 50	Autismo leve, moderado e grave Não autismo	26,38; 17,68; 16,48** 16,2**	PRIYA e GEETHA, 2011
Alemanha	1985-1986	Unhas dos pés	Crianças 3-7 anos	47	Proximidade a indústrias de aço e ferro	18,5 ^a ; 11,9 ^b	WILHELM, 1991
Alemanha	1987-1988	Unhas dos pés	Crianças 5-9 anos	47	Proximidade a indústrias de aço e ferro	5,8 ^a ; 7,9 ^b	WILHELM, 1994

* Média geométrica

** Média Aritmética

NI: Não informado

a: Crianças que tiveram concentração elevada de Pb no cabelo (n=12)

b: Controle (n=22)

O estudo vietnamita de SANDERS et al. (2014) analisou unhas dos pés de 20 crianças entre 1,5 e 4 anos em uma vila onde é realizada fundição domiciliar de baterias de veículos, encontrando uma média geométrica de $29,3 \mu\text{g.g}^{-1}$. Conforme mencionado anteriormente, apesar do valor do estudo ser expressivamente maior em relação ao presente estudo, trata-se de um estudo piloto, com uma amostra de número reduzido, com possível exposição a níveis ocupacionais, devido à atividade exercida na área estudada.

Nos Estados Unidos da América, LOH et al. (2016) buscaram analisar exposições múltiplas a arsênio e chumbo em crianças entre 1 e 11 anos de idade, próximas a uma mina de cobre inativada e de um local de fundição no Arizona, em comparação a outros locais do país. Amostras de solo residencial, de poeira das residências, de água de torneira, de urina e das unhas dos pés foram coletadas de 60 indivíduos, distribuídos em 34 domicílios distanciadas da área contaminada em até 7 milhas. A concentração dos metais teve maior variação nas unhas, em comparação à urina. Apesar da média geométrica da concentração de chumbo nas unhas ser relativamente maior do que a do presente estudo ($5,22 \mu\text{g.g}^{-1}$; mín.: $0,08 \mu\text{g.g}^{-1}$; máx.: $3,77 \mu\text{g.g}^{-1}$), apenas 50% das amostras tiveram níveis detectáveis do elemento, mesmo se tratando de um estudo em uma área notoriamente contaminada por chumbo. Considerando que o presente estudo se trata de avaliação de exposições ambientais subcrônicas, é possível que os níveis do metal nas unhas fossem ainda menores que os do estudo de LOH et al. (2016).

No Quênia, WERE et al. (2008) analisaram amostras de unhas das mãos de 170 crianças de até 6 anos de idade de áreas urbana e rural, visando avaliar a exposição aos elementos potencialmente tóxicos. As médias aritméticas dos níveis de chumbo reportadas

nas unhas foram de $27,5 \pm 1,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $19,7 \pm 0,9 \mu\text{g.g}^{-1}$ para as áreas urbana e rural, apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,01$). Comparando-se grupos de crianças pela localização das escolas em áreas urbanas – centro da cidade, área industrial e rodovia, a área que apresentou níveis mais elevados do elemento foi o das escolas localizadas em rodovias ($34,4 \pm 3,5 \mu\text{g.g}^{-1}$), em comparação aquelas localizadas em área industrial ($25,9 \pm 1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$) e no centro da cidade ($21,1 \pm 1,1 \mu\text{g.g}^{-1}$), com diferença estatisticamente significativa entre as localizações ($p < 0,05$). Uma vez que em rodovias há alta densidade de tráfego veicular, os níveis mais elevados nas escolas próximas a essa fonte de exposição que foram encontrados no referido estudo corroboram com os achados de OLYMPIO et al (2018), bem como do presente estudo, quanto à ocorrência da única correlação mantida entre o chumbo nas matrizes unha e sangue de crianças que frequentavam CEI localizados em ruas de alta densidade de tráfego veicular, considerando todos os fatores de exposição analisados.

Em uma região próxima de indústrias de aço e ferro de Duisburgo, Alemanha, WILHELM et al. (1994) analisaram as concentrações de chumbo, cádmio e outros metais em unhas dos pés e cabelo de 47 crianças (5 e 9 anos de idade) e seus familiares, dando segmento a um estudo anterior, num intervalo de dois anos (WILHELM et al., 1991). Para o grupo controle (crianças em área rural), as médias geométricas do nível de chumbo encontradas tanto no estudo anterior, quanto no posterior, foram de $11,9$ (IC95%: $3,6$ - $39,6$) $\mu\text{g.g}^{-1}$ e $7,9$ (IC95%: $3,0$ - $20,8$) $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Tanto no primeiro, quanto no segundo estudo, as médias foram superiores no grupo em área industrial. Entretanto, ambos não apresentaram diferença estatística significativa entre este grupo e o de crianças residentes em área rural. No primeiro estudo da coorte, foi sugerido que os níveis dos

elementos poderiam estar associados às atividades de recreação e exposição oral pelas rotas de solo contaminado e poeira domiciliar, sendo essa hipótese reforçada pelos resultados apresentados no segundo estudo, pois conforme a idade, a criança passa a não levar a mão à boca em suas atividades (WILHELM et al., 1994).

Entre 2001 e 2002, no Paquistão, ANWAR (2005) analisou as concentrações de chumbo e outros elementos em unhas dos pés e cabelo de 160 pacientes aparentemente saudáveis de unidades básicas de saúde, residentes no centro de Lahore e em áreas suburbanas. No grupo entre 1- 20 anos ($n = 24$ (30%)) a média geométrica do nível de chumbo encontrada foi de 3,06 (IC95%: 2,10–4,44) $\mu\text{g.g}^{-1}$. Apesar de terem encontrado diferença entre os níveis de chumbo nas unhas do grupo residente em Lahore (cidade urbanizada com alto tráfego de veículos e presença de indústrias) e o residente em áreas suburbanas, a mesma não foi estatisticamente significativa, ao contrário do cabelo ($p=0,003$).

Um outro fator relevante a ser considerado quando da comparação com estudos anteriores é a tendência pela redução/eliminação das fontes de exposição ao chumbo ao redor do mundo. De maneira geral, é esperado que os estudos mais recentes em países que trabalham pela redução/ eliminação do elemento reportem níveis cada vez menores do elemento nas matrizes ambientais e, por analogia, também é esperado que estudos mais antigos apresentem populações com níveis mais elevados do elemento nas matrizes biológicas.

Outro estudo realizado no Paquistão por BIBI et al. (2015) buscaram avaliar os níveis de chumbo, cádmio e outros elementos potencialmente tóxicos em amostras de urina, sangue total, cabelo e unhas de 48 indivíduos com idade entre 10 e 50 anos expostos a metais

pesados de áreas com atividade industrial e de agricultura, encontrando uma concentração média de chumbo de $1,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ no grupo de crianças entre 10-15 anos ($n=12$). Análise de variância (ANOVA) foi utilizada para a variação dos metais por locais de risco. O grupo controle apresentou média menor ($0,75 \pm 0,10 \mu\text{g.g}^{-1}$) em comparação às áreas de baixo ($1,35 \pm 0,13 \mu\text{g.g}^{-1}$), médio ($1,6 \pm 0,18 \mu\text{g.g}^{-1}$) e alto risco ($1,02 \pm 0,13 \mu\text{g.g}^{-1}$), com variação significativa entre os grupos ($p < 0,01$).

Em relação a outros grupos populacionais, BLAŻEWICZ et al. (2017) estudaram a ocorrência de alterações nos níveis de elementos-traço, incluindo o chumbo, em cabelo e unhas das mãos de 415 tailandeses e poloneses com idade entre 26-76 anos, distribuídos entre pacientes com depressão crônica (diagnosticados através de questionários sobre histórico pessoal e médico e exames físicos, de acordo com o critério DMS-4) e controles. Nos grupos de pessoas saudáveis da Polônia e da Tailândia, as médias geométricas da concentração de chumbo observadas foram de $0,099 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $1,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, sendo a primeira semelhante à média reportada no presente estudo.

É importante ressaltar que a causa provável da diferença entre os níveis reportados neste estudo em comparação aos demais é difícil de ser bem estabelecida, pois há uma variabilidade entre os cenários de exposição apontados, com diferenças entre os tipos de exposição, entre as populações estudadas, inclusive com alguns não apresentando diferença estatística significativa entre grupos expostos e controle. Além disso, o não estabelecimento de valores de referência para o metal na matriz unha eleva essa dificuldade comparativa, conferindo uma não certeza acerca da faixa dos valores esperados.

Outra questão relevante foi a variabilidade entre a própria população do presente estudo. Comparando-se a variação entre as médias aritmética e geométrica do nível de

chumbo encontrado nas unhas do presente estudo (0,23 e 0,02 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente), é possível observar uma proporção maior da média aritmética, da ordem de 10:1. No sangue também houve variação entre as médias, porém menor se comparada com a observada na outra matriz (2,89 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 2,02 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente).

O fato de a variação ser mais expressiva nas unhas pode corroborar com a hipótese levantada anteriormente sobre a influência da contaminação externa das unhas, mesmo após o procedimento de lavagem. Quando comparadas as médias geométricas das unhas categorizadas por aspecto visual, houve diferença estatística significativa entre os grupos, sendo os níveis de chumbo das unhas de aspecto visual normal menor em relação ao diferenciado (0,01 e 0,06 $\mu\text{g.g}^{-1}$; respectivamente; $p < 0,0001$).

No estudo de OLYMPIO et al. (2019, submetido) foram fracionadas unhas lavadas e não lavadas dos dedos indicador e polegar das mãos de 55 adultos residentes em uma área contaminada por chumbo, no município de Bauru - SP. Respectivamente, as médias geométricas da concentração do chumbo foram de 2,25 (IC95%: 1,63-3,12) $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 4,17 (IC95%: 3,07-5,66) $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, para as unhas do polegar e do indicador não lavadas enquanto que, para as unhas lavadas do polegar e do indicador, foram encontradas médias de 1,01 (IC95%: 0,72-1,44) $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 1,37 (IC95%: 0,89-2,11) $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Ao analisar os níveis de chumbo em cada fragmento de um mesmo clipe de unha, foi encontrada uma maior homogeneidade nas unhas que sofreram lavagem, bem como aquelas que não foram lavadas apresentaram heterogeneidade. Ainda, no mesmo estudo, foi encontrada uma correlação positiva, mas não significativa, entre os níveis de chumbo no sangue e as unhas lavadas ($r=0,219$, $p=0,112$), e entre os níveis de chumbo no sangue e as unhas não lavadas ($r=0,182$, $p=0,191$). Os autores concluíram que níveis de

chumbo em unhas das mãos parecem servir como indicadores de contato do indivíduo com fontes de exposição a chumbo, mas não como um biomarcador fidedigno de dose interna do metal, devido à contaminação exógena, inerente da matriz.

Por fim, na revisão de literatura foi observado que parte dos estudos realizou diversos métodos de digestão das amostras, variando desde o uso de ácido nítrico (HNO_3) (WILHELM et al., 1991;1994; IKEGAMI et al., 2016; LOH et al, 2016), água pura e ácido nítrico (ANWAR, 2005) e ácido nítrico e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (PRIYA e GEETHA, 2011; BLAŻEWICZ et al., 2017). No presente estudo foi utilizado apenas o ácido nítrico, pois o mesmo apresenta uma melhor eficiência na recuperação de metais pesados, bem como efetividade de custo e de tempo (ISHAK et al., 2015; BADRAN et al., 2014). Apesar disso, conforme dito anteriormente, a média geométrica reportada no presente estudo ficou abaixo dos outros estudos, incluindo os que utilizaram apenas ácido nítrico na digestão.

Já em relação ao cádmio nas unhas como candidato a biomarcador de exposição, não foi possível calcular a média geométrica dos níveis do elemento na matriz, em função do alto percentual das amostras que apresentaram níveis abaixo do LD (89,7%). De maneira análoga, em 2013, nos Estados Unidos, o *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) obteve um alto percentual de amostras com concentração de cádmio do sangue de pré-escolares abaixo do LD, o que impossibilitou o cálculo da média geométrica (OLYMPIO et al., 2018). Na população adulta (n= 533; faixa etária: 18-65 anos) da Região Metropolitana de São Paulo estudada por KUNO et al. (2013) a média geométrica para os níveis de cádmio no sangue não foi calculada, devido ao elevado percentual de amostras que ficaram abaixo do limite de quantificação do equipamento. Outros estudos realizados

com crianças, entretanto, reportaram níveis quantificáveis do elemento nas unhas. Outros estudos realizados com crianças, entretanto, reportaram níveis quantificáveis do elemento nas unhas (Tabela 13).

Tabela 13 Concentração de cádmio em unhas de grupos de indivíduos contendo crianças em estudos de biomonitorização.

País	Ano de amostragem	Matriz biológica	População de estudo	N	Cenário de exposição/ Critérios do estudo	Concentração Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Referência
Brasil	2013	Unhas das mãos	Pré escolares 1-4 anos	602	Exposição ambiental (escola e residência) em área urbana	NC	Presente estudo
Quênia	2006-2007	Unhas das mãos	Crianças < 6 anos	104	Área urbana	0,73**	WERE et al., 2008
				66	Área rural	0,44**	
Paquistão	NI	Unhas das mãos e dos pés	Crianças 10-15 anos	12	Áreas com atividade industrial e agricultura	0,30*	BIBI et al., 2015
Paquistão	2001-2002	Unhas dos pés	Indivíduos entre 1-20 anos	23	Residentes saudáveis de uma Unidade Básica de Saúde	0,04*	ANWAR, 2005

* Média geométrica

** Média Aritmética

NC: Não calculada devido à alta proporção de resultados abaixo de LD

NI: Não informado

No estudo realizado no Quênia por WERE et al. (2008) citado anteriormente, o grupo de 170 crianças de até 6 anos de idade teve média aritmética de cádmio de $0,73 \pm 0,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o grupo em área urbana e $0,44 \pm 0,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ em áreas rural, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,008$). Entretanto, não houve diferença ao comparar os grupos por localização das escolas em áreas urbanas – centro da cidade, área industrial e rodovia.

Nas crianças paquistanesas (10-15 anos) mencionadas anteriormente no estudo de BIBI et al. (2015), foi encontrada uma média do nível de cádmio em unha igual a $0,30 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$. Assim como no chumbo, a análise de variância (ANOVA) apontou variação significativa ($p < 0,01$) entre a área controle ($0,19 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$) e as áreas de baixo ($0,39 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$), médio ($0,47 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$) e alto risco ($0,30 \pm 0,02 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Em outra população paquistanesa, do estudo de ANWAR (2005) também descrito anteriormente, o grupo mais jovem ($n = 23$; idade: 1-20 anos) apresentou média geométrica para cádmio em unhas das mãos de 0,04 (IC95%: 0,03-0,06) ppm, não apresentando diferença estatística com os grupos com idade entre 21-30 anos ($n = 88$; média geométrica: 0,05 (IC95%: 0,04-0,05) ppm) e >31 anos ($n = 48$; média geométrica: 0,04 (IC95%: 0,04-0,05) ppm).

Quanto aos testes de correlação para o elemento, não foi encontrada nenhuma correlação entre os níveis de cádmio nas matrizes e os fatores de risco associados, mesmo em relação à exposição ao fumo passivo de pré-escolares que conviveram com fumantes em seus domicílios. No estudo de OLYMPIO et al. (2018) não houve associação entre a presença de fumante no domicílio dos pré-escolares e altos níveis de cádmio no sangue. Segundo os autores, isso pode ter ocorrido devido ao fato das crianças frequentarem as

escolas por cerca de 10 horas/dia, sendo que os fatores de risco relacionados à localização das escolas, comumente contaminadas por *hot spots*, foram associados positivamente com níveis altos do elemento (zona sul: OR 5,53 (IC95% 2,66-11,52); $p < 0,001$ e zona leste: OR 3,02 (IC95% 1,43-6,39); $p = 0,004$). Ainda assim, não houve correlação entre os níveis de cádmio na unha e no sangue por fatores de risco de exposição relacionada às escolas.

Diferentemente do chumbo, os níveis de cádmio no organismo tendem a aumentar conforme a idade, permanecendo por anos no fígado e nos rins (ATSDR, 2012b). O cádmio absorvido é eliminado lentamente pelas fezes e pela urina, sendo a última mais empregada em estudos epidemiológicos do que o sangue (ATSDR, 2012b). Conforme mencionado anteriormente, os níveis de cádmio nas unhas não apresentam significância como biomarcador de exposição na matriz, inclusive não sendo incluídas nos modelos toxicocinéticos propostos não incluem a unha na excreção do elemento (ATSDR, 2012b). Uma vez que os níveis de chumbo reportados no presente estudo são significativamente mais baixos em relação a outros estudos, seria esperado que os níveis de cádmio no sangue fossem ainda menores e que, portanto, não fossem encontradas correlações entre as matrizes.

Somados os fatos expostos acima e considerando as condições do presente estudo, o cádmio nas unhas não se apresentou viável como biomarcador de exposição sub-crônica de pré-escolares ao elemento. Entretanto, conforme observado nos outros estudos descritos anteriormente, é possível que uma coleta de massa de unha em maior quantidade consiga trazer resultados que permitam a avaliação desse tipo de exposição. Ainda, é necessário atentar-se a fatores limitantes à coleta de unha, tais como tempo, esquecimento das instruções pré-corte por parte dos pais e responsáveis e a dimensão reduzida das unhas de

pré-escolares, em comparação a outros grupos populacionais.

Em relação à quantificação de ambos os elementos, os níveis de chumbo reportados na maioria dos estudos epidemiológicos são mais elevados do que os de cádmio, tanto no sangue (BIBI et al., 2015; OLYMPIO, 2018), quanto nas unhas (WILHELM et al. 1991; 1994; WERE et al. 2008; SANDERS et al. 2014; AB RAZAK et al., 2015a; BIBI et al., 2015; MERAMAT et al., 2016; APPLETON et al., 2017). Conforme o esperado, o presente estudo também obedeceu a ordem $Pb > Cd$, corroborando com o encontrado nos estudos de exposição a ambos os elementos indicados acima.

Quanto à co-exposição entre chumbo e cádmio, exceto do grupo de pré-escolares que frequentaram escolas localizadas na zona sul, foram encontradas correlações positivas significativas entre os níveis dos elementos na unha no grupo geral ($r = 0,31$; $p < 0,0001$), nos grupos com unhas de aspecto visual normal e diferenciado ($r = 0,27$ e $r = 0,33$; respectivamente; $p < 0,0001$), nos grupos de crianças que frequentavam escolas localizadas nas zonas noroeste e leste ($r = 0,20$; $p = 0,003$ e $r = 0,44$; $p < 0,0001$, respectivamente), nos grupos de crianças que frequentavam escolas localizadas em ruas com baixa e alta densidade de tráfego veicular ($r = 0,36$ e $r = 0,26$; respectivamente; $p < 0,0001$) e no grupo de crianças que conviviam e que não conviviam com ao menos um fumante ($r = 0,35$ e $r = 0,30$; respectivamente; $p < 0,0001$). No sangue todos os testes no sangue indicaram correlações positivas (geral: $r = 0,35$ e $p < 0,0001$; unhas de aspecto visual normal: $r = 0,36$ e $p < 0,0001$; unhas de aspecto visual diferenciado: $r = 0,33$ e $p < 0,0001$; CEI localizado na zona noroeste: $r = 0,35$ e $p < 0,0001$; CEI localizado na zonas leste: $r = 0,24$ e $p = 0,0004$; CEI localizado na zona sul: $r = 0,39$ e $p < 0,0001$; CEI localizado em rua de alta densidade de tráfego veicular: $r = 0,29$ e $p < 0,0001$; CEI localizado em rua de baixa densidade de tráfego veicular:

$r = 0,44$ e $p < 0,0001$; crianças que conviviam com fumante: $r = 0,38$ e $p < 0,0001$; crianças que não conviviam com fumante: $r = 0,35$ e $p < 0,0001$), sendo ligeiramente mais altas quando comparadas às encontradas nas unhas.

Em relação à densidade de tráfego, as correlações entre os níveis de cádmio e chumbo nas unhas foram mais expressivas no grupo que frequentava CEI localizado em ruas com baixa densidade de tráfego, quando comparadas com o grupo com alta densidade de tráfego ($r = 0,44$ e $r = 0,29$; $p < 0,0001$; respectivamente). Tal fato reforça a hipótese da interferência da contaminação externa, já levantada anteriormente.

Uma atenção especial deve ser dada às correlações entre os metais na unha quando as crianças foram agrupadas pela posição geográfica das escolas que as mesmas frequentaram. Os grupos das zonas noroeste e leste apresentaram correlações positivas, sendo mais expressiva no segundo ($r = 0,20$; $p < 0,05$ e $r = 0,44$; $p < 0,0001$; respectivamente). Segundo os achados de OLYMPIO et al. (2018), o grupo de crianças da zona leste apresentou mais de 50 áreas contaminadas em um raio de 1,5 km de seus domicílios, em sua maioria contaminação por metais no solo e na água. O georreferenciamento dos Centros de Educação Infantil e *hotspots* de áreas contaminadas por metais realizado por OLIVEIRA et al. (2019), foi apontada a existência de áreas contaminadas por metais próximas a algumas escolas da zona noroeste.

Apenas no grupo de crianças frequentadoras das escolas localizadas na zona sul não houve correlação entre os níveis dos metais nas unhas, divergindo do resultado encontrado no sangue ($r = 0,39$; $p < 0,0001$). Isso provavelmente ocorreu devido ao alto percentual de amostras com nível de cádmio abaixo de LD para este grupo (aproximadamente 98%), impossibilitando testar a correlação entre os elementos nas unhas.

Algumas limitações do presente estudo precisam ser consideradas. Devido a massa da maior parte das unhas coletadas ser relativamente baixa, com variação entre 0,15 mg e 11,28 mg, não foram preparadas replicatas das amostras. Para isso, seria necessário alíquotar frações da unha digerida no ácido nítrico e avolumar cada uma para 2 mL, reduzindo a concentração dos metais nas replicatas preparadas. Apenas a leitura no ICP-MS foi realizada em triplicata.

A escassez de estudos específicos de biomonitorização de pré-escolares na exposição de metais com uso da unha tanto no Brasil, quanto no mundo limitou as comparações entre os níveis dos elementos e suas correlações. Da mesma forma, BLAŻEWICZ et al. (2017) encontraram dificuldades em comparar seu estudo com outros, por causa da variedade de métodos de análise com procedimentos divergentes tanto na coleta, quanto no preparo das amostras. Além disso, apontou a contaminação externa como um fator preocupante em face ao pré-tratamento das amostras. Por fim, os autores apontaram que uma ampla variedade de fatores (idade, gênero, dieta, entre outros) podem influenciar os níveis dos metais na unha (BLAŻEWICZ et al., 2017).

Conforme discutido anteriormente, considerando que, mesmo após o processo de lavagem, uma parte das amostras ficou com aparência visual diferenciada, é possível que a contaminação externa das unhas tenha interferido nos resultados encontrados. No entanto, esta diferenciação é inerente da matriz, considerando que fragmentos de fontes contaminantes podem ficar aderidos entre as camadas da unha, ainda que se faça a lavagem adequada das unhas durante o preparo das amostras.

6 CONCLUSÕES

1. Face ao exposto, os resultados do presente estudo mostraram correlações positivas e significantes entre as concentrações de chumbo das matrizes biológicas unha e sangue, sugerindo que o chumbo nas unhas pode ser um instrumento aplicável na biomonitorização da exposição a chumbo de pré-escolares, sobretudo com finalidade de um rastreamento inicial, mostrando que o indivíduo teve contato com fontes de exposição a chumbo;

2. A correlação entre os níveis de chumbo nas unhas e no sangue não sofreu interferência da intensidade de exposição ao elemento, indicando que as unhas podem ser coletadas para análise de chumbo tanto em cenários de alta exposição (áreas notoriamente contaminadas), como de exposição ambiental geral (exposição a baixas doses);

3. O cádmio nas unhas não mostrou ser um biomarcador de exposição viável, ainda que considerados os fatores de risco de exposição associados à presença do elemento. Ao optar pelo uso da unha na biomonitorização de pré-escolares aos elementos potencialmente tóxicos é importante que sejam considerados fatores limitantes durante a coleta, o preparo e a análise das amostras, uma vez que pode haver necessidades específicas para diferentes elementos, os quais apresentam toxicodinâmica e toxicocinética distintas.

4. As correlações encontradas entre chumbo e cádmio tanto na unha, quanto no sangue sugerem a ocorrência de co-exposição entre os elementos. Impactos à saúde potencializados por exposições múltiplas devem ser observados, sempre que possível. Assim sendo, é

necessário reforçar a importância de que os estudos de biomonitorização de exposição a elementos tóxicos analisem múltiplos elementos e busque avaliar esse efeito.

5. Por fim, recomenda-se que o Poder Público e a sociedade reforcem políticas públicas voltadas à redução/eliminação das fontes exposição de crianças aos elementos potencialmente tóxicos, permitindo a condução de futuros estudos sobre o tema e que visam não somente a contribuição científica em si, mas também sua aplicabilidade e viabilidade socioeconômica. No que tange à viabilidade econômica de estudos de biomonitorização para tomada de decisão na gestão pública, a análise de chumbo em unhas pode ser considerada como uma opção à análise de chumbo em sangue para um primeiro diagnóstico da população, considerando que tanto sua coleta, quanto armazenamento despendem menores recursos do que para o sangue. Além disso, as crianças pequenas são mais receptivas à doação de unhas do que à coleta de sangue.

7 REFERÊNCIAS

Ab Razak NH, Praveena SM, Hashin Z. Toenail as a biomarker of heavy metal exposure via drinking water: a systematic review. *Rev Environ Health*. 2015a;30(1):1-7.

Ab Razak NH, Praveena SM, Aris AZ, Hashin Z. Drinking water studies: A review on heavy metal, application of biomarker and health risk assessment (a special focus in Malaysia). *Rev Environ Health*. 2015b;5(4):297-310.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxic Substances Portal – Cadmium [internet]. 2011(a) [acesso em: 09 abr 2018]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=15>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxic Substances Portal – Lead [internet]. 2011(b) [acesso em 09 abr 2018]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=22>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). ToxGuide for Cadmium Cd [internet]. 2012a [acesso em: 18 abr 2018]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-5.pdf>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Cadmium [internet]. 2012b [acesso em: 11 jul 2019]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp5.pdf>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). ATSDR's Substance Priority List [internet]. 2017(a) [acesso em: 02 mai 2018]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Lead Toxicity What Are Possible Health Effects from Lead Exposure? [internet]. 2017(b) [acesso em: 23 abr 2018]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/csem.asp?csem=34&po=10>.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Lead [internet]. 2019 [acesso em: 10 ago 2019]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>.

Alisson E. Crise na ciência não se deve apenas à falta de recursos, avaliam cientistas [internet]. São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; 2018 [acesso em 23 jun 2019]. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/crise-na-ciencia-nao-se-deve-apolas-a-falta-de-recursos-avaliam-cientistas/27103/>.

Andjelkovic M, Djordjevic AB, Antonijevic E, Antonijevic B, Stanic M, Kotur-Stevuljevic J, et al. Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(2):274.

Andrade VM, Mateus ML, Batoréua MC, Aschnerb M, Marreilha dos Santosa AP. Lead, arsenic and manganese metal mixture exposures: focus on biomarkers of effect. *Biol Trace Elem Res*. 2015;166(1): 13–23.

Appleton AA, Jackson BP, Karagas M, Marsit CJ. Prenatal exposure to neurotoxic metals is associated with increased placental glucocorticoid receptor DNA methylation. *Epigenetics*. 2017;12(8):607-15.

Araujo JM, Günther WMR. Riscos à saúde em áreas contaminadas: contribuições da teoria social. *Saúde Soc*. 2009;18(2):312-24.

Bacon JR, Davidson CM. Is there a future for sequential chemical extraction? *Analyst*. 2008;133(1): 25-46.

Badran M, Ismail A, Morsy R, Elnimr T. Critical evaluating for five digestion methods using ICP-MS. *J. Pharm. Sci. Innov*. 2014; 3(1):30-4.

Barbosa F Jr, Tanus-Santos JE, Gerlach RF, Parsons PJ. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: Advantages, Limitations, and Future Needs. *Rev Environ Health Perspect*. 2005;113(12):1669-74.

Beauchemin S, MacLean LCW, Rasmussen PE. Lead speciation in indoor dust: a case study to assess old paint contribution in a Canadian urban house. *Environ Geochem Health*. 2011;33:343–52.

Bechara EJH, Medeiros MHG, Monteiro HP, Hermes-Lima M, Pe-Reira B, Demasi M, et al. A Free Radical Hypothesis of Lead Poisoning and Inborn Porphyrrias Associated With 5- Aminolevulinic Acid Overload. *Rev. Quimica Nova*. 1993;16:385-92.

Betts K. Characterizing Exposomes: Tools for Measuring Personal Environmental Exposures. *Environmental Health Perspectives*. 2012; 120(4):158-63.

Bibi M, Hashmi MZ, Malik RN. The level and distribution of heavy metals and changes in oxidative stress indices in humans from Lahore district, Pakistan. *Rev Hum Exp Toxicol*. 2015;35(1):78-90.

Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. In: Swenberg JA, Fryar-Tita E, Jeong YC, Boysen G; Starr T; Walker, VE, et al. *Biomarkers in Toxicology and Risk Assessment: Informing Critical Dose–Response Relationships*. *Rev Chem. Res. Toxicol*. 2008;21(1):253-65.

Błażewicz A, Liao KY, Liao HH, Nizinski P, Komsta L, Momcilovic B, et al. Alterations of Hair and Nail Content of Selected Trace Elements in Nonoccupationally Exposed Patients with Chronic Depression from Different Geographical Regions. *BioMed Research International*. 2017;2017:1-10.

Brasil. Lei nº 11.762, de 1 de agosto de 2008. Fixa o limite máximo de chumbo permitido na fabricação de tintas imobiliárias e de uso infantil e escolar, vernizes e materiais similares e dá outras providências. *Diário Oficial da União*. 04 ago 2008; Seção 1:1.

Brasil. Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. *Diário Oficial da União*. 28 dez 2009.

Brasil. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. *Diário Oficial da União*. 03 out 2017; Seção 1:3.

Brasil. Decreto nº 9.315, de 20 de março de 2018. Regulamenta a Lei nº 11.762, de 1º de agosto de 2008, que fixa o limite máximo de chumbo permitido na fabricação de tintas imobiliárias e de uso infantil e escolar, vernizes e materiais similares. Diário Oficial da União. 20 mar 2018; Seção 1:5.

Burm E, Song I, Ha M, Kim YM, Lee KJ, Kim HC, et al. Representative levels of blood lead, mercury, and urinary cadmium in youth: Korean Environmental Health Survey in Children and Adolescents (KorEHS-C), 2012-2014. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2016; 219(4-5):412-18.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals - Updated Tables [internet]. v.1 Atlanta; 2013 [acesso em 23 abr 2018]. Disponível em: https://www.cdc.gov/exposurereport/pdf/FourthReport_UpdatedTables_Volume1_Mar2018.pdf.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Lead [internet]. Atlanta; 2017 [acesso em: 23 abr 2019]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nceh/lead/>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). National Health and Nutrition Examination Survey [internet]. Atlanta; 2018 [acesso em 23 abr 2018]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/index.htm>.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Relatório de Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo [internet]. 2019 [acesso em 26 ago 2019]. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2019/04/Texto-explicativo_dez-2018.pdf.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Decisão de Diretoria nº 256/2016/E, de 22 de novembro de 2016. Dispõe sobre a aprovação dos “Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2016” e dá outras providências. Diário Oficial do Estado. 22 nov 2016.

Chen Y, Xu X, Zeng Z, Lin X, Qin Q, Huo X. Blood lead and cadmium levels associated with hematological and hepatic functions in patients from an e-waste-polluted area. Chemosphere. 2018; 220:531-38.

Ciesielski T, Weuve J, Bellinger DC, Schwartz J, Lanphear B, Wright RO. Cadmium exposure and neurodevelopmental outcomes in U.S. children. *Environ Health Perspect.* 2012; 120(5):758-63.

Croghan, C and P P. Egeghy. Methods of dealing with values below the limit of detection using SAS [internet]. Petersburg: Environmental Protection Agency; 2003 [acesso em: 25 jun 2019]. Disponível em: https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NERL&dirEntryId=64046.

De Burbure C, Buchet JP, Leroyer A, Nisse C, Haguenoer JM, Mutti A, et al. Renal and neurologic effects of cadmium, lead, mercury, and arsenic in children: evidence of early effects and multiple interactions at environmental exposure levels. *Environ Health Perspect.* 2006; 114:584–90.

Czaplicka M, Buzek L. Lead Speciation in the Dusts Emitted from Non-Ferrous Metallurgy Processes. *Water Air Soil Pollut*; 2011; 218:157–63.

Della Rosa HV, Siqueira MEPB, Colacioppo S. Monitoramento Ambiental e Biológico. In: Kuno R. Valores de referência para chumbo, cádmio e mercúrio em população adulta da Região Metropolitana de São Paulo. 2009 [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2009.

Denaldi R, Ferrara LN. A dimensão ambiental da urbanização em favelas. *Rev Ambient. Soc.* 2018; 21:1-20.

Dietrich KN, Ris MD, Succop PA, Berger OG, Bornschein RL. Early exposure to lead and juvenile delinquency. *Neurotoxicol. Teratol.* 2001; 23(2001):511–18.

Dignam T, Pomales A, Werner L, Newbern EC, Hodge J, Nielsen J, et al. Assessment of child lead exposure in a Philadelphia community, 2014. *J. Public Health Manag. Pract.* 2018; 15(5):932.

Duffus JH. “Heavy Metals” – A meaningless term?. *Pure Appl. Chem.* 2002; 74(5):793–807.

Egiebor E, Tulu A, Abou-Zeid N, Aighewi IT, Ishaque A. The kinetic signature of toxicity of four heavy metals and their mixtures on MCF7 breast cancer cell line. *Int J Environ Res Public Health.* 2013 Oct 21; 10(10):5209-20.

Eom SY, Lee YS, Lee SG, Seo MN, Choi BS, Kim YD et al. Lead, Mercury, and Cadmium Exposure in the Korean General Population. *Korean Med Sci.* 2018;33(2):e9.

Escobar H. In Brazil, researchers struggle to fend off deepening budget cuts [internet]. São Paulo: Science; 2017 [acesso em: 23 jun 2019]. Disponível em: <https://www.sciencemag.org/news/2017/10/brazil-researchers-struggle-fend-deepening-budget-cuts>.

Freire C, Amaya E, Gil F, Fernández MF, Murcia M, Llop S, et al. Prenatal co-exposure to neurotoxic metals and neurodevelopment in preschool children: The Environment and Childhood (INMA) Project. *Science of the Total Environment.* 2017;621: 340-51.

Gardner RM, Kippler M, Tofail F, Bottai M, Hamadani J, Grandér M, et al. Environmental exposure to metals and children's growth to age 5 years: a prospective cohort study. *Am J Epidemiol.* 2013;177:1356–67.

Ghazali AR, Abdul Razak NE, Othman MS, Othman H, Ishak I, Lubis SH, et al. Study of Heavy Metal Levels among Farmers of Muda Agricultural Development Authority, Malaysia. *Journal of Environmental and Public Health.* 2012; 2012:1-4.

Gonzalez V, Gourier D, Toussaint K, Wallez G, Menu M. Revealing the Origin and History of Lead-White Pigments by Their Photoluminescence Properties. *Anal Chem.* 2017; 89(5):2909-18.

Gouveia N. Saúde e meio ambiente nas cidades: os desafios da saúde ambiental. *Rev Saude soc.* [Internet]. 1999 [acesso em: 15 jul 2019]; 8(1):49-61. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3321457/pdf/JEPH2012-758349.pdf>.

Grashow R, Zhang J, Fang SC, Weisskopf MG, Christiani DC, Cavallari JM. Toenail Metal Concentration as a Biomarker of Occupational Welding Fume Exposure. *Rev Journal of Occupational and Environmental Hygiene.* 2015; 11(6):397-405.

Günther WMR. Áreas contaminadas no contexto da gestão urbana [internet]. *Rev São Paulo em Perspectiva.* 2006 [acesso em 15 jul 2019]; 20(2):105-17. Disponível em: http://produtos.seade.gov.br/produtos/spp/v20n02/v20n02_08.pdf.

Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*. 2018; 344:179-99.

Hamra GB, Buckley JP. Environmental exposure mixtures: questions and methods to address them. 2018; 5(2):160-65.

Henson MC, Chedrese PJ. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol Med*. 2004; 229:383-92.

Hill MK. *Understanding Environmental Pollution*. 3 ed. New York: Cambridge University Press. 2010.

Hwang YH, Hsiao CK, Lin PW. Globally temporal transitions of blood lead levels of preschool children across countries of different categories of Human Development Index. *Sci Total Environ*. 2019; 659:1395-402.

Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2009; 12:206–23.

Ikegami A, Takagi M, Fatmi Z, Kobayashi Y, Ohtsu M, Cui X, et al. External lead contamination of women's nails by surma in Pakistan: Is the biomarker reliable?. *Environmental Pollution*. 2016; 218:723-727.

International Agency for Research on Cancer-World Health Organization – IARC-WHO. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–120 [internet]. 2018 [acesso em: 09 abr 2018]. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Séries Estatísticas & Séries Histórica [internet] Brasil: IBGE [acesso em: 27 ago 2019]. Disponível em: <https://seriesestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?t=numero-empresas-industriais-segundo-secoes-divisoas&vcodigo=PIG29>

Ishak I, Rosli FD, Mohamed J, Mohd Ismail MF. Comparison of Digestion Methods for the Determination of Trace Elements and Heavy Metals in Human Hair and Nails. *Malays J Med Sci*. 2015;22(6):11–20

Jho EH, Na J, Nam K. Extended biotic ligand model for prediction of mixture toxicity of Cd and Pb using single metal toxicity data. *Environ Toxicol Chem*. 2011; 30(7):1697-703.

Jin YH, Clark AB, Slebos RJ, Al-Refai H, Taylor JA, Kunkel TA, et al. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nat Genet*. 2003; 34(3): 326–29.

Jung SY, Kim S, Lee K, Kim JY, Bae WK, Lee K, Han JS, Kim S. Association between secondhand smoke exposure and blood lead and cadmium concentration in community dwelling women: the fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2010- 2012). *BMJ Open*. 2015 Jul 16;5(7):e008218.

Karri V, Schuhmacher M, Kumar V. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg) as risk factors for cognitive dysfunction: A general review of metal mixture mechanism in brain. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016; 48:203-13.

Kim E, Kwon HJ, Ha M, Lim J-A, Lim MH, Yoo S-J, et al. How Does Low Socioeconomic Status Increase Blood Lead Levels in Korean Children?. *Int J Environ Res Public Health*. 2018(a); 15(7):1-12.

Kim K, Melough MM, Vance TM, Noh H, Koo SI, Chun OK. Dietary Cadmium Intake and Sources in the US. *Nutrients*. 2018(b); 11(1):2.

Kim M, Kim K. Biomonitoring of Lead and Cadmium in the Hair and Fingernails of Elderly Korean Subjects. *Biol Trace Elem Res*. 2011; 143(2):794-802.

Kim Y, Ha EH, Park H, Ha M, Kim Y, Hong YC et al. Prenatal lead and cadmium co-exposure and infant neurodevelopment at 6 months of age: the Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) study. *Neurotoxicology*. 2013; 35:15-25.

Kinney DK, Barch DH, Chayka B, Napoleon S, Munir KM. Environmental Risk Factors for Autism: Do They Help Cause De Novo Genetic Mutations That Contribute to the Disorder?. *Med Hypotheses*. 2010; 74(1): 102–6.

Kippler M, Tofail F, Hamadani JD, Gardner RM, Grantham-McGregor SM, Bottai M, et al. Early-life cadmium exposure and child development in 5-year-old girls and boys: a cohort study in rural Bangladesh. *Environ Health Perspect*. 2012;120:1462–8.

Kira CS, Sakuma AM, De Capitani EM, de Freitas CU, Cardoso MRA, Gouveia N. Associated factors for higher lead and cadmium blood levels, and reference values derived from general population of São Paulo, Brazil. *Science of the Total Environment*. 2016; 543(Pt A):628-35.

Kollbye AC Jr, Mahaffey KR, Fiorino JA, Corneliussen PC, Jelinek CF. Food exposures to lead. *Rev Environ Health Perspect*. 1974; 7:65–74.

Kuno R. Valores de referência para chumbo, cádmio e mercúrio em população adulta da Região Metropolitana de São Paulo. 2009 [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2009.

Kuno R, Roquetti MH, Umbuzeiro GA. Indicadores biológicos de exposição: ocupacional x ambiental. *Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente*. 2009; 4(1):1-13.

Kuno R, Roquetti MH, Becker K, Seiwert M, Gouveia N. Reference values for lead, cadmium and mercury in the blood of adults from the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil. *Int J Hyg Environ Health*. 2013; 216(3):243-9.

Lanphear BP, Rauch S, Auinger P, Allen RW, Hornung RW. Low-level lead exposure and mortality in US adults: a population-based cohort study. *Lancet Public Health*. 2018; 3(4):e177-e184.

Laohaudomchok W, Lin X, Herrick RF, Fang SC, Cavallari JM, Christiani DC, et al. Toenail, Blood, and Urine as Biomarkers of Manganese Exposure. *J Occup Environ Med*. 2011; 53(5):506-10.

Li L, Guo L, Chen X, Xiang M, Yang F, Ren J, et al. Secondhand smoke is associated with heavy metal concentrations in children. *Eur J Pediatr*. 2018; 177: 257-64.

Lin GZ, Wu F, Yan CH, Liu XY. Childhood lead poisoning associated with traditional Chinese medicine: a case report and the subsequent lead source inquiry. *Clin Chin Acta*. 2012; 413(13-14):1156-59.

Lin Y, Lin P. Probabilistic Integrated Human Mixture Risk Assessment of Multiple Metals Through Seafood Consumption. *Risk Analysis*. 2019; 39(2):426-38.

- Liu H, Wang H, Zhang Y, Wang H, Yang J, Liu J et al. Comparison of heavy metal accumulation and cadmium phytoextraction rates among ten leading tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivars in China. *International Journal of Phytoremediation*. 2019; 21(7):699-706.
- Liu J, Youan E, Zhang Z, Jia L, Yin Z, Meng X et al. Age- and sex-specific reference intervals for blood copper, zinc, calcium, magnesium, iron, lead, and cadmium in infants and children. *Clinical Biochemistry*. 2012; 45(2012):416-19.
- Liu Y, Huo X, Xu L, Wei X, Wu W, Wu X et al. Hearing loss in children with e-waste lead and cadmium exposure. *Science of The Total Environment*. 2018(a); 624:621-27.
- Liu S, Tian S, Kexin L, Wang L, Liang T. Heavy metal bioaccessibility and health risks in the contaminated soil of an abandoned, small-scale lead and zinc mine. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018b; 25:1-13.
- Loh MM, Sugeng A, Lothrop N, Klimecki W, Cox M, Wilkinson ST, et al. Multimedia Exposures to Arsenic and Lead for Children Near an Inactive Mine Tailings and Smelter Site. *Environ Res*. 2016; 146:331–39.
- Lyubenova L, Nehnevajova E, Herzig R, Schröder P. Response of antioxidant enzymes in *Nicotiana tabacum* clones during phytoextraction of heavy metals. *Environ Sci Pollut Res*. 2009; 16(5):573–81.
- Majid H, Khaan AH, Khan NU, Siddiqui I, Ghani F, Jafri L. High Burden of Subclinical Lead Toxicity after Phase Out of Lead from Petroleum in Pakistan. *Journal of the College of Physicians and Surgeons*. 2017; 27(12):767-70.
- Mandal SK, Roesky HW. Group 14 hydrides with low valent elements for activation of small molecules. *Acc Chem Res*. 2012; 45(2):298-307.
- Menezes-Filho JA, Viana GF, Paes CR. Determinants of lead exposure in children on the outskirts of Salvador, Brazil. *Rev. Environ Monit Assess*. 2012; 184(4):2593–603.
- Meramat A, Rajab NF, Shahar S, Sharif RA. DNA damage, copper and lead associates with cognitive function among older adults. *J Nutr Health Aging*. 2016; 21(5):539-45.

Ministério da Saúde – MS. Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Diário Oficial da União. 30 ago 2013; Seção 1:33.

Ministério do Meio Ambiente – MMA. GT Chumbo em Tintas [internet]. 2018 [acesso em 12 ago 2019]. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/gestao-das-substancias-quimicas/gt-chumbo-em-tintas.html>.

Moreira FR, Moreira JC. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. Rev Ciênc. Saúde Coletiva [Internet]. 2004 [acesso em: 15 jul 2019]; 9(1):167-81. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232004000100017&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232004000100017>.

Morgenstern H, Thomas D. Principles of study design in environmental epidemiology. 1993; 101(Suppl 4):23-38.

Munira, S., Farenhorst, A., Flaten, D., & Grant, C. (2016). Phosphate fertilizer impacts on glyphosate sorption by soil. Chemosphere, 153:471–77.

National Institutes of Health (NIH). Genetics Home Reference - NR3C1 gene [internet]. 2018 [acesso em: 17 abr 2018]. Disponível em: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/NR3C1>.

National Research Council (NRC). Committee on Biological Markers. Biological markers in environmental health research. In: Kuno R. Valores de referência para chumbo, cádmio e mercúrio em população adulta da Região Metropolitana de São Paulo. 2009 [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2009.

Needham LL, Sexton K. Assessing children's exposure to hazardous environmental chemicals: an overview of selected research challenges and complexities. J Expo Anal Environ Epidemiol. 2000; 10(6 Pt 2):611–29.

Needleman HL, McFarland C, Ness RB, Fienberg SE, Tobin MJ. Bone lead levels in adjudicated delinquents. A case control study. Neurotoxicol. Teratol. 2002; 24(2002):711–17.

Oliveira AS, Costa EAC, Olympio KPK. Brazilian Preschool Children Attending Day Care Centers Located Near Chemicals Hot Spots and in High Vehicle Traffic Density Sites Present High Blood Lead Levels. In: IUTOX ICTXV 2019 - July 15 - 18, 2019 | Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA, 2019, Honolulu. IUTOX 15th International Congress of Toxicology Final Program - P194 - 0462, 2019. p. 147-147. Disponível em: <https://www.toxicology.org/events/ict/docs/ICTXV-program-web.pdf>.

Olympio KPK, Gonçalves C, Günther WMR, Bechara EJJ. Neurotoxicity and aggressiveness triggered by low-level lead in children: a review. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2009; 26:266-75.

Olympio, KPK, Oliveira PV, Naozuka J, Cardoso MRA, Marques AF, Günther WMR, et al. Surface dental enamel lead levels and antisocial behavior in Brazilian adolescents. *Neurotoxicology and Teratology*. 2010; 32:273-9.

Olympio KPK, Goncalves CG, Salles FJ, Ferreira APSS, Silva AS, Buzalaf MAR, et al. What are the blood lead levels of children living in latin america and the caribbean? *Environment international*. 2017; 46-58.

Olympio KPK, Silva JPDR, Silva ASD, Souza VCO, Buzalaf MAR, Barbosa F Jr, et al. Blood lead and cadmium levels in preschool children and associated risk factors in São Paulo, Brazil. *Environ Pollut*. 2018; 240:831-38.

Olympio KPK, Salles FJ, Ferreira APSS, Pereira EC, Oliveira AS, Leroux IN, et al. O expossoma humano desvendando o impacto do ambiente sobre a saúde: promessa ou realidade?. *Rev Saúde Pública*. 2019; 53:6.

Panetta R, Quaranta S, Latini A. Screen Printed Pb3O4 Films and Their Application to Photoresponsive and Photoelectrochemical Devices. *Materials*. 2018; 11(7):1189.

Patel CJ. Analytic Complexity and Challenges in Identifying Mixtures of Exposures Associated with Phenotypes in the Exposome Era. *Curr Epidemiol Rep*. 2017; 4:22-30.

Priya MDL. Level of trace elements (Copper, Zinc, Magnesium and Selenium) and Toxic Elements (Lead and Mercury) in the Hair and Nail of Children with Autism. *Biol Trace Elem Res*. 2011; 142:148-58.

Rangel MC, Carvalho MFA. Impacto dos catalisadores automotivos no controle da qualidade do ar. *Rev Quim Nova*. 2003; 26(2):265-77.

Rehman ZU, Khan S, Brusseau ML, Shah MT. Lead and cadmium contamination and exposure risk assessment via consumption of vegetables grown in agricultural soils off five selected regions of Pakistan. *Chemosphere*. 2017; 168(2017):1589-96.

Richter PA, Bishop EE, Wang J, Swahn MH. Tobacco smoke exposure and levels of urinary metals in the U.S. youth and adult population: the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Int J Environ Res Public Health*. 2009 Jul;6(7):1930-46.

Rodríguez-Barranco M, Lacasaña M, Gil F, Lorca A, Alguacil J, Rohlman DS, et al. Cadmium exposure and neuropsychological development in school children in southwestern Spain. *Environ Res*. 2014;134:66–73.

Ruiz MS; Bernardelli JM Jr, Corrêa R, Cortês PL. Conflitos Ambientais na Região Metropolitana de São Paulo: Uma Revisão da Literatura [internet]. *Rev GeSec*. 2016 [acesso em: 15 jul 2019]; 7(2):21-54. Disponível em: https://www.revistagesec.org.br/secretariado/article/view/574/pdf_1.

Sah D, Verma P, Kumari K, Lakhani A. Chemical partitioning of fine particle-bound As, Cd, Cr, Ni, Co, Pb and assessment of associated cancer risk due to inhalation, ingestion and dermal exposure. *Inhalation Toxicology*. 2017; 29:1-11.

Sakamoto M, Chan HM, Domingo JL, Oliveira RB, Kawakami S, Murata K. Significance of fingernail and toenail Mercury concentrations as biomarkers for prenatal methylmercury exposure in relation to segmental hair mercury concentrations. *Environ Res*. 2015; 136:289-94.

Salles FJ. Avaliação da presença de elementos potencialmente tóxicos decorrentes da produção informal e domiciliar de joias e bijuterias na rede de esgoto sanitário de Limeira – SP [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2017.

Sanders AP, Miller SK, Nguyen V, Kotch JB, Fry RC. Toxic metal levels in children residing in a smelting craft village in Vietnam: a pilot biomonitoring study. *BMC Public Health*. 2014; 14:1-8.

Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, et al. Strong Association of De Novo Copy Number Mutations with Autism. *Science*. 2007; 316(5823):445-9.

Silva AA, Cardoso MR, Melieftste K, Brunekreef B, 2006. Use of Passive Diffusion Sampling Method for Defining NO₂ Concentrations Gradient in Sao Paulo. *Environ Health*. 2006; 5:1-9.

Silva JPR, Salles FJ, Leroux IN, Ferreira APSS, Silva AS, Assunção NA, et al. High blood lead levels in Brazilian preschool children: investigation of exposure sources. *Environ Poll*. 2018; 239:681-8.

Smith M, Spence MA, Flodman P. Nuclear and Mitochondrial Genome Defects in Autisms. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009; 1151:102-32.

Soares FA, Fagundez DA, Avila DS. Neurodegeneration Induced by Metals in *Caenorhabditis elegans*. *Adv Neurobiol*. 2017; 18:355-83.

Spinazze P, Rykov Y, Bottle A, Car J. Digital phenotyping for assessment and prediction of mental health outcomes: a scoping review protocol. *BGM Open*. 2019; 9:e032255.

Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl*. 2012;101:133–164.

TOXNET [internet]. National Institutes of Health (NIH). 2018 [acesso em: 09 abr 2018]. Disponível em: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~52RtE8:3>.

UC - University of Cincinnati. Development of Data to Support the Characterization of Lead Concentrations in Residential Paint. In: United Nations Environment Programme – UNEP. Lead in Enamel Decorative Paints. National Paint Testing Results: A Nine Country Study [internet]. Nairobi, Kenya: United Nations Environment Programme. 2013 [acesso em: 12 ago 2019]. Disponível em: https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/22872/Lead_enamel_paint.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

United States Environmental Protection Agency (US-EPA) - IRIS. Cadmium; CASRN 7440-43-9 [internet]. 1987(a) [acesso em: 09 abr 2018]. Disponível em: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=141.

United States Environmental Protection Agency (US-EPA) - IRIS. Lead and compounds (inorganic); CASRN 7439-92-1 [internet]. 1988 [acesso em: 09 abr 2018]. Disponível em: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=277.

United States Environmental Protection Agency (US-EPA) - IRIS. Terminology Services - Vocabulary Catalog List Detail Report [internet]. 2011 [acesso em: 11 Abr. 2018]. Disponível em: https://ofmpub.epa.gov/sor_internet/registry/termreg/searchandretrieve/glossariesandkeywordlists/search.do?details=&glossaryName=IRIS%20Glossary.

Viana GF, de Carvalho CF, Nunes LS, Rodrigues JL, Ribeiro NS, de Almeida DA, et al. Noninvasive biomarkers of manganese exposure and neuropsychological effects in environmentally exposed adults in Brazil. *Toxicology Letters*. 2014; 231(2):169-78.

Wang H, Dumont X, Haufroid V, Bernard A. The physiological determinants of low-level urine cadmium: an assessment in a cross-sectional study among schoolchildren. *Environ Health*. 2017;16(1):99.

Waseem A, Arshad J. A review of Human Biomonitoring studies of trace elements in Pakistan. *Chemosphere*. 2016;153-76.

Were FH, Njue W, Murungi J, Wanjau R. Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. *Sci Total Environ*. 2008; 393(2008):376–84.

White K, Detherage, T, Verellen M, Tully J, Krekeler MPS. An investigation of lead chromate (crocoite-PbCrO₄) and other inorganic pigments in aged traffic paint samples from Hamilton, Ohio: implications for lead in the environment. *Environ Earth Sci*. 2014; 71(8):3517-28.

Withers PJ, van Dijk KC, Neset TS, Nesme T, Oenema O, Rubæk GH, et al. Stewardship to tackle global phosphorus inefficiency: The case of Europe. *Ambio*. 2015;44(Suppl 2):S193–S206.

World Health Organization (WHO). Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) [internet]. Geneva: World Health Organization; 2011 [acesso em 18 abr 2018]. Disponível em: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=3511>.

World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). Ten chemicals of major public health concern [internet]. Geneva: World Health Organization; 2010 [acesso em 25 out 2019]. Disponível em: https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/chemicals_phc/en/.

Windham GC, Zhang L, Gunier R, Croen LA, Grether JK. Autism spectrum disorders in relation to distribution of hazardous air pollutants in the San Francisco Bay area. *Environ Health Perspect*. 2006; 114:1438-44.

Wright JP, Dietrich KN, Ris MD, Hornung RW, Wessel SD, Lanphear BP, et al. Association of Prenatal and Childhood Blood Lead Concentrations with Criminal Arrests in Early Adulthood. *PLoS Med*. 2008; 5(5):732-40.

ANEXOS

FACULDADE DE SAÚDE
PÚBLICA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Exposição a metais não essenciais em São Paulo: níveis sanguíneos em pré-escolares e fatores de risco associados (projeto aprovado). Emenda: Exposição a chumbo nos ambientes domiciliar e escolar: influência da dieta nas concentrações de chumbo no sangue (projeto de Iniciação Científica)

Pesquisador: Kelly Polido Kaneshiro Olympio

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 05501112.6.0000.5421

Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.127.698

Data da Relatoria: 22/05/2015

Apresentação do Projeto:

O presente projeto refere-se a emenda no projeto de pesquisa original anteriormente aprovado por este CEP.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo da pesquisa manteve-se inalterado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A avaliação de riscos e benefícios inclui emenda quanto à coleta de unhas dos sujeitos da pesquisa para exames bioquímicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A emenda da pesquisa prevê armazenamento do excedente de amostras coletadas em banco de amostras, devido à aplicação diferente técnica de análise bioquímica que maximiza número de resultados obtidos de menor volume de amostra. Esta informação estava contida no TCLE previamente aprovado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O novo termo de consentimento apresenta informações claras e precisas sobre a coleta de

Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 01.246-904

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3061-7779

Fax: (11)3061-7779

E-mail: coep@fsp.usp.br

FACULDADE DE SAÚDE
PÚBLICA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

Continuação do Parecer: 1.127.698

amostras biológicas, incluindo dados similares aos apresentados no projeto de pesquisa.

Recomendações:

Emenda adequada. Recomenda-se sua aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Pela aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Acatado parecer da relatoria pela aprovação.

SAO PAULO, 28 de Junho de 2015

Assinado por:

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo
(Coordenador)

Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 01.246-904

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3061-7779

Fax: (11)3061-7779

E-mail: coep@fsp.usp.br

CURRÍCULO LATTES

Allan Santos de Oliveira

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6352888473386904>
Última atualização do currículo em 17/03/2019

Possui graduação em Engenharia Ambiental - Faculdades Oswaldo Cruz (2015). Atualmente é mestrando em Ciências (Saúde Pública) pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. É também analista ambiental da Prefeitura Municipal de Suzano na área de Educação Ambiental. Tem experiência na área de Saúde Pública, com ênfase em Saúde Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: Exposição Ambiental, Biomarcadores de Exposição (unha), Toxicologia Ambiental, Metais Pesados (Pb e Cd), Expossoma. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Allan Santos de Oliveira
Nome em citações bibliográficas	OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, ALLAN SANTOS DE

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2017	Mestrado em andamento em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Uso da unha como biomarcador de exposição a arsênio, cádmio e chumbo em estudos de biomonitorização de pré-escolares, Orientador: Kelly Polido Kaneshiro Olympio. Palavras-chave: exposição ambiental; biomarcadores; toxicologia; epidemiologia; saúde pública. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Farmacologia / Subárea: Toxicologia. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia.
2011 - 2015	Graduação em Engenharia Ambiental. Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil. Título: ESTUDO DO USO DE SEMENTE DE Moringa oleifera COMO COAGULANTE NATURAL NO TRATAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DE ÁGUAS BRUTAS DE CLASSE 3 DESTINADAS AO ABASTECIMENTO PÚBLICO. Orientador: Márcia Freire dos Reis Gorny.
2016 - 2017	Curso técnico/profissionalizante em Técnico em Segurança do Trabalho. Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, CEETEPS, Brasil.
2008 - 2010	Ensino Médio (2º grau). Escola Estadual Professor Francisco Gonçalves Vieira, EEPFGV, Brasil.

Formação Complementar

2017 - 2017	Bases Conceituais da Cromatografia Gasosa. (Carga horária: 9h). Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, FSP-USP, Brasil.
2014 - 2014	Extensão universitária em Administração de Emergências Ambientais. (Carga horária: 40h). Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil.
2013 - 2013	Extensão universitária em Microbiologia Aplicada Avançada. (Carga horária: 24h). Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil.
2011 - 2011	Extensão universitária em AutoCad 2D e Introdução ao 3D. (Carga horária: 20h). Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil.

Atuação Profissional

Kelly Polido Kaneshiro Olympio

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5138426222420186>
Última atualização do currículo em 22/07/2019

Kelly Polido Kaneshiro Olympio é Professora Associada do Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Graduada em Odontologia pela FOA-UNESP (2000), Especialista em Odontologia em Saúde Coletiva pela APCD-Bauru (2002), Mestre em Odontologia em Saúde Coletiva pela FOB-USP (2005) e Doutora em Saúde Pública pela FSP-USP (2009). Concluiu Pós-Doutorado pela Universidade de São Paulo, financiado pelo PNPd-CAPES (Departamento de Ciências Biológicas, FOB-USP, 2010-2011) e Pós-Doutorado financiado pela FAPESP (Departamento de Epidemiologia, FSP-USP, 2012-2013). Obteve o título de Livre-Docente em 2017. Membro associado da Society of Toxicology (SOT). Tem interesse científico e projetos em andamento nas áreas da Toxicologia Ambiental e Ocupacional, Epidemiologia Ambiental, Saúde do Trabalhador e Saúde Ambiental, priorizando o estudo do expossoma humano. Tem experiência em Odontologia Preventiva, Epidemiologia, Metodologia, Saúde e Ambiente, Toxicologia de metais e do flúor. É líder do grupo de pesquisa eXsat: Expossoma e Saúde do Trabalhador (<http://www.fsp.usp.br/lehca/2019/04/02/exsat/>). Esteve em licença-maternidade em 2006 e 2015. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Kelly Polido Kaneshiro Olympio
Nome em citações bibliográficas	OLYMPIO, K. P. K.; Olympio, K.; Olympio, K.P.; Olympio, Kelly Polido Kaneshiro; Olympio, Kelly P.K.; POLIDO KANESHIRO OLYMPIO, KELLY

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Saúde Ambiental. Av. Dr. Arnaldo, 715, Segundo Andar, Saúde do Trabalhador Pinheiros 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617121 URL da Homepage: http://www.fsp.usp.br
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

2005 - 2009	Doutorado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Exposição a chumbo e comportamento anti-social em adolescentes, Ano de obtenção: 2009. Orientador: Wanda Maria Risso Günther. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Palavras-chave: Chumbo; Comportamento anti-social; Adolescente; Saúde Ambiental. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Ambiental. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Avaliação e análises toxicológicas. Setores de atividade: Cuidado À Saúde das Populações Humanas. Mestrado em Ortodontia e Odontologia em Saúde Coletiva (Conceito CAPES 5). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Análise da incorporação de flúor no esmalte dentário in vivo após o uso de dentífricos com concentrações reduzidas de flúor e sua relação com a biodisponibilidade de flúor nestes dentífricos em comparação com outros comercialmente disponíveis, Ano de Obtenção: 2005. Orientador: Marília Afonso Rabelo Buzalaf. Palavras-chave: dentífrico; esmalte; flúor; biodisponibilidade; saliva. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica.
2003 - 2005	