

CAROLINA LOURENÇO MARQUES

Exposição precoce ao poluente eletrofílico 1,2-naftoquinona e o risco iminente para indução de esteatose hepática e disfunção atrial na fase juvenil: papel dos receptores TRPA1

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora Profa. Dra. Soraia Kátia Pereira Costa

Versão Corrigida

**SÃO PAULO
2020**

RESUMO

Marques, CL. Exposição precoce ao poluente eletrofílico 1,2-naftoquinona e o risco iminente para indução de esteatose hepática e disfunção atrial na fase juvenil: papel dos receptores TRPA1. [Dissertação (Mestrado em Farmacologia)] – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

A população mundial, em particular menos favorecida, exibe níveis muito severos de obesidade e desnutrição, resultante de dieta inadequada (má-nutrição). Paralelamente, o excesso de poluentes do ar ambiente (PAA) tem sido associado à morbimortalidade cardiovascular e respiratória, em especial em ambientes urbanos com concentrações elevadas de material particulado (MP). O presente estudo investigou a correlação entre o efeito da exposição precoce ao poluente eletrofílico, contaminante do MP, 1,2-naftoquinona (1,2-NQ) e da nutrição inadequada (dieta hiperlipídica; DH) com a indução da inflamação (toxicidade) hepática e dos distúrbios metabólicos e cardíacos associados na fase juvenil de camundongos deficientes da apolipoproteína E (ApoE^{-/-}), proteína importante no transporte e liberação hepática do colesterol circulante. Camundongos machos ApoE^{-/-} inalaram em dias alternados (6, 8, 10 dias de vida, por 15 min) a solução contendo 1,2-NQ (100 nM) ou seu veículo (VEH). Após o 21º dia de vida, estes foram alimentados com dieta padrão (DP) ou DH. Diferentes parâmetros metabólicos e cardíacos foram mensurados ao longo dos 43 dias de vida *in vivo* e *in vitro*. Os resultados mostram que a exposição neonatal de camundongos ApoE^{-/-} a 1,2-NQ contribuiu, independentemente da DH, para induzir recrutamento de macrófagos para os hepatócitos, aumento da sensibilidade à insulina, ganho de peso e esteatose moderada, independentemente da expressão dos canais receptores TRPV1 e TRPA1, considerados alvos de ação de PAA e da 1,2-NQ. Na vigência da DH, os animais expostos a 1,2-NQ apresentaram maior taxa de gordura corporal, dos níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos, aumento da atividade enzimática (ALT e AST) e exacerbação da esteatose hepática. Além disto, a resposta máxima (E_{max}) da atividade atrial (bpm) frente ao estímulo adrenérgico foi aumentada pela exposição a 1,2-NQ e DH. Conclui-se, pela primeira vez, que a exposição neonatal de camundongos deficientes de ApoE ao poluente 1,2-NQ resultou em esteatose hepática moderada, que na vigência da DH levou ao agravamento do quadro de esteatose hepática e de alguns parâmetros metabólicos que, em conjunto,

afetaram o equilíbrio autonômico simpático-vagal, levando à alterações na função atrial.

Palavras-chave: 1,2-naftoquinona. Doença hepática gordurosa não alcoólica. Átrio direito. TRPs. Poluição ambiental.

ABSTRACT

Marques, CL. Early exposure to electrophilic pollutant 1,2-naphthoquinone and the imminent risk for induction of hepatic steatosis and atrial dysfunction in the juvenile stage: role of TRPA1 receptors. [Masters thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

The world population, particularly the least favored, exhibited severe levels of obesity and malnutrition, due to inadequate diet. In parallel, the excess of environmental pollutants (PAA) has been associated with cardiovascular and respiratory morbidity and mortality, particularly in urban environments with high variations in particulate matter (PM). The present study investigated a potential correlation between the effect of early exposure to electrophilic contaminant of particulate matter (PM) pollutant, 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) and inadequate nutrition (hyperlipidic diet; HD) with the development of liver inflammation, associated with metabolic disorders. and cardiac changes in the juvenile phase of apollprotein E deficient (ApoE^{-/-}) mice, an important protein involved in the transport and release of hepatic circulating cholesterol. ApoE^{-/-} male mice inhaled every other day (6, 8, 10 days of life, for 15 min) to the 1,2-NQ solution (100 nM) or its vehicle (VEH). After the 21st day of life, the animals were fed with standard diet (SD) or hyperlipidic diet (HD), and different metabolic and cardiac parameters *in vivo* and *in vitro* were assessed over 43 days of life. The results show that exposure to 1,2-NQ during the neonate phase of ApoE^{-/-} mice, independently of HD, led to increased macrophage recruitment to hepatocytes, increased insulin sensitivity, weight gain and moderate steatosis, independently of increased expression of TRPV1 and TRPA1 receptor channels, known as an important target of PAA actions, such as 1,2-NQ. In the presence of HD, the animals exposed to 1,2-NQ showed higher body fat index and serum total cholesterol and triglyceride levels, associated with increased enzymatic activity (ALT and AST) and exacerbation of hepatic steatosis. In addition, the maximum response (E_{max}) of atrial activity (bpm) in response to adrenergic stimuli *in vitro* were increased in animals exposed to 1,2-NQ and HD. It is concluded, for the first time, that neonatal exposure of APOE deficient mice to the pollutant 1,2-NQ resulted in moderate hepatic steatosis, which in the presence of HD, led to the worsening of hepatic steatosis and some metabolic parameters that, together, contributed to affect sympathovagal autonomic balance, leading to changes in atrial function.

Keywords: 1,2-naphthoquinone. Non-alcoholic fatty liver disease. Right atria. TRPs.
Environment pollution.

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Doença hepática gordurosa não alcoólica: esteatose*

Nos últimos anos, o número de indivíduos obesos na população mundial cresceu exponencialmente, chamando a atenção dos profissionais da área da saúde (Rosini et al., 2012). Este cenário torna-se ainda mais preocupante devido ao aumento significativo da prevalência da obesidade em crianças e adolescentes.

Em 2015, cerca de 115,1 milhões de crianças foram diagnosticadas com obesidade no mundo todo (Weihe e Weihrauch-Blüher, 2019). Como consequência da obesidade infantil, doenças antes consideradas como de “adultos”, tais como, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e outras desordens metabólicas (ex.: dislipidemias, resistência insulínica) estão cada vez mais frequentes na população mais jovem (Vallejo et al., 2009; Rosini et al., 2012; Kumar e Kelly, 2017). Paralelamente, evidenciou-se um aumento importante na ingestão de calorias e alimentos ricos em ácidos graxos saturados e açúcares (Vallejo et al., 2009; Rosini et al., 2012; Kumar e Kelly, 2017). De fato, os hábitos alimentares e o sedentarismo resultam na criação do “ambiente obesogênico” (Kelsey et al., 2014).

Nesse contexto, as doenças cardiovasculares (DCVs) despontam como causas principais de óbitos no Brasil e em vários outros países (Kassi et al., 2011). No Brasil, segundo o Instituto de Métricas e Avaliação de Saúde (2017), a mortalidade resultante de DCVs é de 29%, sendo os fatores de risco comportamentais e metabólicos os principais vilões.

De acordo com a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2005), a associação da síndrome metabólica (SM) com DCVs aumenta o risco de óbitos em cerca de 2,5 vezes. Mais recentemente, segundo o estudo do Instituto de Métricas e Avaliação de Saúde (IHME, 2017), entre os fatores de risco envolvidos na porcentagem de óbitos no Brasil, a SM tem grande relevância, uma vez que compreende outros distúrbios metabólicos, diretamente associados ao aumento do risco cardiovascular.

Como principais manifestações da SM, destacam-se a resistência à insulina e a obesidade, que podem ser acompanhadas de uma ou mais complicações como dislipidemias, aumento dos níveis de triglicerídeos (≥ 150 mg/dL), redução de

lipoproteínas de alta densidade (HDL; <35 mg/dL), alterações do metabolismo de glicídio, tal como o diabetes mellitus tipo 2, glicose de jejum aumentada ou teste de tolerância à glicose alterado (WHO, 2004; Alberti e Zimmet, 2005; Asrih e Jornayvaz, 2015).

Condições pró-inflamatórias, como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) foi mais recentemente associada a SM, em virtude da sua correlação com a obesidade, resistência à insulina, dislipidemias e diabetes mellitus (Asrih e Jornayvaz, 2015). Vale ressaltar que a DHGNA também pode estar presente em indivíduos não obesos, que apresentam alterações metabólicas, sendo a resistência à insulina um dos marcadores de prognóstico (Than e Newsome, 2015; Han e Lee, 2017).

O mesmo estudo realizado pelo IHME, em 2017, revelou que a incidência da esteatose hepática atinge aproximadamente 25% da população mundial, sendo este aumento intimamente associado ao crescimento da taxa de indivíduos obesos e com sobrepeso, incluindo crianças e jovens na puberdade (Brumbaugh e Friedman, 2014; Utz-Melere et al., 2018). No Brasil, a taxa de prevalência de sobrepeso em crianças e adolescentes supera 30%, sendo que a obesidade afeta 15% desta população (Utz-Melere et al., 2018). A esteatose é a primeira manifestação, que deixa o fígado mais vulnerável para outros processos secundários, incluindo o estresse oxidativo, que contribui para progressão da DHGNA (Arciello et al., 2013).

Importantemente, crianças e adolescentes com DHGNA possuem risco 14 vezes maior de desenvolverem complicações como cirrose, carcinoma hepatocelular (CHC), doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2, quando atingem a idade adulta (Utz-Melere et al., 2018).

Está bem estabelecido que a DHGNA compreende um conjunto de doenças gordurosas do fígado não necessariamente relacionadas ao uso de álcool, sendo caracterizada pelo acúmulo de triacilgliceróis nos hepatócitos, originando a esteatose hepática, que pode evoluir para o quadro denominado esteato-hepatite não alcoólica (EHNA; Asrih e Jornayvaz, 2015). É considerado um quadro de esteatose hepática não alcoólica o acúmulo de uma porcentagem superior a 5% de lipídios no interior dos hepatócitos, que oferece baixo risco de progressão da DHGNA (Han e Lee, 2017; Sweet et al., 2017). Por outro lado, a EHNA é um estágio mais grave da DHGNA, que compreende a esteatose hepática associada à inflamação com consequente lesão

hepática, que evolui para o quadro de fibrose e necrose celular, gerando um risco elevado de instalação da cirrose e insuficiência hepática, estágios estes graves e irreversíveis da doença e, geralmente, associados com o prognóstico de CHC (Sweet et al., 2017).

Por seu turno, estudos clínicos evidenciaram a forte correlação entre a DHGNA e algumas alterações cardiovasculares, como arritmias, remodelação, disfunção do miocárdio, doenças da valva aórtica e mitral (vide revisão: Lonardo et al., 2017). Noutro estudo de revisão sistemática, Han e Lee (2017) evidenciaram em indivíduos acometidos pela DHGNA assintomáticos, alterações na função e estrutura cardíaca, assim como no metabolismo destes.

Correntemente, não existem terapias medicamentosas que atuem diretamente sobre a DHGNA no órgão alvo (fígado), sendo a terapia atual capaz, apenas, de tratar os fatores de risco (Han et al., 2017). Algumas dessas diretrizes são capazes de intervir no estilo de vida dos pacientes, incluindo o controle de nutrição equilibrada e a prática de exercícios físicos (Han et al., 2017).

A patogênese e evolução da DHGNA ainda não estão bem definidas, mas, de longa data, duas hipóteses foram propostas por Day e James (1998): I) Instalação da esteatose pelo acúmulo de triacilgliceróis e ácidos graxos livres nos hepatócitos como consequência da resistência à insulina, aumento da ingestão de calorias, tipo de dieta e aumento da lipogênese hepática (Day e James, 1998; Asrih e Jornayvaz, 2015; Than e Newsome, 2015), e II) Uma vez instalada a esteatose, esse quadro pode evoluir para esteato-hepatite, se ocorrer uma fonte secundária de estresse oxidativo, suficiente para promover peroxidação lipídica e dos lipídios de membrana, que leva a necrose celular (Day e James, 1998; Asrih e Jornayvaz, 2015; Than e Newsome, 2015). Produtos da peroxidação lipídica podem ativar células estreladas hepáticas, capazes de sintetizar colágeno, contribuindo para a instalação da fibrose hepática e, conseqüentemente, evoluindo para o quadro de EHNA (Day e James, 1998; Asrih e Jornayvaz, 2015; Than e Newsome, 2015).

Postula-se que casos de esteatose que não evoluem para o quadro de EHNA, são aqueles cujo grau de estresse oxidativo é baixo e, portanto, incapaz de causar lesão hepática (Day e James, 1998). Além da esteatose hepática, outros fatores capazes de aumentar o estresse oxidativo são necessários para a progressão da DHGNA, por exemplo, dieta rica em ácidos graxos (Day e James, 1998).

Corroborando essa evidência, Kim (2011), demonstrou que estudo em camundongos submetidos à dieta com alto teor lipídico por dez semanas promoveu mudanças significativas nos perfis metabólicos destes, incluindo acúmulo de lipídios nos hepatócitos, insuficiência hepática e obesidade. Mais recentemente, Schierwagen e colaboradores (2015) estabeleceram um modelo de DHGNA em camundongos nocautes para apolipoproteína E (ApoE^{-/-}), os quais foram alimentados com dieta rica em gordura durante sete semanas, quando desenvolveram SM, rápida progressão da esteatose hepática com característica de balonização dos hepatócitos, concentração sérica elevada de glicose em jejum e inflamação com a presença de fibrose no tecido hepático (Schierwagen et al., 2015).

A apolipoproteína E desempenha papel essencial no metabolismo de lipídios, atuando na depuração dos metabólitos de lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomicron e lipoproteína de baixa densidade-VLDL) (Mahley et al., 1984; Schierwagen et al., 2015; Marais, 2019). A baixa expressão de ApoE oferece riscos diretos para o surgimento de aterosclerose, hipercolesterolemia e obesidade, podendo também estar associadas à DHGNA (Schierwagen et al., 2015; Marais, 2019).

1.2 Poluição ambiental do ar e desordens metabólicas

Embora a patogênese da DHGNA, como já mencionado, esteja intimamente relacionada aos distúrbios metabólicos, diabetes, obesidade, hábitos alimentares e estilo de vida, outros fatores de risco recentes, como a poluição do ar ambiente (PAA), vêm se destacando (Kelishadi e Poursafa, 2011; Arciello et al., 2013; Li et al., 2017). Neste contexto, fortes correlações entre a exposição à PAA e indução da toxicidade hepática, processo inflamatório no fígado e esteatose vêm sendo demonstradas (Kim et al., 2014).

A PAA, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), é a presença no ar de qualquer substância formada naturalmente ou através da ação do homem, capaz de causar danos aos organismos vivos e ao meio ambiente. A PAA é constituída por gases poluentes, compostos orgânicos semivoláteis e partículas denominadas material particulado (MP) (WHO, 2016). O MP é uma mistura de partículas sólidas e líquidas, orgânicas e inorgânicas de diversos tamanhos. Os principais componentes do MP são os sulfatos, nitratos, amônia, carbono negro, cloreto de sódio e pó mineral

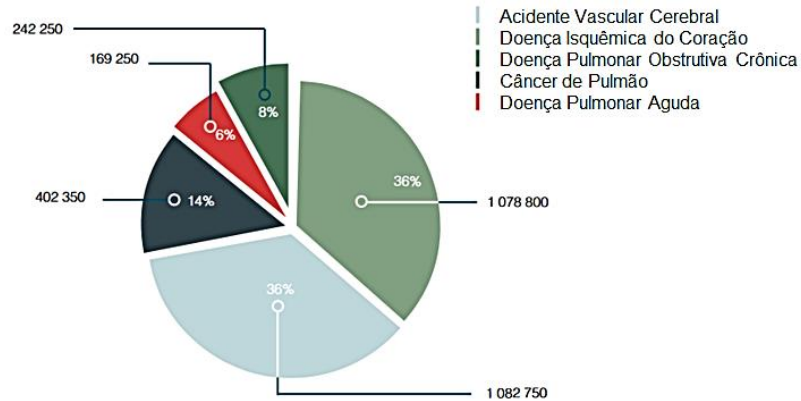
(WHO, 2016). As partículas possuem diâmetros variados, que determinam a translocação das vias aéreas superiores para as inferiores e, por fim, para a circulação (WHO, 2016). O MP₁₀ grosso (entre 10 µm e 2,5 µm) não oferece tanto risco para os sistemas cardiovasculares e respiratórios quanto o MP_{2,5} fino (<2,5 µm) e MP₁ ultrafino (<0,1 µm) (Araujo et al., 2008), pois devido ao seu tamanho, as partículas finas e ultrafinas penetram mais facilmente pelas vias aéreas inferiores, translocam-se para a circulação pelos alvéolos, agravando ou promovendo quadros de aterosclerose, isquemia cardíaca, doença arterial coronariana e infarto do miocárdio (Araujo et al., 2008; Martinelli et al., 2013; Miller et al., 2013; CETESB, 2016; WHO, 2016).

As fontes de emissão de gases poluentes e MP classificam-se em móveis (ex.: automóveis) e estacionárias (ex.: instalações industriais e usinas) (Abe et al., 2016). Cerca de 40% do MP é derivado da queima de combustíveis fósseis (Ghio et al., 2012).

Independentemente do gênero, raça e idade, as ações deletérias da exposição à PAA vem sendo, de longa data, demonstrada em estudos epidemiológicos e experimentais (Hooper e Kaufman, 2018). Fatores fisiológicos, comportamentais e ambientais fazem com que as crianças, particularmente, sejam mais suscetíveis aos efeitos nocivos da exposição à PAA no período fetal e nos primeiros anos de vida, quando os pulmões ainda estão em desenvolvimento (Hooper e Kaufman, 2018; WHO, 2018). As crianças possuem frequência respiratória mais elevada do que os adultos, inalando assim maiores quantidades de poluentes e, além disto, praticam mais atividades ao ar livre, ficando assim mais expostas aos danos da PAA, como o MP (Sacks et al., 2011; WHO, 2018). Os idosos, por sua vez, devido ao comprometimento das funções fisiológicas e das comorbidades, como as doenças cardiovasculares e respiratórias, ficam ainda mais suscetíveis às ações nocivas da exposição ao PAA, como o MP (Sacks et al., 2011).

A PAA representa atualmente um problema grave de saúde ambiental, que tem afetado a saúde da população de países de alta, baixa e média renda, como o Brasil (Landrigan e Fuller, 2015; WHO 2017). Paralelamente, os efeitos adversos da PAA sobre a saúde da população geram custos econômicos elevados para os países que, por conta disto, vem reconhecendo e estudando a PAA não somente como um dos principais problemas ambientais da atualidade, mas também de saúde pública (Landrigan e Fuller, 2015).

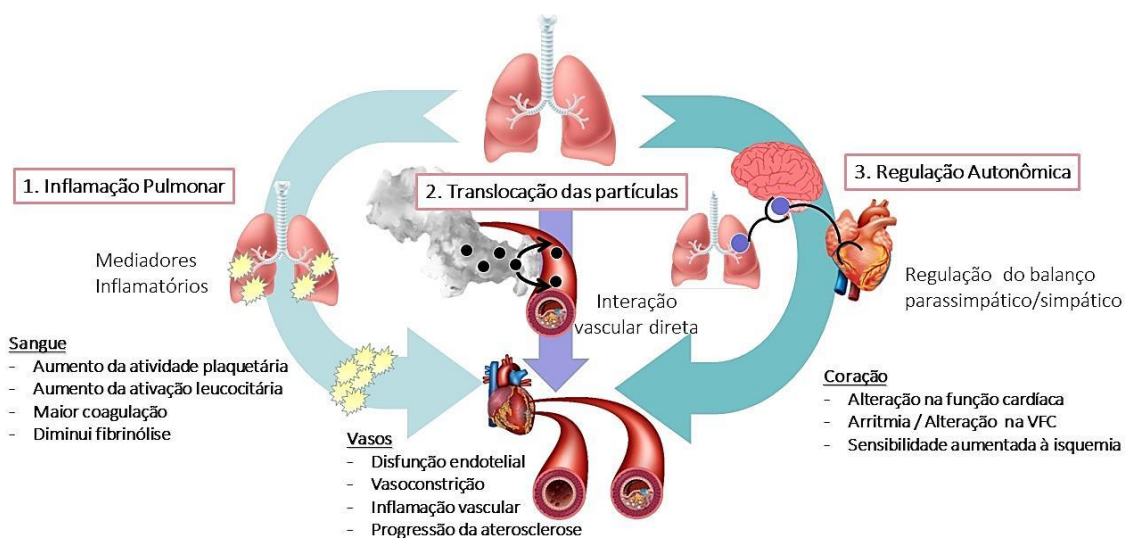
Figura 1 - Mortes atribuídas às doenças causadas pela exposição à poluição do ar ambiente em 2012.



Impacto da poluição do ar ambiente sobre o número de óbitos global representado em porcentagem (FONTE: Adaptado do relatório da organização mundial da saúde. WHO, 2016).

De acordo com o relatório da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2017), aproximadamente 6,5 milhões de óbitos anualmente são relacionadas ao impacto da PAA sobre a saúde da população mundial, fazendo desta a mais grave consequência da degradação do meio ambiente. Dentre as associações causais fatais promovidas pelo impacto da exposição à PAA (ex.: MP) destacam-se o acidente vascular cerebral, câncer de pulmão e mortes prematuras de recém-nascidos, oriundas de doenças de origem cardiovascular e respiratória (Figura 1) (Martinelli et al., 2013; Zheng et al., 2013; Newby et al., 2015; WHO, 2016).

Figura 2 - Mecanismos fisiopatológicos da indução de doenças cardiovasculares pela exposição à poluição do ar ambiente.



(FONTE: Adaptada de Miller et al, 2012).

Segundo Miller e colaboradores (2012), os efeitos danosos causados pela exposição ao MP ao sistema cardiovascular podem ser resultantes de três principais fatores (Figura 2): i) logo após a exposição aguda ao MP, este chega aos pulmões, promovendo inflamação decorrente da produção e liberação local de mediadores vasoativos e citocinas (interleucinas IL-6, IL-1 β , IFN- γ e TNF- α ; Martinelli et al., 2013; Bourdrel et al., 2017), ii) ação do MP sobre o sistema nervoso autônomo (SNA), capaz de afetar a frequência cardíaca (FC), devido a interação do MP com receptores pulmonares específicos e, também, pela formação de estresse oxidativo/inflamatório generalizado (Martinelli et al., 2013; Bourdrel et al., 2017). Isto resulta em desbalanço no SNA, onde a função simpática predomina, elevando a pressão arterial decorrente da indução de vasoconstrição e arritmias, que elevam o risco de danos cardiovasculares (Martinelli et al., 2013; Bourdrel et al., 2017). Em parte, este mecanismo se deve a geração de estresse oxidativo, que reduz os níveis locais de fatores relaxantes (ex.: óxido nítrico – NO), afetando o tônus vascular (aumento da resistência vascular) (Münzel et al., 2017). E, iii) O MP ultrafino (<0,1 μ m) atravessa facilmente os alvéolos e penetram na corrente sanguínea de forma direta, estimulando as plaquetas a formarem agregados e trombos plaquetários e aterosclerose (Martinelli et al., 2013).

O estresse oxidativo causado pelo MP também pode alterar os lipídeos circulantes no plasma e colesterol HDL, que possui efeitos antiaterogênicos, bem como antioxidantes, auxiliando na inibição da agregação plaquetária e da migração de monócitos (Bourdrel et al., 2017). Assim, a exposição à PAA é capaz de gerar inflamação vascular e acúmulo de lipídeos nos vasos, contribuindo para o desenvolvimento de ateromas e disfunções vasculares (Bourdrel et al., 2017; Niemann et al., 2017).

De fato, Campen e colaboradores (2010) observaram que camundongos ApoE^{-/-} alimentados com dieta hiperlipídica (DH) e expostos ao MP liberado na exaustão do diesel (PED) por 50 dias (6 h/dia) exibiram alto índice de ateromas, remodelamento vascular e alterações na composição das placas. Segundo os autores, os lipídeos oxidados contribuíram para o início da inflamação e alteração do fenótipo do músculo liso vascular (Campen et al., 2010) que, no caso dos animais ApoE^{-/-}, ocorre um aumento ainda maior dos níveis circulantes de colesterol.

Corroborando essas evidências, outros inúmeros estudos sugerem que tanto o desencadeamento quanto a exacerbação de funções metabólicas, cardiometabólicas, epigenéticas, doenças inflamatórias hepáticas e aceleração do quadro de esteatose estão, também, positivamente atreladas à PAA, como o MP (Arciello et al., 2013; Kim et al., 2014; Eze et al., 2015; Shamy et al., 2017). Ademais, a exposição ao MP pode levar a peroxidação lipídica e, conseqüentemente, ao aumento de triglicérides plasmático, bem como LDL e VLDL, citocinas pró-inflamatórias e resistência insulínica (Arciello et al., 2013; Tarantino et al., 2013).

Curiosamente, Tan e colaboradores (2009) mostraram que a exposição ao MP resulta na ativação de receptores Toll-like (TLR4) nas células de Kupffer (macrófagos hepáticos fixos), que aumenta a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6), TNF e IL1 β . A ativação do TLR4 também está associada à resposta do fator de transformação de crescimento β (TGF- β) em células hepáticas, aumentando a síntese de colágeno e fibrose (Tan et al., 2009; Zheng et al., 2013).

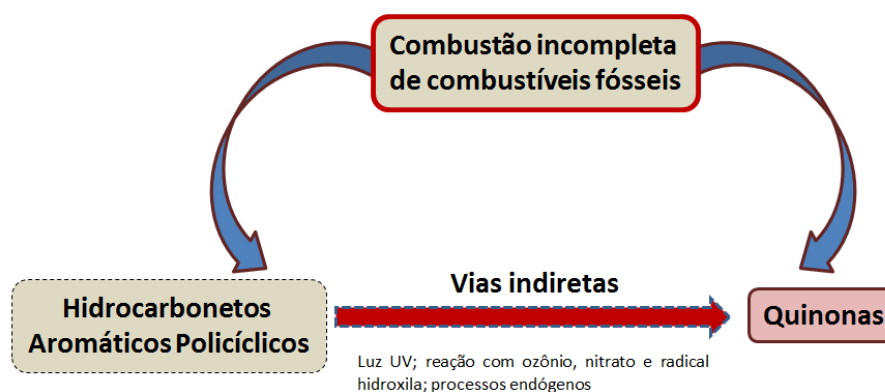
O material particulado também interfere na atividade dos receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPARs), que possuem papel fundamental na regulação da diferenciação celular, no metabolismo de lipídeos e glicose, bem como na inflamação (Zheng et al., 2013). A exposição causa a diminuição da expressão desses receptores no fígado e desregula a homeostase lipídica (Zheng et al., 2013).

No estudo de Zheng (2013) o MP_{2,5} diminuiu a síntese de glicogênio no fígado, através da supressão dos substratos do receptor de insulina-1 (IRS-1). Os efeitos causados pelo MP no fígado, como o desencadeamento da resposta inflamatória, a diminuição da expressão de receptores – PPARS, a supressão da atividade de IRS-1 e seus efeitos secundários, são agravantes para a esteatose hepática e para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Lippmann e Chen, 2009; Zheng, 2013).

1.3 Poluente eletrofílico contaminante do MP (Quinonas) e receptores de potencial transitório (TRP)

As partículas derivadas da exaustão do diesel (PEDs) representam os principais elementos do grupo das partículas finas (Lawal, 2018). Compreendem hidrocarbonetos alifáticos, policíclicos aromáticos (HPAs), compostos heterocíclicos e metais (Kumagai et al., 2012; Lawal, 2018). Entre os HPAs, destacam-se as quinonas, substâncias orgânicas que podem ser formadas diretamente pela combustão incompleta de combustíveis fósseis (ex.: diesel), ou por processos indiretos, como a oxidação de HPAs presentes no MP, via ação da luz solar ou por reações com substâncias como o ozônio, nitrato, e também por meio de mecanismos de biotransformação pelo citocromo P450 (Figura 3) (Vione et al., 2006; Kumagai et al., 2012; Sousa et al., 2016).

Figura 3 - Vias de formação direta e indireta das quinonas.

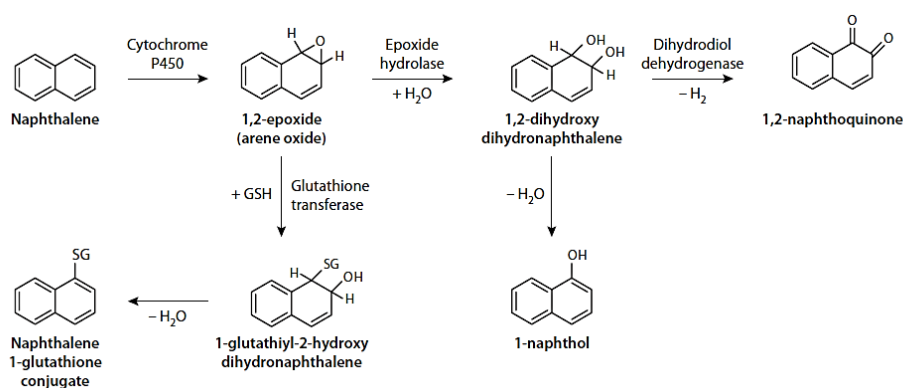


(FONTE: Adaptado de Sousa et al., 2016).

O naftaleno, um dos principais HPAs presentes na atmosfera, é o precursor das quinonas, sendo a 1,2-naftoquinona e 1,4-naftoquinona, os principais produtos formados (Kumagai et al., 2012). Quimicamente formado por dois anéis de benzeno, o naftaleno é altamente volátil e, por isso, possui fácil acesso às vias aéreas, causando assim toxicidade pulmonar (Kumagai et al., 2012). As quinonas são altamente reativas e abundantes na atmosfera, como produtos tóxicos oriundos do naftaleno ou de produtos químicos ambientais (Kumagai et al., 2012). Segundo Cho e colaboradores (2004), para cada g de PED, estão contidos 13,7µg de 1,2-NQ.

O naftaleno é metabolizado pelas enzimas do citocromo P450 (Figura 4), formando o 1,2-epóxido, que, mediante a ação enzimática (epóxido hidrolase), sofre hidrólise, dando origem ao metabólito 1,2-dihidroxi-naftaleno, que por sua vez é oxidado em 1,2-naftoquinona (Zheng et al., 1997). A 1,2-NQ exerce efeitos tóxicos no organismo, capazes de causar danos aos tecidos, em particular, devido a geração do estresse oxidativo, decorrente da formação de EROs, por meio da reação desse poluente com o oxigênio molecular (Miura et al., 2011). Outro mecanismo importante é a capacidade da 1,2-NQ ligar-se covalentemente a proteínas celulares, modificando os grupamentos tióis (S-alquilação), resultando na ruptura da transdução de sinais das células e na formação de aductos protéicos (Zheng et al., 1997; Miura et al., 2011).

Figura 4 - Biotransformação do naftaleno em 1,2-naftoquinona e demais metabólitos primários e secundários.



(FONTE: Kumagai et al., 2012).

As quinonas são altamente reativas, podendo interagir com sistemas biológicos (ex.: células), promover a geração de EROs (danos oxidativos), efeitos citotóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e reações inflamatórias (Bolton et al., 2000; Saeed et al., 2007; Teles et al., 2010; Santos et al., 2014; Florenzano et al. 2017; Soares AG, 2019).

Nesse contexto, estudos prévios do grupo demonstraram que a injeção intra-traqueal simultânea de PED e 1,2-NQ, resultou em resposta inflamatória exacerbada nas vias aéreas de ratos, quando comparado ao efeito isolado dos respectivos compostos administrados isoladamente, via mecanismo neurogênico regulado, em parte, por receptores de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1) e taquicininas (NK1 e NK2) (Teles et al., 2010).

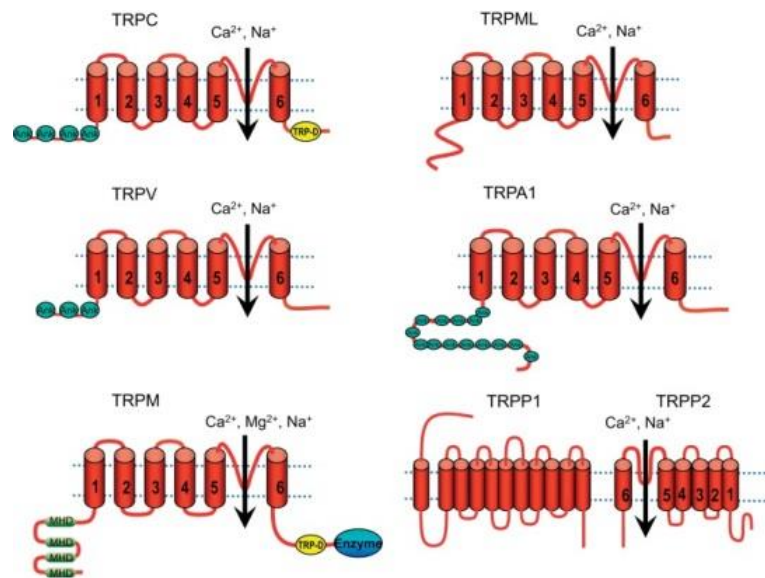
O mesmo grupo revelou que a exposição inalatória de camundongos neonatos machos ao poluente 1,2-NQ induziu maior susceptibilidade destes à inflamação alérgica pulmonar na fase neonatal, em comparação ao efeito observado pela exposição na fase adulta (Santos et al., 2014). De acordo com Santos e colaboradores (2014), estes resultados estão relacionados ao aumento da resposta inflamatória causado pela exposição a 1,2-NQ, por meio da ativação das células apresentadoras de antígeno (APC) e consequente aumento de citocinas e da resposta humoral (IgE).

Paralelamente, Florenzano e colaboradores (2017) revelaram que os camundongos machos expostos a 1,2-NQ, na fase neonatal, são mais susceptíveis à exacerbção da inflamação alérgica pulmonar do que as fêmeas. Mecanicamente, nosso grupo demonstrou que as fêmeas possuem maior proteção, por meio da ativação das defesas antioxidantes devido aos fatores hormonais (Florenzano et al., 2017). Posteriormente, recente estudo do grupo revelou que a administração *in vitro* da 1,2-NQ em átrio direito isolado de camundongos jovens promoveu aumento do cronotropismo positivo, enquanto a pré-incubação da artéria pulmonar (pré-contraída com fenilefrina) com solução contendo 1,2-NQ, promoveu redução da resposta vasodilatadora frente a acetilcolina (Soares AG, 2019). Quando a 1,2-NQ foi administrada em concentrações crescentes em artérias mesentéricas de camundongos selvagens *in vitro*, esse poluente promoveu contração dependente da concentração, cuja resposta contrátil máxima foi marcadamente reduzida em artéria mesentérica de camundongos nocautes para o TRPA1, sugerindo o envolvimento dos receptores TRPA1 na alteração vascular induzida pela 1,2-NQ (Soares AG, 2019).

Vale acrescentar que outros grupos mostram que os receptores TRP (potencial transitório) atuam como potenciais alvos para os efeitos do PAA, EROs e metabólitos formados (vide revisão: Geppetti et al., 2014; vide revisão: Akopian et al., 2016).

Os canais TRP formam a superfamília de canais catiônicos, sensíveis a diversos estímulos físicos e químicos, como alteração de temperatura, luz, pressão, estresse oxidativo, alterações no ambiente lipídico, bem como sinais inflamatórios (Owsianik et al., 2006). Existem seis subfamílias: TRP canônico (TRPC), TRP vanilóide (TRPV), TRP melastatina (TRPM), TRP anquirina (TRPA), TRP policístico (TRPP) e TRP mucolipina (TRPML), todas estas possuem seis domínios transmembrana (Figura 5), variando entre elas o comprimento dos domínios intracelulares amino (N-terminal) e carboxila (C-terminal) e a sequência de aminoácidos (vide revisão: Clapham, 2003; vide revisão: Voets et al., 2005; Owsianik et al., 2006). Os canais são expressos em diferentes tipos de células e estão envolvidos em inúmeras funções celulares essenciais (Pedersen et al., 2005; Yue et al., 2015).

Figura 5 - Estrutura proposta para os canais TRP.



(FONTE: Yue et al., 2015).

Os canais TRP são amplamente expressos no tecido cardíaco, entre eles o TRPC1, TRPC3-7, TRPV2, TRPV4, TRPM2, TRPM4-5, TRPM7 e TRPP1 e 2. Todos os TRPCs, exceto o TRPC5, são expressos nas células do nodo sinoatrial (SA), além de TRPC6, TRPM4 e TRPM7 (Yue et al., 2015). Em animais nocautes de receptores

TRPM7 e TRPP1 / TRPP2, foi possível observar alterações significativas na função e desenvolvimento do coração (Yue et al., 2015). Sobre a expressão dos receptores TRP, sabe-se que os subtipos de canais TRPA1 estão expressos em diversos tecidos, incluindo tecido adiposo, trato gastrointestinal, nervos perivasculares e células endoteliais (vide revisão: Bodkin e Brain, 2011; Bishnoi et al., 2018). Segundo Kurhanewicz e colaboradores (2016) o bloqueio farmacológico dos receptores TRPA1 diminuiu a arritmia cardíaca, oriunda do desequilíbrio autonômico induzido pela PAA em ratos. Outros estudos indicam que os canais TRPV1, assim como TPV2, expressos em neurônios sensoriais sensíveis a capsaicina, desempenham diversos eventos cardiovasculares, contribuindo assim para o controle da função fisiológica e patológica (Clapham, 2003). Yue e colaboradores (2005) demonstraram em modelo animal que a ativação de canais TRPV1 exerce efeito protetor à função cardíaca, possivelmente devido ao aumento da liberação de substância P dos neurônios sensoriais.

Assim como no sistema cardiovascular, o fígado também expressa diversos subtipos dos canais TRP. Li e colaboradores (2012) demonstraram a importância do canal TRPV1, presente nos hepatócitos, na regulação do acúmulo de lipídeos no fígado. Segundo os autores, a adição de capsaicina à dieta hiperlipídica dos animais foi capaz de prevenir o desenvolvimento de esteatose hepática, possivelmente devido ao aumento da expressão de proteína de desacoplamento mitocondrial tipo 2 (UCP2) que, quando estimulada, desempenha importante papel sobre o metabolismo lipídico, balanço energético e diminuição do estresse oxidativo (Li et al., 2012). Em outro estudo realizado em modelo animal (camundongos nocautes para ApoE), os autores revelaram que a DH nesses animais foi capaz de promover aumento da expressão de receptores TRPC3 no endotélio proporcional a progressão da DHGNA (Smedlund et al., 2016).

2 RESUMO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

1. O presente estudo demonstrou, pela primeira vez, que a exposição precoce ao aerossol de 1,2-NQ promove alterações cardiometabólicas significativas (ALT, AST, aumento da sensibilidade à insulina, aumento de peso e depósito de gordura), que provavelmente contribuiu para indução da esteatose hepática grau I, que na vigência da dieta inadequada (DH), evolui para esteatose grau II;
2. A exposição na fase neonatal ao poluente eletrofílico 1,2-NQ é capaz de provocar desequilíbrio simpato-vagal nos animais ApoE^{-/-} que, na presença da DH, exibem aumento da sensibilidade atrial *in vitro* frente à norepinefrina;
3. Os mecanismos de indução e proteção da esteatose e alterações metabólicas não estão estabelecidos, mas não podem ser atribuídos à maior expressão dos receptores TRPV1 e TRPA1, previamente envolvidos nos efeitos inflamatórios da 1,2-NQ nas vias aéreas e vasos; porém, não é descartada a participação desses receptores nas alterações cardíacas;
4. Os achados mostram ainda que:
 - a. O ganho de peso não está simplesmente relacionado à alimentação (DH) ou a quantidade ingerida;
 - b. Os mecanismos de sinalização envolvidos no metabolismo lipídico e resistência à insulina: AMPK / SREBP / ACC e IRs-1 / Akt, não foram investigados e, portanto, não podem ser excluídos;

3 REFERÊNCIAS

I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 84, Suplemento I, Abril 2005.

Abe KC, Miraglia SG. Health Impact Assessment of Air Pollution in São Paulo, Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 Jul 11;13(7).

Ahn JH, Cho SY, Ha JD, Chu SY, Jung SH, Jung YS, Baek JY, Choi IK, Shin EY, Kang SK, Kim SS, Cheon HG, Yang SD, Choi JK. Synthesis and PTP1B inhibition of 1,2-naphthoquinone derivatives as potent anti-diabetic agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 2002 Aug 5;12(15):1941-6.

Akopian AN, Fanick ER, Brooks EG. TRP channels and traffic-related environmental pollution-induced pulmonary disease. *Semin Immunopathol*. 2016 May;38(3):331-8.

Alawi KM, Tandio D, Xu J, Thakore P, Papacleovoulou G, Fernandes ES, Legido-Quigley C, Williamson C, Brain SD. Transient receptor potential canonical 5 channels plays an essential role in hepatic dyslipidemia associated with cholestasis. *Sci Rep*. 2017 May 24;7(1):2338.

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J; IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *Lancet*. 2005 Sep 24;366(9491):1059-62.

Alvarez P, Genre F, Iglesias M, Augustin JJ, Tamayo E, Escolà-Gil JC, Lavín B, Blanco-Vaca F, Merino R, Merino J. Modulation of autoimmune arthritis severity in mice by apolipoprotein E (ApoE) and cholesterol. *Clin Exp Immunol*. 2016 Dec;186(3):292-303.

Araujo JA, Barajas B, Kleinman M, Wang X, Bennett BJ, Gong KW, Navab M, Harkema J, Sioutas C, Lulis AJ, Nel AE. Ambient particulate pollutants in the ultrafine range promote early atherosclerosis and systemic oxidative stress. *Circ Res*. 2008 Mar 14;102(5):589-96.

Araujo LCC, Feitosa KB, Murata GM, Furigo IC, Teixeira SA, Lucena CF, Ribeiro LM, Muscará MN, Costa SKP, Donato J Jr, Bordin S, Curi R, Carvalho CRO. *Uncaria tomentosa* improves insulin sensitivity and inflammation in experimental NAFLD. *Sci Rep*. 2018 Jul 20;8(1):11013.

Arciello M, Gori M, Maggio R, Barbaro B, Tarocchi M, Galli A, Balsano C. Environmental pollution: a tangible risk for NAFLD pathogenesis. *Int J Mol Sci*. 2013 Nov 7;14(11):22052-66.

Asrih M, Jornayvaz FR. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Dec 15;418 Pt 1:55-65.

Bishnoi M, Khare P, Brown L, Panchal SK. Transient receptor potential (TRP channels: a metabolic TR(i)P to obesity prevention and therapy. *Obes Rev.* 2018 Sep;19(9):1269-1292.

Blackmore HL, Piekarz AV, Fernandez-Twinn DS, Mercer JR, Figg N, Bennett M, Ozanne SE. Poor maternal nutrition programmes a pro-atherosclerotic phenotype in ApoE^{-/-} mice. *ClinSci (Lond).* 2012 Aug 1;123(4):251-7.

Bodkin JV, Brain SD. Transient receptor potential ankyrin 1: emerging pharmacology and indications for cardiovascular biology. *Acta Physiol (Oxf).* 2011 Sep;203(1):87-98.

Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ. Role of quinones in toxicology. *Chem Res Toxicol.* 2000 Mar;13(3):135-60.

Bourdrel T, Bind MA, Béjot Y, Morel O, Argacha JF. Cardiovascular effects of air pollution. *Arch Cardiovasc Dis.* 2017 Nov;110(11):634-642.

Brandt S, Dickinson B, Ghosh R, Lurmann F, Perez L, Penfold B, Wilson J, Künzli N, McConnell R. Costs of coronary heart disease and mortality associated with near road way air pollution. *Sci Total Environ.* 2017 Dec 1;601-602:391-396.

Brook RD. Cardiovascular effects of air pollution. *Clin Sci (Lond).* 2008 Sep;115(6):175-87.

Brumbaugh DE, Friedman JE. Developmental origins of nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res.* 2014 Jan;75(1-2):140-7.

Büchner N, Ale-Agha N, Jakob S, Sydlik U, Kunze K, Unfried K, Altschmied J, Haendeler J. Unhealthy diet and ultra-fine carbon Black particles induce senescence and disease associated phenotypic changes. *ExpGerontol.* 2013 Jan;48(1):8-16.

Campen MJ, Lund AK, Knuckles TL, Conklin DJ, Bishop B, Young D, Seilkop S, Seagrave J, Reed MD, McDonald JD. Inhaled diesel emissions alter atherosclerotic plaque composition in ApoE^{-/-} mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010 Feb 1;242(3):310-7.

Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.* 1985; 113:484-90.

Catta-Preta, M; Mendonca, LS; Fraulob-Aquino, J; Aguila, MB; Mandarin-de Lacerda, CA. A critical analysis of three quantitative methods of assessment of hepatic steatosis in liver biopsies. *Virchows Arch*, 459:477–485, 2011.

CETESB Série Relatórios: Qualidade do ar no estado de São Paulo, 2016. Ano de publicação 2017. Disponível em: http://ar.cetesb.sp.gov.br/publicacoes_relatorios/.

Chen LC, Hwang JS. Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. IV. Characterization of acute and chronic effects of ambient

air fine particulate matter exposures on heart-rate variability. *Inhal Toxicol.* 2005 Apr;17(4-5):209-16.

Chen T, Jia G, Wei Y, Li J. Beijing ambient particle exposure accelerates atherosclerosis in ApoE knockout mice. *ToxicolLett.* 2013 Nov 25;223(2):146-53.

Chin MT. Basic mechanisms for adverse cardiovascular events associated with air pollution. *Heart.* 2015 Feb;101(4):253-6.

Cho AK, Schmitz DA, You Y, Rodriguez CE, Distefano E, Kumagai Y, Miguel AH, Figuren A, Kobayashi T, Avol EL, Froines JR. Determination of four quinones in diesel exhaust particles, SRM1649A and atmospheric 2.5. *Aerosol Sci Technol.* 2004a; 38:14.

Cho HY, Reddy SP, Yamamoto M, Kleeberger SR. The transcription factor NRF2 protects against pulmonary fibrosis. *FASEB J.* 2004b;18(11):1258-60.

Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature.* 2003 Dec 4;426(6966):517-24.

Conti M, Morand PC, Levillain P, Lemonnier A. Improved fluorometric determination of malonaldehyde. *Clin Chem.* 1991 Jul;37(7):1273-5.

Dang J, Yang M, Zhang X, Ruan H, Qin G, Fu J, Shen Z, Tan A, Li R, Moore J. Associations of Exposure to Air Pollution with Insulin Resistance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2018 Nov 20;15(11).

D'Anna C, Cigna D, Di Sano C, Di Vincenzo S, Dino P, Ferraro M, Bini L, Bianchi L, Di Gaudio F, Gjomarkaj M, Pace E. Exposure to cigarette smoke extract and lipopolysaccharide modifies cytoskeleton organization in bronchial epithelial cells. *Exp Lung Res.* 2017 Nov - Dec;43(9-10):347-358

Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology.* 1998 Apr;114(4):842-5.

Dhakal S, Lee Y. Transient Receptor Potential Channels and Metabolism. *Mol Cells.* 2019 Aug 31;42(8):569-578.

Day EA, Ford RJ, Steinberg GR. AMPK as a Therapeutic Target for Treating Metabolic Diseases. *Trends Endocrinol Metab.* 2017 Aug;28(8):545-560.

Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med.* 1993 Oct;15(4):353-63.

Eze IC, Schaffner E, Foraster M, Imboden M, von Eckardstein A, Gerbase MW, Rothe T, Rochat T, Künzli N, Schindler C, Probst-Hensch N. Long-Term Exposure to Ambient Air Pollution and Metabolic Syndrome in Adults. *PLoS One.* 2015 Jun 23;10(6): e0130337.

Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984;105:114-21.

Florenzano J, Santos KT, Teixeira SA, Rodrigues L, Brain SD, Muscará MN, Costa SKP. Neonatal exposure to electrophilic environmental pollutant induces gender dependent susceptibility to pulmonary allergic inflammation in the juvenile period: contribution of redox cycling (manuscrito à ser submetido).

Freitas C, Bremner SA, Gouveia N, Pereira LA, Saldiva PH. Hospital admissions and mortality: association with air pollution in São Paulo, Brazil, 1993 to 1997. *RevSaude Publica.* 2004 Dec;38(6):751-7.

Geppetti P, Patacchini R, Nassini R. Transient receptor potential channels and occupational exposure. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2014 Apr;14(2):77-83.

Ghio AJ, Carraway MS, Madden MC. Composition of air pollution particles and oxidative stress in cells, tissues, and living systems. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2012;15(1):1-21.

Ghosh P, Bitsanis D, Ghebremeskel K, Crawford MA, Poston L. Abnormal aortic fatty acid composition and small artery function in offspring of rats fed a high fat diet in pregnancy. *J Physiol.* 2001 Jun 15;533(Pt 3):815-22.

González-Flecha B. Oxidant mechanisms in response to ambient air particles. *Mol Aspects Med.* 2004 Feb-Apr;25(1-2):169-82.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974 Nov 25;249(22):7130-9.

Han E, Lee YH. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: The Emerging Burden in Cardiometabolic and Renal Diseases. *Diabetes Metab J.* 2017 Dec;41(6):430-437.

Han H, Qiu F, Zhao H, Tang H, Li X, Shi D. Dietary Flaxseed Oil Prevents Western Type Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Apolipoprotein-E Knockout Mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017:3256241.

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

Hernández Vallejo SJ, Alqub M, Luquet S, Cruciani-Guglielmacci C, Delerive P, Lobaccaro JM, Kalopissis AD, Chambaz J, Rousset M, Lacorte JM. Short-term adaptation of postprandial lipoprotein secretion and intestinal gene expression. To a high-fat diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009 Apr;296(4): G782-92.

Hooper LG, Kaufman JD. Ambient Air Pollution and Clinical Implications for Susceptible Populations. *Ann Am Thorac Soc.* 2018 Apr;15(Suppl 2): S64-S68.

Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). Findings from the Global Burden of Disease Study 2017. Seattle, WA: IHME, 2018.

International Food Policy Research Institute. 2016. Global Nutrition Report 2016: From Promise to Impact: Ending Malnutrition by 2030. Washington, DC. Disponível em:<http://ebrary.ifpri.org/utils/getfile/collection/p15738coll2/id/130354/filename/130565.pdf>

Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(2):251-6.

Ji H, Biagini Myers JM, Brandt EB, Brokamp C, Ryan PH, Khurana Hershey GK. Air pollution, epigenetics, and asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016 Oct 19; 12:51.

Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med.* 2011 May 5; 9:48.

Katsagoni CN, Georgoulis M, Papatheodoridis GV, Panagiotakos DB, Kontogianni MD. Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Metabolism.* 2017 Mar; 68:119-132.

Kelishadi R, Poursafa P. Obesity and air pollution: global risk factors for pediatric non alcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon.* 2011 Oct;11(10):794-802.

Kelsey MM, Zaepfel A, Bjornstad P, Nadeau KJ. Age-related consequences of childhood obesity. *Gerontology.* 2014;60(3):222-8.

Kim HJ, Kim JH, Noh S, Hur HJ, Sung MJ, Hwang JT, Park JH, Yang HJ, Kim MS, Kwon DY, Yoon SH. Metabolomic analysis of livers and serum from high-fat diet induced obese mice. *J Proteome Res.* 2011 Feb 4;10(2):722-31.

Kim JW, Park S, Lim CW, Lee K, Kim B. The role of air pollutants in initiation of liver disease. *Toxicol Res.* 2014 Jun;30(2):65-70.

Klaman LD, Boss O, Peroni OD, Kim JK, Martino JL, Zabolotny JM, Moghal N, Lubkin M, Kim YB, Sharpe AH, Stricker-Krongrad A, Shulman GI, Neel BG, Kahn BB. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. *Mol Cell Biol.* 2000 Aug;20(15):5479-89.

Kumagai Y, Abiko Y, Cong NL. Chemical toxicology of reactive species in the atmosphere: two decades of progress in an electron acceptor and an electrophile. *J Toxicol Sci.* 2016;41(Special):SP37-SP47.

Kumagai Y, Shinkai Y, Miura T, Cho AK. The chemical biology of naphthoquinones and its environmental implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2012;52:221-47.

Kumagai, Y. Polycyclic aromatic hydrocarbon quinones as redox and electrophilic chemicals contaminated in the atmosphere. *Journal of Health Science.* 2009;55:887-894.

Kumar S, Kelly AS. Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2017 Feb;92(2):251-265.

Kurhanewicz N, McIntosh-Kastrinsky R, Tong H, Ledbetter A, Walsh L, Farraj A, Hazari M. TRPA1 mediates changes in heart rate variability and cardiac mechanical function in mice exposed to acrolein. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017 Jun 1;324:51-60.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970 Aug 15;227(5259):680-5.

Landrigan PJ, Fuller R. Global health and environmental pollution. *Int J Public Health.* 2015 Nov;60(7):761-2.

Lawal AO. Diesel Exhaust Particles and the Induction of Macrophage Activation and Dysfunction. *Inflammation.* 2018 Feb;41(1):356-363.

Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: tightening the morphological screws on a hepatic rambler. *Hepatology.* 1995 Jun;21(6):1742-3.

Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 1995 Oct 26;333(17):1118-27.

Li L, Chen J, Ni Y, Feng X, Zhao Z, Wang P, Sun J, Yu H, Yan Z, Liu D, Nilus B, Zhu Z. TRPV1 activation prevents nonalcoholic fatty liver through UCP2 upregulation in mice. *Pflugers Arch.* 2012 Apr;463(5):727-32.

Li W, Dorans KS, Wilker EH, Rice MB, Schwartz J, Coull BA, Koutrakis P, Gold DR, Fox CS, Mittleman MA. Residential proximity to major roadways, fine particulate matter, and adiposity: The framingham heart study. *Obesity (Silver Spring).* 2016 Dec;24(12):2593-2599.

Lippmann M, Chen LC. Health effects of concentrated ambient air particulate matter (CAPs) and its components. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(10):865-913.

Lippmann M, Hwang J-S, Maciejczyk P, Chen L-C. PM Source Apportionment for Short-Term Cardiac Function Changes in ApoE^{-/-} Mice. *Environmental Health Perspectives.* 2005;113(11):1575-1579.

Lonardo A, Nascimbeni F, Mantovani A, Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *J Hepatol.* 2018 Feb;68(2):335-352.

Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res.* 1984 Dec 1;25(12):1277-94.

Mahley RW, Rall SC Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000;1:507-37.

Marais AD. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease. *Pathology*. 2019 Feb;51(2):165-176.

Martinelli N, Olivieri O, Girelli D. Air particulate matter and cardiovascular disease: a narrative review. *Eur J Intern Med*. 2013 Jun;24(4):295-302.

Mendonça M, Silva RNO, Marques, BVD. Resistência à Insulina e Obesidade. Em: Rodrigues AC, Branco PC. *Métodos em farmacologia: atualidades e desafios*. São Paulo: Payá, 2019.

Menezes AL, Pereira MP, Buzelle SL, Dos Santos MP, de França SA, Baviera AM, Andrade CM, Garófalo MA, Kettelhut Ido C, Chaves VE, Kawashita NH. A low protein, high-carbohydrate diet increases de novo fatty acid synthesis from glycerol and glycerol kinase content in the liver of grow ingrats. *Nutr Res*. 2013 Jun;33(6):494-502.

Miller MR, Shaw CA, Langrish JP. From particles to patients: oxidative stress and the cardiovascular effects of air pollution. *Future Cardiol*. 2012 Jul;8(4):577-602

Miller MR, McLean SG, Duffin R, LawalAO, Araujo JA, Shaw CA, Mills NL, Donaldson K, Newby DE, Hadoke PW. Diesel exhaust particulate increases the size and complexity of lesions in atherosclerotic mice. *Part Fibre Toxicol*. 2013 Dec11; 10:61.

Ministério da Saúde. Obesidade e desnutrição. NUT/FS/UnB -ATAN/DAB/SPS. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/obesidade_desnutricao.pdf.

Miura T, Shinkai Y, Jiang HY, Iwamoto N, Sumi D, Taguchi K, Yamamoto M, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Cho AK, Kumagai Y. Initial response and cellular protection through the Keap1/Nrf2 system during the exposure of primary mouse hepatocytes to 1,2-naphthoquinone. *Chem Res Toxicol*. 2011 Apr 18;24(4):559-67.

Münzel T, Camici GG, Maack C, Bonetti NR, Fuster V, Kovacic JC. Impact of oxidative stress on the heart and vasculature: part 2 of a 3-part series. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:212–29.

Newby DE, Mannucci PM, Tell GS, Baccarelli AA, Brook RD, Donaldson K, Forastiere F, Franchini M, Franco OH, Graham I, Hoek G, Hoffmann B, Hoylaerts MF, Künzli N, Mills N, Pekkanen J, Peters A, Piepoli MF, Rajagopalan S, Storey RF; ESC Working Group on Thrombosis, European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation; ESC Heart Failure Association. Expert position paper on air pollution and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2015 Jan 7;36(2):83-93b.

Niemann B, Rohrbach S, Miller MR, Newby DE, Fuster V, Kovacic JC. Oxidative Stress and Cardiovascular Risk: Obesity, Diabetes, Smoking, and Pollution: Part 3 of a 3-Part Series. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jul 11;70(2):230-251.

Owsianik G, D'hoedt D, Voets T, Nilius B. Structure-function relationship of the TRP channel superfamily. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2006;156:61-90.

Pedersen SF, Owsianik G, Nilius B. TRP channels: an overview. *Cell Calcium*. 2005 Sep-Oct;38(3-4):233-52.

Pei Y, Jiang R, Zou Y, Wang Y, Zhang S, Wang G, Zhao J, Song W. Effects of Fine Particulate Matter (PM_{2.5}) on Systemic Oxidative Stress and Cardiac Function in ApoE^{-/-} Mice. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 May 12;13(5).

Pereira LA, Loomis D, Conceição GM, Braga AL, Arcas RM, Kishi HS, Singer JM, Böhm GM, Saldiva PH. Association between air pollution and intrauterine mortality in São Paulo, Brazil. *Environ Health Perspect*. 1998 Jun;106(6):325-9.

Picone O, Laigre P, Fortun-Lamothe L, Archilla C, Peynot N, Ponter AA, Berthelot V, Cordier AG, Duranthon V, Chavatte-Palmer P. Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity. *Theriogenology*. 2011 Jan 15;75(2):287-99.

Preker AS, Adeyi OO, Lapetra MG, Simon DC, Keuffel E. Health Care Expenditures Associated With Pollution: Exploratory Methods and Findings. *Ann Glob Health*. 2016 Sep - Oct;82(5):711-721.

Ropelle ER, Pauli JR, Prada PO, de Souza CT, Picardi PK, Faria MC, Cintra DE, Fernandes MF, Flores MB, Velloso LA, Saad MJ, Carnevali JB. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. *J Physiol*. 2006 Dec 15;577(Pt 3):997-1007.

Rosini TC, Silva AS, Moraes Cd. Diet-induced obesity: rodent model for the study of obesity-related disorders. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2012 May-Jun;58(3):383-7.

Rychkov GY, Barritt GJ. Expression and function of TRP channels in liver cells. *Adv Exp Med Biol*. 2011;704:667-86.

Sacks JD, Stanek LW, Luben TJ, Johnson DO, Buckley BJ, Brown JS, Ross M. Particulate matter-induced health effects: Who is susceptible? *Environ Health Perspect*. 2011 Apr;119(4):446-54.

Saeed M, Higginbotham S, Rogan E, Cavalieri E. Formation of depurinating N3 adenine and N7 guanine adducts after reaction of 1,2-naphthoquinone or enzyme-activated 1,2-dihydroxynaphthalene with DNA. Implications for the mechanism of tumor initiation by naphthalene. *Chem Biol Interact*. 2007 Feb 20;165(3):175-88.

Santos KT, Florenzano J, Rodrigues L, Fávoro RR, Ventura FF, Ribeiro MG, Teixeira SA, Ferreira HH, Brain SD, Damazo AS, Zorn TM, Câmara NO, Muscará MN, Peron JP, Costa SK. Early postnatal, but not late, exposure to chemical ambient pollutant 1,2-naphthoquinone increases susceptibility to pulmonary allergic inflammation at adulthood. *Arch Toxicol*. 2014 Aug;88(8):1589-605. Santos VP, Medeiros APP, Lima TAC, Nascimento LFC. Poluentes atmosféricos associados ao peso insuficiente ao nascimento. *Rev. bras. Epidemiol*. 2016 Mar 19(1): 89-99.

Schierwagen R, Maybüchen L, Zimmer S, Hittatiya K, Bäck C, Klein S, Uschner FE, Reul W, Boor P, Nickenig G, Strassburg CP, Trautwein C, Plat J, Lütjohann D, Sauerbruch T, Tacke F, Trebicka J. Seven weeks of Western diet in apolipoprotein E deficient mice induce metabolic syndrome and non-alcoholic steatohepatitis with liver fibrosis. *Sci Rep*. 2015 Aug 11;5:12931.

Shamy M, Alghamdi M, Khoder MI, Mohorjy AM, Alkhatim AA, Alkhalaf AK, Brocato J, Chen LC, Thurston GD, Lim CC, Costa M. Association between Exposure to Ambient Air Particulates and Metabolic Syndrome Components in a Saudi Arabian Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 Dec 25;15(1).

Sheppard A, Ngo S, Li X, Boyne M, Thompson D, Pleasants A, Gluckman P, Forrester T. Molecular Evidence for Differential Long-term Outcomes of Early Life Severe Acute Malnutrition. *EBioMedicine*. 2017 Apr;18:274-280.

Smedlund K, Dube P, Vazquez G. Early steatohepatitis in hyperlipidemic mice with endothelial-specific gain of TRPC3 function precedes changes in aortic atherosclerosis. *Physiological Genomics*. 2016;48(8):644-649.

Soares, AG. Efeito da exposição precoce ao poluente 1,2-naftoquinona sobre a função vascular e cardíaca: papel dos canais iônicos receptores de potencial transitório (TRP). Tese de Doutorado em Ciências – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Soares AG, Costa SKP, Muscará MN. Molecular mechanism and health effects of 1,2-Naphthoquinone. *EXCLI Journal*, v. 19, p. 707-717, 2020.

Sousa ET, Lopes WA, Andrade JB. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. *Química Nova*. 2016;39(4): 486-495.

Sweet PH, Khoo T, Nguyen S. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Prim Care*. 2017 Dec;44(4):599-607.

Sztajzel J. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *Swiss Med Wkly*. 2004 Sep;134(35-36):514-22.

Tan HH, Fiel MI, Sun Q, Guo J, Gordon RE, Chen LC, Friedman SL, OdinJA, Allina J. Kupffer cell activation by ambient air particulate matter exposure may exacerbate non-alcoholic fatty liver disease. *J Immunotoxicol*. 2009 Dec;6(4):266-75.

Tarantino G, Capone D, Finelli C. Exposure to ambient air particulate matter and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2013 Jul 7;19(25):3951-6.

Teasdale JE, Newby AC, Timpson NJ, Munafò MR, White SJ. Cigarette smoke but not electronic cigarette aerosol activates a stress response in human coronary artery endothelial cells in culture. *Drug Alcohol Depend*. 2016 Jun 1;163:256-60.

Teles AM, Kumagai Y, Brain SD, Teixeira SA, Varriano AA, Barreto MA, de Lima WT, Antunes E, Muscará MN, Costa SK. Involvement of sensory nerves and TRPV1

receptors in the rat airway inflammatory response to two environment pollutants: diesel exhaust particles (DEP) and 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ). *Arch Toxicol.* 2010 Feb;84(2):109-17.

Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis.* 2015 Mar;239(1):192-202.

Toyoshima Y, Tokita R, Taguchi Y, Akiyama-Akanishi N, Takenaka A, Kato H, Chida K, Hakuno F, Minami S, Takahashi S. Tissue-specific effects of protein malnutrition on insulin signaling pathway and lipid accumulation in grow in grats. *Endocr J.* 2014;61(5):499-512.

Ukeda H, Maeda S, Ishii T, Sawamura M. Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on tetrazolium salt 3'--1--(phenylamino)-carbonyl--3,4-tetrazolium] bis(4-methoxy-6-nitro)benzenesulfonic acid hydrate reduction by xanthine-xanthine oxidase. *Anal Biochem.* 1997 Sep 5;251(2):206-9.

Utz-Melere M, Targa-Ferreira C, Lessa-Horta B, Epifanio M, Mouzaki M, Mattos AA. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: Lifestyle Change – a Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Hepatol.* 2018 May June;17(3):345-354.

Vione D, Maurino V, Minero C, Pelizzetti E, Harrison MA, Olariu RI, Arsene C. Photochemical reactions in the tropospheric aqueous phase and on particulate matter. *Chem Soc Rev.* 2006 May;35(5):441-53.

Voets T, Talavera K, Owsianik G, Nilius B. Sensing with TRP channels. *Nat Chem Biol.* 2005 Jul;1(2):85-92.

Wagner T, Bartelt A, Schlein C, Heeren J. Genetic Dissection of Tissue-Specific Apolipoprotein E Function for Hypercholesterolemia and Diet-Induced Obesity. *Plos One.* 2015 Dec 22;10(12):e0145102.

Wagner JG, Allen K, Yang HY, Nan B, Morishita M, Mukherjee B, Dvonch JT, Spino C, Fink GD, Rajagopalan S, Sun Q, Brook RD, Harkema JR. Cardiovascular depression in rats exposed to inhaled particulate matter and ozone: effects of diet-induced metabolic syndrome. *Environ Health Perspect.* 2014 Jan;122(1):27-33.

Wang J, Perrard XD, Perrard JL, Mukherjee A, Rosales C, Chen Y, Smith CW, Pownall HJ, Ballantyne CM, Wu H. ApoE and the role of very low-density lipoproteins in adipose tissue inflammation. *Atherosclerosis.* 2012 Aug;223(2):342-9.

Wang X, Yang Y, Zhu P, Wu Y, Jin Y, Yu S, Wei H, Qian M, Cao W, Xu S, Liu Y, Chen G, Zhao X. Prenatal exposure to diesel exhaust PM(2.5) programmed non-alcoholic fatty liver disease differently in adult male offspring of mice fed normal chow and a high-fat diet. *Environ Pollut.* 2019 Dec;255(Pt 1):113366.

Wang YX. Cardiovascular functional phenotypes and pharmacological responses in apolipoprotein E deficient mice. *Neurobiol Aging.* 2005 Mar;26(3):309-16.

Weihe P, Weihrauch-Blüher S. Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Diagnostic Criteria, Therapeutic Options and Perspectives. *Curr Obes Rep*. 2019 Nov 5.

WHO - World Health Organization: Air pollution and child health: prescribing clean air. Summary, 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO – World Health Organization: Ambient air pollution: A global assessment of exposure and burden of disease. Ed. World Health Organization, 2016. ISBN: 9789241511353.

WHO – World Health Organization: Ambient air pollution: Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks. Ed. World Health Organization, 2016. ISBN: 9789241565196.

WHO – World Health Organization: Ten years in public health 2007–2017 Ed. World Health Organization, 2017. ISBN: 9789241512442.

Xu X, Yavar Z, Verdin M, Ying Z, Mihai G, Kampfrath T, Wang A, Zhong M, Lippmann M, Chen LC, Rajagopalan S, Sun Q. Effect of early particulate air pollution exposure on obesity in mice: role of p47phox. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Dec;30(12):2518-27.

Yin F, Gupta R, Vergnes L, Driscoll WS, Ricks J, Ramanathan G, Stewart JA, Shih DM, Faull KF, Beaven SW, Lusic AJ, Reue K, Rosenfeld ME, Araujo JA. Diesel Exhaust Induces Mitochondrial Dysfunction, Hyperlipidemia, and Liver Steatosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019 Sep;39(9):1776-1786.

Yu H, Li Q, Kolosov VP, Perelman JM, Zhou X. Regulation of particulate matter induced mucin secretion by transient receptor potential vanilloid 1 receptors. *Inflammation*. 2012 Dec;35(6):1851-9.

Yue Z, Xie J, Yu AS, Stock J, Du J, Yue L. Role of TRP channels in the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Feb 1;308(3):H157-82.

Zhao G, Mo J, Zheng T, Li Y, Wu X, Huang J, Liu G, Huang Z, Yu B. Puberty exposure to cigarette smoke extract impairs adult spermatogenesis in the mouse. *Reprod Toxicol*. 2019 Jan; 83:8-13

Zheng J, Cho M, Jones AD, Hammock BD. Evidence of quinone metabolites of naphthalene covalently bound to sulfur nucleophiles of proteins of murine Clara cells after exposure to naphthalene. *Chem Res Toxicol*. 1997 Sep;10(9):1008-14.

Zheng Z, Xu X, Zhang X, Wang A, Zhang C, Hüttemann M, Grossman LI, Chen LC, Rajagopalan S, Sun Q, Zhang K. Exposure to ambient particulate matter induces a NASH-like phenotype and impairs hepatic glucose metabolism in an animal model. *J Hepatol*. 2013 Jan;58(1):148-54.