



**Natália Rego e Silva**

**Avaliação estatística dos efeitos do fumo e do uso de anticoncepcionais na composição química do cabelo.**

### **Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Química, do Departamento de Química da PUC- Rio.

Orientador: Tatiana Dillenburg Saint'Pierre

Coorientador: Cristiane Ribeiro Mauad

Rio de Janeiro

Setembro de 2023



**Natália Rego e Silva**

**Avaliação estatística dos efeitos do fumo e do uso de anticoncepcionais na composição química do cabelo.**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Tatiana Dillenburg Saint’Pierre  
Orientador

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cristiane Ribeiro Mauad  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - IFRJ

Prof. Dr. José Marcus de O. Godoy  
Departamento de Química – PUC-Rio

Prof. Dr. Carlos German Massone  
Departamento de Química – PUC-Rio

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Luciana M. B. Ventura  
Instituto Estadual do Ambiente - INEA

Rio de Janeiro, 26 de setembro de 2023

Todos os direitos reservados. A reprodução, total ou parcial do trabalho, é proibida sem a autorização da universidade, da autora e do orientador.

Natália Rego e Silva

Formada em Técnico em Química (2016) pelo Colégio de Integração Objetivo (CIOB). Graduada em Licenciatura em Química (2021) pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) *campus* Duque de Caxias. Atualmente trabalha como Professora de Química na rede particular.

#### Ficha Catalográfica

Silva, Natália Rego e

Avaliação estatística dos efeitos do fumo e do uso de anticoncepcionais na composição química do cabelo / Natália Rego e Silva ; orientador: Tatiana Dillenbourg Saint’Pierre ; coorientador: Cristiane Ribeiro Mauad. – 2023.

98 f. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2023.

Inclui bibliografia

CDD: 540

Aos meus espelhos, Jorge Luiz e Rose Mary, Meu  
companheiro de vida, de ideias e de ideais, Caio Paiva.

## Agradecimentos

A Deus, pela minha vida e por sua presença guiando meus caminhos. À PUC-Rio, pela bolsa de isenção concedida.

À minha orientadora Dr. Tatiana Dillenbourg Saint’Pierre, por ter me orientado neste trabalho e ter sido bastante solícita em todos os momentos do desenvolvimento do projeto, me ajudando a me desenvolver cada vez mais como pesquisadora.

À minha coorientadora Cristiane Ribeiro Mauad, por toda ajuda, ensinamentos e conselhos durante todo o desenvolvimento deste trabalho, inclusive na reta final, mesmo grávida da Joana.

À minha família, pela confiança e apoio durante todos os dias de longas viagens para a PUC.

Ao meu companheiro de vida, Caio Paiva, por todo apoio e paciência durante as longas horas de escrita e estudos.

À minha irmã Maria Clara, por todo apoio, conversas, conselhos e desabafos.

Às minhas amigas Vitória, Lorena e Glauce, pela amizade, apoio, conselhos e ajuda.

A todas as meninas de Iniciação Científica que participaram deste projeto comigo, em especial à Yasmin, por toda ajuda durante o preparo e análise das amostras.

A todas as professoras e as alunas que participaram do projeto Meninas nas Ciências, que deu origem a esta dissertação.

A toda equipe do LABSPECTRO, por toda ajuda e apoio, em especial Verônica, Adriana e Laís, por me ajudarem a compreender o funcionamento do equipamento, do laboratório e pela companhia durante as análises.

A todas as outras pessoas que participaram dessa minha jornada, expresso minha eterna gratidão.

À banca avaliadora por aceitar avaliar meu trabalho. Ao

Departamento de Química da PUC-Rio.

“O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

## Resumo

Silva, Natália Rego; Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg. **Avaliação estatística dos efeitos do fumo e do uso de anticoncepcionais na composição química do cabelo.** Rio de Janeiro, 2023. 95p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Este trabalho foi desenvolvido a partir do projeto aprovado no Edital Meninas e Mulheres nas Ciências Exatas e da Terra, Engenharias e Computação, da Fundação Carlos Chagas de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), que teve como objetivo promover o interesse de jovens mulheres para a pesquisa científica com projetos desenvolvidos em escolas públicas do estado do Rio de Janeiro. O cigarro e o anticoncepcional são temas comuns entre os jovens por isso, foram escolhidos como objeto de estudo deste trabalho. O cigarro apresenta substâncias tóxicas que causam doenças crônico-degenerativas. Por sua vez, os anticoncepcionais atuam nos hormônios que podem desregular os ciclos de elementos essenciais no organismo. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar, empregando ferramentas estatísticas, a composição elementar de cabelos de pessoas fumantes e mulheres que tomam anticoncepcionais, comparadas à de pessoas que não usam essas substâncias. As amostras de cabelo foram coletadas de voluntários das 5 escolas e analisadas seguindo a metodologia estabelecida no Labspectro, Laboratório de Espectrometria Atômica, da PUC-Rio, para o mineralograma capilar, que consiste na determinação multielementar por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Utilizando o teste Kruskal-Wallis, foram identificadas concentrações significativamente menores ( $p < 0,05$ ) de Na e Mg no grupo dos fumantes, e de Cu nos cabelos de mulheres que tomam anticoncepcionais. Na análise de correlação de Spearman, foram identificadas maiores correlações entre Cu/Pb e Cr/As, para o grupo de fumantes, enquanto correlações entre Co/Se/I para mulheres que tomam anticoncepcional. As análises de componentes principais confirmaram a análise de Spearman, mas não foi possível estabelecer separação dos grupos estudados. Dessa forma, o fumo e o uso de anticoncepcionais interferem nos resultados do mineralograma capilar, sendo necessários mais estudos para avaliar as implicações dessas diferenças à saúde.

## Palavras-chave:

Elementos tóxicos; mineralograma; anticoncepcional; cigarro; ICP-MS

## **Abstract**

Silva, Natália Rego; Saint'Pierre, Tatiana Dillenburg. **Statistical evaluation of the effects of smoking and the use of contraceptives on the chemical composition of hair**. Rio de Janeiro, 2023. 95p. Master's dissertation - Department of Chemistry, Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro.

This work was developed from the project approved in the Call for Proposals for Girls and Women in the Exact and Earth Sciences, Engineering and Computing, from the Carlos Chagas Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), which aimed to promote young women's interest in scientific research with projects developed in public schools in the state of Rio de Janeiro. Cigarettes and contraceptives are common themes among young people, who often end up using them prematurely and were therefore chosen as the subject of this study. Cigarettes contain toxic substances that cause chronic degenerative diseases due to nicotine addiction. In turn, contraceptives act on hormones that can disrupt the cycles of essential elements in the body. The aim of this study was therefore to evaluate, using statistical tools, the elemental composition of the hair of smokers and women who take contraceptives, compared to that of people who do not use these substances. The hair samples were collected from volunteers from the 5 schools participating in the project and analyzed following the methodology established at Labspectro, the Atomic Spectrometry Laboratory at PUC-Rio, for the capillary mineralogram, which consists of multi-elemental determination by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Using the Kruskal-Wallis test, significantly lower concentrations ( $p < 0.05$ ) of Na and Mg were identified in the group of smokers, and of Cu in the hair of women taking contraceptives. In Spearman's correlation analysis, higher correlations were identified for some toxic elements, such as Cu/Pb and Cr/As, for the group of smokers, while correlations involving Co, Se and I were obtained for women taking contraceptives. Principal component analysis confirmed the results of Spearman's analysis, but it was not possible to establish a clear and distinct separation of the groups studied. Thus, it can be concluded that smoking and the use of contraceptives interfere with the results of the hair mineralogram, and further studies are needed to assess the health implications of these differences.

## **Keywords:**

Toxic elements; mineralogram; contraceptive; cigarette; ICP-MS.

## Sumário

1. Introdução	12
2. Revisão Bibliográfica	15
2.1. Fisiologia e Morfologia da Fibra Capilar	15
2.2. Mineralograma Capilar	16
2.3. Determinação multielementar por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)	18
2.4. Consumo de Cigarro no Brasil	21
2.5. Composição Química do Cigarro	24
2.6. Métodos Contraceptivos Hormonais	27
2.7. Tipos e mecanismo dos anticoncepcionais hormonais.	28
3. Objetivos	31
3.1. Objetivo geral	31
3.2. Objetivos específicos	31
4. Materiais e Métodos	32
4.1. Coleta e Preparo das Amostras	34
4.2. Materiais e Reagentes	34
4.3. Equipamentos	34
4.4. Soluções analíticas	35
4.5. Parâmetros analíticos de mérito	35
4.6. Análise estatística dos resultados	37
4.6.1. Testes de Normalidade	37
4.6.2. Estatística não paramétrica	38
4.6.3. Análise multivariada	39
5. Resultados e Discussão	41
5.1. Parâmetros Analítico do Mérito	41
5.1.1. Sensibilidade	41
5.1.2. Exatidão	43
5.2. Análise geral dos resultados e remoção de outliers	44
5.3. Avaliação da Normalidade dos Resultados Analíticos	45
5.4. Análise dos Resultados – Fumo	49
5.4.1. Avaliação Estatística das Concentrações	49
5.4.2. Análise das componentes principais	61
5.5. Análise dos Resultados – Anticoncepcional	66
5.5.1. Avaliação Estatística das Concentrações	66
5.5.2. Análise das componentes principais	76
6. Considerações Finais	82
Referências	83
Anexos	93

## Lista de Figuras

Figura 1: A Representação esquemática da estrutura da fibra capilar humana e sua inserção no couro cabeludo. B Seção transversal esquemática de uma fibra capilar mostrando as camadas de células da medula, do córtex e da cutícula .....	15
Figura 2: Componentes básicos de um espectrômetro de ICP-MS.....	18
Figura 3: Representação da fumaça principal e lateral do cigarro .....	25
Figura 4: Mapa da localização das escolas onde foram coletadas as amostras decabelo..	32
Figura 5: PerkinElmer NexION 300X ICP-MS.....	34
Figura 6: Descrição Gráfica da aplicação da Análise dos Componentes Principais. .....	40
Figura 7: Histogramas da concentração de Ca. 1A – Distribuição antes da transformação BOXCOX 1B- Distribuição após a transformação BOXCOX .....	46
Figura 8: Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para fumantes. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo. .....	50
Figura 9: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para fumantes. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo.....	54
Figura 10: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos FUMANTES .....	58
Figura 11: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos NÃO FUMANTES .....	59
Figura 12: 1- A Gráfico de dispersão entre Pb e Cu para fumantes. 1- B Gráfico de dispersão entre Pb e Cu para não fumantes. 2- A Gráfico de dispersão entre As e Cr para fumantes. 2- B Gráfico de dispersão entre As e Cr para não fumantes. 3 - A Gráfico de dispersão entre Co e As para fumantes. 3- B Gráfico de dispersão entre Co e As para não fumantes.....	60
Figura 13: Agrupamentos das variáveis para o grupo Não fumante (Do autor) .....	61
Figura 14: Agrupamentos das variáveis para o grupo Fumante (Do autor) .....	62
Figura 15: Gráfico Scree para utilizado para a escolha do número de componentes principais (Do autor).....	63

Figura 16: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 .....	64
Figura 17: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 versus Fator 3 .....	65
Figura 18: Gráfico de dispersão de scores Fumantes x Não Fumantes .....	65
Figura 19: Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo ...	66
Figura 20: Box plot da concentração do Cobre para os tipos de anticoncepcionais.	69
Figura 21: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).....	70
Figura 22: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos USO DO ANTICONCEPCIONAL.....	73
Figura 23: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos NÃO USO DO ANTICONCEPCIONAL.....	74
Figura 24: Agrupamentos das variáveis para o grupo dos não usam anticoncepcional (Do autor).....	76
Figura 25: Agrupamentos das variáveis para o grupo usa anticoncepcional (Do autor)	77
Figura 26: Gráfico Scree para utilizado para a escolha do número de componentes principais (Do autor).....	78
Figura 27: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 .....	80
Figura 28: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 versus fator 3.....	80
Figura 29: Gráfico de dispersão de scores uso anticoncepcional x Não Uso Anticoncepcional.....	81

## Lista de Tabela

Tabela 1: Descrição inicial das amostras.....	33
Tabela 2: Parâmetros operacionais do equipamento NexIon 300X.....	35
Tabela 3: Coeficientes de correlação das curvas analíticas, limites de detecção instrumentais e limites de quantificação por grama de amostra para os elementos estudados.....	42
Tabela 4: Concentrações certificadas e concentrações obtidas dos elementos, com respectivos desvios padrão, em mg kg-1, e recuperação, em %, para a amostra certificada CRM NCS DC 73347a. .....	43
Tabela 5: Concentrações certificadas e concentrações obtidas dos elementos, com respectivos desvios padrão, em mg kg-1, e recuperação, em %, para a amostra certificada CRM ERM-DB001 .....	44
Tabela 6: Caracterização das amostras em relação aos grupos de estudo.....	44
Tabela 7: Caracterização das amostras em relação subgrupos “fumantes” e “usa anticoncepcional” .....	45
Tabela 8: Sumário Estatístico referente ao Fumo com valores destacados em verde indicam que a transformação aplicada foi suficiente para normalização dos dados.....	47
Tabela 9: Sumário Estatístico referente ao anticoncepcional com valores destacados em verde indicam que a transformação aplicada foi suficiente para normalização dos dados .....	48
Tabela 10: Resultados p-value Teste Whitney U, com destaque em vermelho para os valores <0,05 que indicam uma diferença significativa entre grupos Fumantes/Não fumantes.....	56
Tabela 11: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor).....	63
Tabela 12: Cargas relacionadas a cada um dos fatores após a rotação varimax. Destaque em vermelho para as variáveis relacionadas em cada fator.....	64
Tabela 13: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor).....	77
Tabela 14: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor).....	79

## Abreviaturas e siglas

CHO Contraceptivo Hormonal Oral

COC Contraceptivo Oral Combinado

CRM Certified Reference Material DRC

Dynamic Reaction Cell

FAPERJ Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

FDA Food and Drug Administration

IARC International Agency for Research on Cancer

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP–MS Inductively Coupled plasma mass Spectrometry INMETRO

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia LABSPECTRO

Laboratório de Espectrometria

LD Limite de Detecção LH-

Hormônio luteinizante

LQ Limite de Quantificação

OMS Organização Mundial da Saúde

ONU Organização das Nações Unidas PC

Principal Component

PCA Principal Component Analysis

PenSe Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar PNS

Pesquisa Nacional de Saúde

STEM Science, Technology, Engineering, and Mathematics

Unesco Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura

## INTRODUÇÃO

A educação em ciência, tecnologia, engenharia e matemática (STEM, pelas siglas no inglês) tem um papel essencial a desempenhar sobre educação e igualdade de gênero, visto que, mesmo com avanços significativos, a desigualdade de gênero em detrimento das meninas são visíveis na educação infantil, e se tornam ainda mais visíveis nos níveis de ensino subsequentes (UNESCO, 2018).

Segundo um estudo realizado pela Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (UNESCO) (2018), foi observado que os estudantes do sexo masculino predominam nas áreas de engenharia, produção industrial, construção e tecnologia da informação, ao passo que as estudantes do sexo feminino são mais numerosas nos setores ligados à educação, artes, saúde, bem-estar, humanidades, ciências sociais, jornalismo, negócios e direito. O presente trabalho teve como ponto de partida o Programa Meninas e Mulheres nas Ciências Exatas e da Terra, Engenharias e Computação, promovido pela Fundação Carlos Chagas de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), que possui como objetivo incentivar o interesse de meninas e mulheres da Educação Básica e do Ensino Superior para a pesquisa científica e tecnológica, com projetos desenvolvidos em escolas públicas do estado do Rio de Janeiro. Com isso, selecionamos dois temas que afetam diretamente os jovens, que poderia envolver toda a comunidade escolar e ainda promover debates e conscientização: cigarro e anticoncepcionais.

O início do tabagismo para os jovens acontece de forma precoce, segundo dados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE), cerca de 49,3% dos jovens experimentam fumar antes dos 12 anos de idade. Com isso, aumenta a probabilidade de jovens usuários de tabaco continuarem fumando na fase adulta (IBGE, 2021).

O cigarro é um produto amplamente consumido, mas que apresenta uma série de riscos para a saúde devido à sua toxicidade. A fumaça do cigarro contém diversas substâncias tóxicas, incluindo compostos químicos cancerígenos, metais tóxicos e produtos de combustão incompleta (BERNHARD et al., 2005).

Dos muitos constituintes nocivos do tabaco, os metais podem constituir um risco potencialmente significativo à saúde. A inalação dessas substâncias tóxicas pode causar danos ao sistema respiratório e cardiovascular, aumentando o risco de doenças, como câncer de pulmão, doenças cardíacas, enfisema e

bronquite crônica. Com base em informações da Organização Mundial da Saúde (OMS), o tabaco exerce um impacto significativamente letal. Anualmente, mais de 8 milhões de indivíduos perdem suas vidas devido ao tabagismo, dos quais 7 milhões têm uma ligação direta com o uso do tabaco. Além disso, cerca de 1,2 milhão de óbitos resultam da exposição involuntária ao fumo passivo por parte de não fumantes (INCA, 2018).

Por sua vez, os contraceptivos hormonais são métodos que representam uma categoria essencial dentro das opções de planejamento familiar e controle de natalidade disponíveis atualmente.

De acordo com um estudo realizado em 2015 pela Organização das Nações Unidas (ONU) cerca de 79% das brasileiras utilizam algum método contraceptivo hormonal, sendo a pílula anticoncepcional a primeira escolha da maioria das mulheres em relação aos métodos contraceptivos reversíveis (INCA, 2018).

Estes contraceptivos são baseados na administração de hormônios, geralmente estrogênio e/ou progesterona, que interferem nos processos reprodutivos naturais do corpo, visando a prevenção da gravidez. Os métodos contraceptivos hormonais oferecem uma variedade de opções, incluindo pílulas orais, etiquetas adesivas, injeções, implantes e dispositivos intrauterinos (DIUs). Ao interferirem nos ciclos hormonais e na ovulação, esses contraceptivos proporcionam uma abordagem eficaz e de ampla escolha para mulheres que buscam controlar a concepção.

Entretanto, observa-se um interesse crescente sobre as possíveis alterações em vários processos metabólicos e perfis de oligoelementos associados ao uso de contraceptivos hormonais. Alguns desses micronutrientes são essenciais para o bom funcionamento de muitas enzimas, proteínas sinalizadoras e fatores de transcrição, podendo até possuir propriedades antioxidantes (DEEMING & WEBER, 1978).

Em alguns estudos, (PREMA, RAMALAKSHMI, BABU, 1980; S VIR E LOVE, 1981; PETROLI, 2021) a ingestão de contraceptivos hormonais demonstrou diminuição significativa dos níveis séricos de zinco, em contrapartida observou-se o aumento dos níveis séricos de cobre. Outros elementos, como selênio, fósforo e magnésio, tiveram resultados divergentes entre os autores (ARNAUD et al., 2007; AKINLOYE et al., 2011). Entretanto, trabalhos sobre os níveis capilares em mulheres que fazem a ingestão de anticoncepcionais hormonais é limitado (DEEMING & WEBER (1978); RAHIL- KHAZEN, BOLANN & ULVIK, 2000).

O organismo humano pode ser conceituado como um sistema complexo que demanda uma diversidade de elementos. A presença adequada de elementos químicos no organismo é de vital importância para a manutenção das funções biológicas e a promoção da saúde. Entre esses elementos, existem os essenciais, que desempenham papéis cruciais no funcionamento normal do corpo humano, e os tóxicos, cuja presença em concentrações inadequadas pode ter efeitos adversos à saúde. Um equilíbrio mineral adequado é fundamental para assegurar o correto funcionamento dos processos metabólicos, a integridade dos tecidos e órgãos, e a prevenção de doenças e disfunções (POZEBON et al., 1999).

A análise dos níveis de elementos químicos em fluidos corporais, como urina, unhas, tecidos e cabelos, permite identificar desequilíbrios e deficiências, contribuindo para orientar intervenções terapêuticas e medidas preventivas. O acompanhamento periódico desses parâmetros, por meio de métodos como o mineralograma capilar, oferece *insights* valiosos sobre a condição nutricional e a saúde do indivíduo. Portanto, a compreensão da importância dos elementos químicos para o organismo é essencial para a promoção do bem-estar e da qualidade de vida (CARNEIRO, 2002).

Por conseguinte, é importante investigar possíveis alterações nos níveis destes elementos no cabelo humano entre os fumantes e os usuários de anticoncepcionais hormonais, assim como as possíveis correlações entre esses oligoelementos e os riscos associados à saúde.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Fisiologia e Morfologia Da Fibra Capilar

O cabelo é composto majoritariamente por queratina, cerca de 80%, enquanto os outros 20% correspondem a agentes não queratinosos. A queratina é composta por aminoácidos, que possuem em sua composição carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, sendo o mais importante a cistina (POPESCU, HOCKER, 2007).

A haste capilar cresce através do folículo piloso, cavidade que se estende da derme para a epiderme até o couro cabeludo, cercado por um sistema capilar que fornece ao cabelo material metabólico necessário para seu crescimento (Figura 1) (PRAGST E BALIKOVA, 2006)

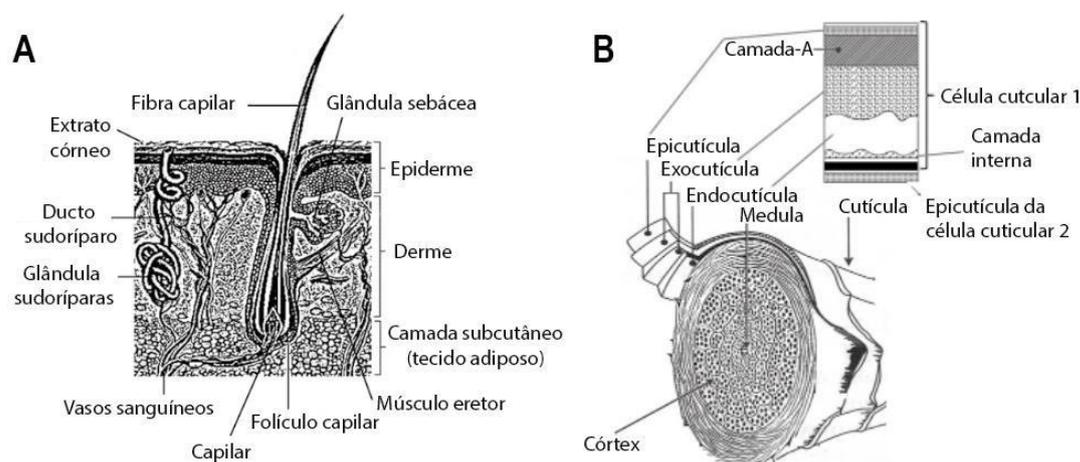


Figura 1: A – Representação esquemática da estrutura da fibra capilar humana e sua inserção no couro cabeludo. B – Seção transversal esquemática de uma fibra capilar mostrando as camadas de células da medula, do córtex e da cutícula.

Fonte: Adaptada de MIRANDA-VILELA, BOTELHO e MUEHLMANN (2014).

A fibra capilar pode ser dividida em três partes que apresentam funções diferentes: cutícula, córtex e a medula. A cutícula é a parte mais externa da haste capilar, sendo responsável pelas propriedades superficiais do cabelo, como a elasticidade, além de regular a entrada e a saída de água (HALAL, 2014). É composta por subcamadas: endocutícula, epicutícula e a exocutícula (Figura 1).

Endocutícula é composta por um material não queratinoso, portanto, essa camada é rica em proteína, enzimas, vitaminas entre outros. Tal composição concede a essa camada um caráter hidrofílico. A exocutícula apresenta maior

quantidade de queratina em sua composição, portanto apresenta maior caráter hidrofóbico. Assim como, epicutícula que apresenta em sua composição o ácido 18-metil-eicosanóico atrelado a uma membrana proteolipídica que possui alto caráter hidrofóbico.

São essas diferenças de composição que explicam os cosméticos que são absorvidos e expelidos pela cutícula (PINHEIRO et al. 2013). O córtex é considerado o principal componente da haste capilar, por ser responsável pelas propriedades mecânicas assim como a forma e cor do cabelo. É formado por um conjunto de estruturas fibrilares, denominado matriz, compostas basicamente por queratina, nessa estrutura as proteínas se organizam fornecendo características para os fios. As hastes de queratina que fornecem a característica da coloração capilar provêm das pontes de cistina que são compostas por átomos de enxofre, que formam as pontes de dissulfeto (MIRANDA-VILELA, BOTELHO e MUEHLMANN (2014).

Por último, a medula, está localizada no interior da haste capilar e pode estar ausente ou ser fragmentada ou contínua quando presente na fibra capilar. Cada fio presente no cabelo passa por um ciclo que apresenta três fases: fase anágena (crescimento), fase catágena (involução) e a fase telógena (repouso).

De acordo com De Lima et al. (2007), na primeira fase ocorre o crescimento do fio, é a fase ativa do folículo quando há uma ativa produção pelas células troncos. Na segunda fase, catágena, ocorre a regressão do folículo fase de transição entre o seu crescimento ativo e a fase de repouso, a raiz é queratinizada e se forma com uma única estrutura que se separa do bulbo e na última fase, ocorre o repouso dos pelos dando início ao processo de crescimento de um novo fio de cabelo onde é expulso o fio que estava em repouso.

A contaminação do cabelo pode ocorrer de forma endógena ou exógena. Na forma exógena acontece por meio de arraste de substâncias externas como fumaça, suor, cosméticos entre outros e de forma endógena pela alimentação. Ao determinar elementos químicos no cabelo tem-se o indício que houve absorção ou exposição do indivíduo a este elemento (POZEBON et al., 1999).

## 1.2. Mineralograma Capilar

O mineralograma capilar consiste na análise e quantificação de elementos químicos que estão presentes no organismo humano. Os primeiros registros dessa prática foram descritos por Hoppe em 1858, ao determinar traços de arsênio em cabelos de cadáveres exumados há 11 anos. Desde então, diversos pesquisadores utilizaram a prática para descobrir mortes por intoxicação de

metais, ou até mesmo na investigação da morte do imperador Napoleão Bonaparte, em que foram encontrados níveis elevados de arsênio, antimônio e mercúrio, sugerindo uma exposição significativa a esses elementos (POZEBON et al., 1999).

Atualmente, dados obtidos na análise do cabelo são úteis para monitorar a exposição ocupacional a elementos tóxicos e/ou essenciais, assim como na área criminalista, toxicológica e nutricional. O cabelo é amplamente utilizado por ser de fácil transporte e armazenamento e por ser eficiente em fornecer um histórico de diversos elementos presentes no organismo, visto que, à medida que o cabelo cresce, se aproxima da superfície da pele, sofrendo o processo de queratinização e os oligoelementos, acumulados durante a sua formação, são selados na estrutura proteica do cabelo, caracterizando a forma endógena de absorção dos elementos (CHATTE E KATZ, 1988).

Entretanto, além do meio endógeno, os elementos podem ser absorvidos de forma exógena através da poluição, tratamentos estéticos, cosméticos, poeira ou até mesmo pela água, o que torna mais difícil a determinação e a análise dos elementos presentes no organismo (POZEBON et al., 1999). Contudo, a análise do cabelo pode ser uma forma de avaliar a exposição atual e, também, reconstruir episódios passados relevantes para a saúde e nutrição.

Pensando nas diversas fontes de absorção dos elementos e nas inúmeras variáveis que possam interferir na análise correta dos dados, diversos trabalhos buscam estudar os efeitos que outros fatores possam influenciar na determinação dos elementos, no qual estudos preliminares verificaram a influência do gênero, idade e raça na composição capilar (ZAKRGYNSKA-FONTAINE et al., 1998; SENOFONTE et al., 2000; CHOJNACKA et al., 2006; PEREGRINO et al., 2021), assim como os avanços do uso da técnica em prol da sociedade, como a correlação de doenças com os elementos, toxicidade e poluição (GERHARDSSON et al., 1995; DONGARRA et al., 2011; HEITLAND et al., 2017; NORDBERG et al., 2015; DROBYSHEV et al., 2017).

Recentes estudos, ao redor do mundo, buscam estabelecer intervalos de referência visando a confiabilidade dos resultados, possibilitando assim aos médicos e pesquisadores a melhor utilização da técnica para monitoramento biológico (SENOFONTE et al., 2000; CARNEIRO et al., 2002; LLORENTE BALLESTEROS et al., 2017).

### 1.3. Determinação Multielementar Por Espectrometria De Massa Com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

A Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP- MS) é uma técnica analítica avançada que surgiu nos anos de 1980 e desde então apresenta crescente utilização devido à sua capacidade de efetuar determinações rápidas de multielementos, em concentrações a nível de ultra traço, com uma alta sensibilidade, proporcionando menores limites de detecção para a maior parte dos elementos, uma alta exatidão, precisão e eficiência com uma quantidade menor de amostra (POTTS, 1987; GRAY; DATE, 1983; THOMAS, 2004).

O princípio fundamental utilizado no ICP-MS é usar uma fonte de íons que é constituída por um plasma de alta temperatura, desencadeando a produção de íons gasosos com carga positiva. Esses íons são subsequentemente separados com base em suas relações massa/carga por um dispositivo de separação de massas e, em seguida, passam por processo de quantificação (THOMAS, 2004). Os principais componentes do espectrômetro de massas são: sistema de introdução de amostras, a tocha, interface, separador de massas e detector (Figura 2).

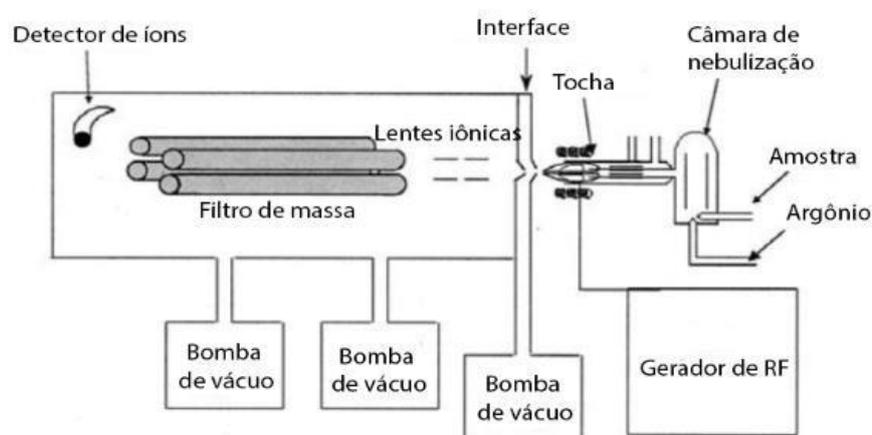


Figura 2: Componentes básicos de um espectrômetro de ICP-MS. Fonte: THOMAS, 2004.

As amostras podem ser introduzidas na forma líquida, sólida ou de vapor, portanto os equipamentos podem variar de acordo com o tipo de amostras selecionada. Em geral, a introdução de amostras líquidas é a forma mais utilizada por ser homogênea e de fácil manipulação.

A função primordial do sistema de introdução de amostras consiste em criar um aerossol fino a partir da solução da amostra. Para atingir esse propósito, é empregado um nebulizador acoplado a uma câmara de nebulização, a qual posteriormente seleciona as gotículas geradas. A amostra é regularmente conduzida a uma taxa de cerca de 1 mL/min por meio de uma bomba peristáltica em direção ao nebulizador, assegurando um fluxo líquido constante, independentemente da viscosidade. Ao ingressar no nebulizador, a amostra é fragmentada em um aerossol fino pela ação pneumática de um fluxo de gás, que desagrega o líquido em gotículas, ao entrar na câmara de nebulização as gotículas finas, em torno de 1-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, são transportadas para o tubo injetor de amostra na tocha (THOMAS, 2004).

O plasma é um gás parcialmente ionizado a alta temperatura, responsável pela geração dos íons. É produzido pela tocha de plasma que é constituída por três tubos concêntricos, que são normalmente feitos de quartzo. O gás mais utilizado nessa etapa é o argônio.

Inicialmente, um fluxo de gás argônio é direcionado entre o tubo exterior e intermediário da tocha. A tocha está conectada a uma bobina de indução, refrigerada por água ou argônio e é alimentada por um gerador de radiofrequência. Uma corrente alternada é aplicada à bobina com uma taxa correspondente à frequência do gerador, gerando um campo eletromagnético na parte superior da tocha. Enquanto o gás argônio circula pela tocha, uma faísca de alta tensão é aplicada ao gás, resultando na remoção de elétrons dos átomos de argônio. Esses elétrons liberados colidem com outros átomos de argônio, provocando a remoção de mais elétrons. Essa ionização do argônio, iniciada por colisões, se propaga em uma reação em cadeia, levando à decomposição do gás em átomos de argônio, íons de argônio e elétrons. (GRAY; DATE, 1983; THOMAS, 2004).

O papel da região de interface é transportar os íons de forma eficiente, consistente e com integridade elétrica do plasma. A sua principal função é reduzir a pressão e a densidade do feixe, minimizando a perda de íons.

A interface consiste em dois cones metálicos com orifícios muito pequenos (aproximadamente 1 mm), que são mantidos a um vácuo com uma bomba mecânica de desbaste. Depois que os íons são gerados no plasma, passam para o primeiro cone, cone amostrador. A partir daí, percorrem uma curta distância até ao cone de *skimmer*, que é geralmente menor e mais pontiagudo do que o cone amostrador.

Ambos os cones são geralmente feitos de níquel ou platina, que são mais tolerantes a líquidos corrosivos. Para reduzir os efeitos do plasma a alta

temperatura sobre os cones, a caixa da interface é arrefecida por água e feita de um material que dissipa facilmente o calor, como cobre ou o alumínio. Os íons emergem do cone *skimmer*, sendo dirigidos através da óptica de íons e, finalmente, guiados para o dispositivo de separação de massa (THOMAS, 2004; AGUIAR, 2017).

O sistema de lentes iônicas está localizado entre o cone do *skimmer* e o dispositivo de separação de massa. Ele é composto por uma ou mais lentes que são controladas eletricamente e mantidas em um vácuo de aproximadamente 1-2 torr. Sua função principal é extrair íons do ambiente do plasma, operando em pressão atmosférica, por meio dos cones de interface e direcioná-los para o analisador de massa, que opera em vácuo elevado (AGUIAR, 2017).

Um papel secundário, porém, igualmente significativo, do sistema de óptica iônica é impedir a passagem de partículas, espécies neutras e fótons em direção ao analisador de massa e ao detector. Essas espécies indesejadas podem causar instabilidade nos sinais e contribuir para os níveis de ruído de fundo, que, por sua vez, afetam o desempenho geral do sistema (GRAY; DATE, 1983; THOMAS, 2004).

O analisador de massa está posicionado entre a óptica iônica e o detector, sendo mantido a um vácuo de aproximadamente 10<sup>-6</sup> Torr. Os íons ao saírem da lente iônica estão prontos para serem separados de acordo com a sua razão massa/carga pelo analisador de massa. O analisador de massas mais usual é o quadrupolo, desenvolvido no início dos anos 1980 (POTTS, 1987).

Um quadrupolo é composto por quatro hastes metálicas cilíndricas ou hiperbólicas, todas possuindo igual comprimento e diâmetro. Essas hastes, frequentemente fabricadas a partir de materiais como aço inoxidável ou molibdênio, são dispostas em pares opostos. O funcionamento do quadrupolo é baseado na aplicação de um campo de corrente contínua e de uma corrente alternada de radiofrequência variável no tempo nas hastes opostas do dispositivo (POTTS, 1987; THOMAS, 2004). Após a separação dos íons, o *software* do equipamento registra um sinal expresso em contagens por segundo (cps) para cada elemento. A intensidade desse sinal produzido e guarda uma relação proporcional com a concentração do elemento.

Apesar das inúmeras vantagens, a técnica de ICP-MS pode ser suscetível a interferências, que geralmente são agrupadas em duas categorias principais: interferências espectrais e não-espectrais. As interferências espectrais são frequentemente consideradas as mais significativas no ICP-MS. Entre elas, as interferências espectrais poliatômicas ou moleculares são as mais comuns e

resultam da combinação de dois ou mais íons atômicos. Essas interferências são causadas por diversos fatores, muitas vezes associados ao gás utilizado no plasma/nebulizador, aos componentes da matriz presentes no solvente/amostra, a outros elementos na amostra ou à presença de oxigênio/nitrogênio do ar circundante. Interferências isobáricas são designadas por sobreposições isobáricas, produzidas principalmente por diferentes isótopos de outros elementos na amostra, que criam interferências espectrais com a mesma massa que o analito (THOMAS, 2004).

No contexto do ICP-MS, a classe de interferências não espectrais envolve a inibição ou aumento do sinal causada pela matriz em si. Essencialmente, há três tipos principais de interferências originadas pela matriz: interferência de transporte, interferências de ionização e discriminação de massa. A interferência de transporte se traduz em uma supressão física do sinal da substância a ser analisada, resultante da presença de sólidos dissolvidos ou da concentração de ácido na amostra. Isso acontece devido ao efeito da amostra na formação das gotículas no nebulizador ou na determinação do tamanho das gotículas na câmara de nebulização (THOMAS, 2004; AGUIAR, 2017).

As interferências de ionização provocam uma supressão variável do sinal, dependendo das concentrações dos componentes da matriz. Isso se manifesta quando diferentes concentrações de ácidos são introduzidas em um plasma frio. As condições de ionização no plasma são tão sensíveis que concentrações mais elevadas de ácido resultam em uma supressão significativa do sinal do analito. Por fim, as interferências na discriminação de massa estão associadas ao efeito espaço-carga nas lentes iônicas (AGUIAR, 2017).

#### 1.4. Consumo de cigarro no Brasil

Para entender o consumo de cigarro no Brasil, nos dias atuais, faz-se necessário compreender como o tabaco chegou ao Brasil e de que maneira se tornou tão popular entre seus consumidores. Há divergência entre os autores sobre a sua origem, alguns afirmam que o tabaco é originário do continente americano, outras afirmam que teve origem na Ásia, entretanto até os dias atuais não houve consenso definitivo entre os autores (HILSINGER, 2016).

De acordo com Hilsinger (2016) as teorias mais plausíveis indicam que o tabaco teve sua origem no continente americano, onde foi cultivado e utilizado por povos indígenas para práticas religiosas, no qual acreditavam que era algo de grande valor cerimonial, que a inalação da fumaça os aproximava dos Deuses.

Os europeus tiveram seu primeiro contato com a planta durante a primeira viagem de Cristóvão Colombo ao continente americano. Após sua chegada à Europa, o tabaco foi considerado como portador de potenciais propriedades terapêuticas, sendo utilizado para tratar diversas condições. Jean Nicot, embaixador francês em Portugal, destacou as qualidades medicinais do tabaco, que chegou a ser chamado de “erva sagrada”. O nome da planta, *Nicotiana*, e seu princípio ativo, a nicotina, foram em homenagem a Jean Nicot.

Com o início da colonização europeia, o tabaco rapidamente se espalhou por todos os continentes. Chegou a ser utilizado como moeda nas transações de escravos, contribuindo para sua disseminação na África.

No Brasil, as primeiras plantações comerciais de tabaco surgiram ao longo da faixa litorânea entre Salvador e Recife. A partir do século XVII, a produção foi ampliada devido à invasão holandesa na região, transformando-se em um importante ativo econômico para a Companhia das Índias Ocidentais. A colonização alemã foi responsável pelo início do cultivo de fumos claros na região Sul do Brasil, onde hoje apresenta o maior polo industrial de tabaco do país (HILSINGER, 2016)

O formato de cigarro, tal como o conhecemos, teve origem no século XIX. Sua produção foi impulsionada nos Estados Unidos em 1880 devido aos custos e ao processo de produção. No entanto, o consumo de cigarros foi consolidado após a Segunda Guerra Mundial (CARVALHO, 2001) impulsionado pelas mídias, nas produções cinematográficas, principalmente as de Hollywood (RODRIGUEZ, 2005).

Somente a partir do final do século XIX que foram encontradas as primeiras evidências científicas sobre os malefícios do cigarro no corpo humano, quando John Hill relacionou os primeiros casos de câncer ao uso de rapé nasal. Devido a pesquisas na área da saúde e as descobertas dos malefícios do uso dos cigarros, começaram a surgir políticas públicas voltadas para a prevenção e combate ao fumo, surgimento de organizações antitabagistas e movimentos contra o fumo em locais públicos e contra comerciais incentivando o uso de cigarros (CARVALHO, 2001).

No final da década de 90, essa preocupação se tornou mundial, a fim de combater as atitudes insidiosas e antiéticas da indústria do tabaco, um tratado mundial de saúde pública – Convenção-Quadro para o Controle do Tabaco – foi instituído pela Organização Mundial da Saúde em maio de 2003 (WHO, 2009).

Pesquisas recentes realizadas pelo IBGE apontam que o tabagismo vem se reduzindo significativamente ao longo das décadas, em 2006 o percentual total

de fumantes com 18 anos ou mais de idade residente nas capitais e no Distrito Federal era de 15,7%, passando para 9,8% em 2019 (IBGE, 2021).

A prevalência de usuários atuais de produtos derivados de tabaco, fumado ou não fumado, de uso diário ou ocasional, foi de 12,8%. Os homens apresentaram percentual mais elevado (16,2%) ao ser comparado com as mulheres (9,8%). Pessoas com faixa etária entre 40 e 59 anos apresentaram o maior percentual (14,9%). Os resultados da pesquisa indicam uma instrução entretanto mais altos de escolaridade e menor exposição ao tabagismo. Especificamente, o estudo constatou que o percentual de pessoas expostas ao tabagismo era significativamente menor entre indivíduos com educação superior completa, com um índice de 5,1%. Em contraste, entre aqueles sem instrução ou com ensino fundamental incompleto, o percentual de exposição ao tabagismo foi mais elevado, alcançando 11,1% (IBGE, 2021).

Essa tendência também se repetiu em relação ao rendimento domiciliar per capita, sugerindo que indivíduos com maior renda apresentavam menor probabilidade de estarem expostos ao tabagismo em comparação com aqueles com menor renda (IBGE, 2020).

Na pesquisa também foram avaliados os fumantes passivos, o percentual de pessoas que estão expostas à fumaça de produtos de tabaco foi de 9,2%. As mulheres não fumantes estavam mais expostas (10,2%) que os homens (7,9%). As pessoas de 18 a 24 anos de idade também estavam mais expostas, neste ambiente (15,7%), que as demais faixas etárias (IBGE, 2020).

De acordo com o Ministério da Saúde (2021), com base em informações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (2019), o tabaco tem um impacto mortal considerável. A cada ano, mais de 8 milhões de pessoas perdem suas vidas devido ao tabagismo, sendo que 7 milhões desses óbitos estão diretamente ligados ao uso do tabaco. Além disso, aproximadamente 1,2 milhão de mortes são resultado da exposição ao fumo passivo por parte de não fumantes.

É alarmante perceber que quase 80% dos cerca de 1,1 bilhão de fumantes em todo o mundo residem em nações de renda baixa e média. Isso ressalta como o desafio do tabagismo afeta principalmente regiões onde os recursos de saúde e conscientização podem ser mais limitados. Esses números destacam a importância contínua dos esforços para combater o tabagismo, promover a conscientização sobre seus riscos e implementar políticas de saúde pública que ajudem a reduzir o impacto devastador do tabaco na saúde global.

### 1.5. Composição Química do Cigarro

Os cigarros são compostos por uma mistura complexa de substâncias que incluem tabaco, papel, filtro e aditivos. O tabaco é uma planta cujo nome científico é *Nicotiana tabacum*, da família das Solanáceas da qual é extraída uma substância alcaloide básica, líquida e de cor amarela, nicotina, que é o principal constituinte do cigarro (CHIBA E MASIRONI, 1992).

Suas folhas são formadas por uma complexa mistura de hidrocarbonetos, constituintes inorgânicos, ésteres, fenóis, ácidos graxos e a quantidade de nicotina depende de vários fatores como o processo de cura, o tipo de folha, o meio de cultivo (BROWNE, 1990). O papel de cigarros, além de envolver e funcionar como uma barreira física para o tabaco, possui forte influência sobre o número de tragadas e, conseqüentemente, nos teores consumidos na fumaça do cigarro.

O filtro presente nos cigarros é frequentemente feito de acetato de celulose com o objetivo de melhorar a aparência do cigarro e evitar o contato da boca do fumante com as partículas do fumo. Funciona removendo os constituintes da fase particulada da fase, como o Alcatrão e a Nicotina (BROWNE, 1990).

Os aditivos são substâncias adicionadas ao tabaco durante o processo de fabricação para fins diversos, como melhorar o sabor, aroma, aparência e aceitação do cigarro. Entre as substâncias comumente adicionadas temos açúcares, aromatizantes, corantes e outras substâncias que podem alterar a experiência de fumar e tornar o cigarro mais atraente (PAUMGARTTEN, 2017).

A fumaça do cigarro é uma mistura complexa, heterogênea composta por gases, vapores e partículas líquidas, que são formadas durante o processo de queima do blend e aspiração da fumaça pelo fumante. Durante a queima, a fumaça possui mais de 5.000 substâncias químicas, dentre elas quase todas as classes de compostos químicos orgânicos, juntamente com vestígios de metais, segundo Borgerding e Klus (2008).

A fumaça pode ser dividida em duas: Fumaça Principal, que é a fumaça que sai da boca de um cigarro durante a tragada; A Fumaça Secundária é principalmente a fumaça que emerge no ambiente a partir da ponta acesa do cigarro entre as baforadas. A fumaça secundária e a fumaça principal exalada difundem-se na atmosfera, diluem-se no ar ambiente e, após várias mudanças físicas e químicas, incluindo reações com substâncias químicas não geradas pelo tabaco, tornam-se fumaça ambiental do tabaco (Figura 3) (BORGERDING E KLUS, 2008).

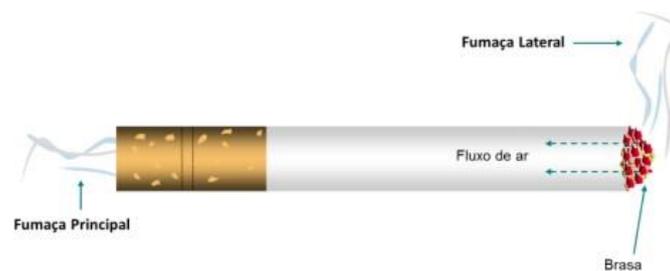


Figura 3: Representação da fumaça principal e lateral do cigarro.  
 FONTE: ALVES, 2016.

É pertinente afirmar que numerosas substâncias encontradas na fumaça primária do cigarro também estão presentes na fumaça secundária, que se manifesta no ambiente durante o ato de fumar. No entanto, as proporções relativas dessas substâncias por cigarro e as relações entre a fumaça principal e a secundária podem exibir notáveis variações. Essas discrepâncias são influenciadas pela configuração intrínseca do cigarro e pelas características distintas de cada componente (ZHA E MOLDOVEANU, 2004; BORGERDING E KLUS, 2008).

A planta de tabaco assimila e retém oligoelementos principalmente provenientes do solo, bem como de fertilizantes e pesticidas aplicados. Dentre esses elementos, alguns possuem propriedades tóxicas, o que os torna prejudiciais à saúde humana quando ingeridos ou inalados, mesmo em concentrações extremamente reduzidas (BERNHARD et al., 2005).

O alumínio é abundantemente presente no tabaco. O alumínio tem a capacidade de se acumular em diversos órgãos, incluindo rins, cérebro, pulmões, fígado e tireoide. Pode afetar a absorção de outros elementos, como cálcio e flúor (GOYER E CLARKSON, 1996)

O chumbo e o cádmio também estão presentes na fumaça do tabaco, desempenhando um papel significativo nos riscos de câncer. O tabagismo não representa a principal fonte de absorção de Pb entre os indivíduos, porém, sua contribuição para o acúmulo total de Pb no organismo humano tem adquirido uma importância crescente. Até metade do chumbo inorgânico inalado pode ser absorvido pelos pulmões. O chumbo presente no sangue se associa aos glóbulos vermelhos e sua eliminação ocorre de maneira vagarosa, principalmente por meio da urina. O chumbo é armazenado no esqueleto, sendo liberado gradualmente desse compartimento do organismo ao longo do tempo (JÄRUP, 2003).

Trata-se de um metal de alta toxicidade, capaz de induzir prejuízos ao cérebro e à densidade mineral dos ossos. Aumentos nos níveis de chumbo têm sido correlacionados com diminuições no quociente de inteligência e potenciais perturbações comportamentais, abrangendo efeitos sobre o crescimento fetal e o desenvolvimento cerebral inadequado (BERNHARD et al., 2005).

O cádmio tem sido objeto de estudos detalhados quanto à sua presença no fumo do cigarro, com o tabagismo destacando-se como a principal via pela qual os seres humanos entram em contato com esse metal. Estudos indicam que o cádmio é consistentemente transferido para a fase da fumaça, impulsionado pela eficácia da planta do tabaco em acumular cádmio do solo e transportá-lo para as folhas (WAGNER, 1993). Uma parcela substancial do cádmio contido no cigarro é transferida para a fumaça. A concentração de cádmio na cinza mantém-se relativamente constante, o que resulta em uma significativa proporção (aproximadamente 70%) sendo direcionada para a fumaça (GOYER E CLARKSON, 1996; JÄRUP, 2003). No ato de fumar um cigarro, o cádmio passa por uma conversão para óxido de cádmio, sendo posteriormente inalado. Uma porção de cerca de 10% do cádmio é depositada nos pulmões, enquanto de 20% a 50% é transportada pela corrente sanguínea. O cádmio não somente se acumula no fluxo sanguíneo, mas também nos rins, principalmente na região cortical, onde se liga a metalotioneínas. Essa acumulação nos rins pode resultar em disfunção tubular e, em casos mais severos, levar à insuficiência renal terminal (BERNHARD et al., 2005). Além desses efeitos, o cádmio também foi associado ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer, incluindo mama, próstata, cólon, reto, rim e pulmão. Além disso, suspeita-se que o cádmio possa contribuir para a formação de cataratas, enfisema, hipertensão e doenças cardiovasculares (JÄRUP, 2003).

O cromo pode manifestar-se em diferentes estados de oxidação, porém, apenas as formas trivalentes, Cr (III), e hexavalente, Cr (VI), são comuns na forma natural. Enquanto a forma trivalente é essencial para processos biológicos, a forma hexavalente é classificada como um carcinógeno do Grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (STERN, 2010). Os compostos contendo cromo (VI) são reconhecidos por provocar danos no DNA, como quebras de cadeias simples, e possuem a capacidade de instigar transformações nas células. Adicionalmente, o cromo (VI) pode se acumular nos tecidos, notadamente nos pulmões, desencadeando efeitos não cancerígenos no sistema respiratório, como úlceras, rinite, faringite crônica, redução da capacidade pulmonar e desenvolvimento de enfisema (BERNHARD et al., 2015).

O manganês é um elemento essencial para a nutrição, está envolvido na síntese e ativação de enzimas, no metabolismo de glicose e lipídios, aceleração na síntese de proteínas, vitamina C e vitamina B, regulação do sistema endócrino e na função imunológica (LI E YANG, 2018). A exposição por inalação ao dióxido de manganês afeta o sistema nervoso central, podendo causar síndromes psiquiátricas, incluindo alucinações e labilidade emocional (GOYER E CLARKSON, 1996).

A IARC categoriza os compostos de níquel e arsênio como substâncias carcinogênicas do Grupo 1, sendo que, para o níquel, somente a exposição através da inalação está correlacionada ao desenvolvimento de câncer (INCA, 2021). Os tumores resultantes estão localizados no trato respiratório. O arsênio é um elemento que existe em diversos estados de valência na natureza. Estudos demonstraram que o arsênio está presente no condensado do fumo na forma de As (III). O risco de câncer associado ao arsênio provém principalmente do As (III) em compostos inorgânicos. No tabaco, cerca de 80% do arsênio é inorgânico e 20% é orgânico. Portanto, o arsênio deve ser reconhecido como um dos carcinogênicos advindo do cigarro (TALHOUT, 2015).

#### 1.6. Métodos Contraceptivos Hormonais

O desenvolvimento de medicamentos contraceptivos resultou da convergência de diferentes processos históricos. Isso incluiu os debates sobre controle da população e regulação da fecundidade pelo movimento de controle de natalidade, os avanços nas ciências biomédicas através do estudo de hormônios a partir dos anos 1920, a busca pela melhoria da humanidade por meio da reprodução impulsionada pelo movimento eugenista, a promoção do uso de ciências para métodos contraceptivos aprimorados pela ideologia neomalthusiano, e o contexto pós-guerra a partir dos anos 1950, que viu o crescimento da indústria farmacêutica, o fortalecimento do capitalismo norte-americano e preocupações com o crescimento populacional nos países menos desenvolvidos (WATKINS, 1998).

Após testes em mulheres de Porto Rico e do Haiti, a pílula hormonal foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) em 1957 para tratar distúrbios ginecológicos. Em 1960, a venda do ENOVID, a primeira pílula combinada de estrógeno e progesterona sintética, foi aprovada nos EUA como contraceptivo. Embora alguns efeitos colaterais fossem conhecidos, o produto foi considerado uma opção para controlar a população de forma mais ordenada (CHRISTIN- MAITRE, 2013).

No Brasil, os anticoncepcionais orais foram introduzidos por volta de 1962, seguindo um modelo de difusão que envolveu a prescrição médica na assistência privada, venda livre em farmácias e instituições filantrópicas ligadas ao planejamento familiar. Essa rede de distribuição permitiu uma rápida disseminação do medicamento entre as mulheres brasileiras (FONSECA SOBRINHO, 1993; PEDRO, 2003; SANTANA E WAISSE, 2016).

Junto com as discussões sobre os benefícios das pílulas anticoncepcionais, surgiram preocupações morais, religiosas e políticas relacionadas a esses novos produtos. A Igreja Católica expressou temores de que os anticoncepcionais orais pudessem promover a promiscuidade e o sexo antes do casamento. Grupos nacionalistas, incluindo militares e médicos, também viram as pílulas como uma ameaça à soberania nacional, considerando-as uma violação dos interesses da comunidade e um potencial ameaça territorial (PEDRO, 2003). No final da década de 70 e início da década de 80, o desenrolar dessas discussões provocaram um arrefecimento dos ânimos e proporcionaram a consolidação dos anticoncepcionais como um dos principais métodos contraceptivos do país, contribuindo para o rápido crescimento de seu mercado (FONSECA SOBRINHO, 1993; PEDRO, 2003).

A Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), realizada em 2019, revela que, no estudo entre as mulheres sexualmente ativas, com idade entre 15 e 49 anos e que ainda menstruam, os métodos contraceptivos utilizados variaram: 22,9% optaram pela esterilização (17,3% laqueadura e 5,6% vasectomia), 4,4% usaram o DIU, 9,8% escolheram a injeção, 40,6% optaram pela pílula anticoncepcional, 20,4% preferiram a camisinha masculina, 0,6% optaram por outros métodos modernos (como camisinha feminina, anel ou adesivo) e 1,2% utilizaram métodos tradicionais (tabelinha, coito interrompido) (IBGE, 2021b).

### 1.7. Tipos de Anticoncepcionais Hormonais

Segundo Poli et al. (2009) a anticoncepção hormonal é a utilização de drogas, classificadas como hormônios, em dose e modo adequados para impedir a ocorrência de uma gravidez não desejada ou não programada, sem qualquer restrição às relações sexuais. Os hormônios usados para anticoncepção são os esteroides sexuais sintéticos: estrogênio e progestogênio.

O uso de Contraceptivos Hormonais Orais (CHO) ou pílulas anticoncepcionais é considerado o método anticoncepcional reversível mais utilizado no país. São comprimidos que contêm hormônios sintéticos utilizados

isoladamente ou em associação, com a finalidade básica de impedir a concepção. Entretanto, atualmente, seu emprego clínico transcende a indicação exclusiva como método contraceptivo. Os CHO são classificados em dois tipos: contraceptivos orais combinados e os contraceptivos orais apenas de progestogênio. Os contraceptivos orais combinados (COC) contêm doses variadas de estrogênio e progestogênio sintéticos, administrados conforme diferentes esquemas posológicos. Sua ação contraceptiva é baseada na influência sobre o eixo neuroendócrino, o que modifica o processo de estímulo ovariano pelas gonadotrofinas e interfere diretamente nos mecanismos de retroalimentação. Dessa forma, eles efetivamente bloqueiam a atividade gonadotrófica, especialmente inibindo o pico de Hormônio Luteinizante (LH), responsável pelo amadurecimento dos folículos, ovulação e produção de progesterona, o que resulta na prevenção da ovulação (ALDRIGHI E PETTA, 2004; POLI et al., 2009).

Os anticoncepcionais orais de apenas progestogênio apresentam uma quantidade mínima de progestogênio em sua composição, não incluindo estrogênio. São comumente chamados de minipílulas e são especialmente indicados para mulheres que estão amamentando. Devido às baixas doses de progestogênio, as minipílulas não garantem uma inibição consistente da ovulação. A resposta ovariana varia consideravelmente entre as mulheres, com cerca de 40% das usuárias de minipílula ovulando. Além disso, a minipílula também atua modificando o muco cervical, tornando-o desfavorável à passagem do esperma. Isso resulta em uma baixa penetração do esperma e, mesmo em casos de penetração, a mobilidade do esperma é reduzida, diminuindo significativamente as chances de fertilização (CHRISTIN-MAITRE, 2013).

É relevante destacar que todas as formulações administradas por via oral atravessam o estômago e alcançam o intestino, onde são absorvidas e entram na circulação até chegar ao fígado. Esse processo inicia o circuito denominado de eixo entero-hepático, que possui um papel crucial nas implicações metabólicas (POLI et al., 2009).

Segundo Ferreira et al., (2019) O uso de contraceptivos orais pode desencadear condições como doenças cardiovasculares e tromboembolismo venoso, além de afetar a acne e provocar variações no humor e na libido. Além disso, em algumas mulheres, é oferecido um aumento no peso corporal devido a modificações nas vias metabólicas relacionadas às proteínas e aos lipídeos.

Existem duas formulações distintas de anticoncepcionais injetáveis: os combinados, administrados mensalmente e os que contêm apenas progestogênio,

aplicados a cada trimestre. Um contraceptivo injetável amplamente utilizado é o acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA), um progestogênio de ação prolongada. O

DMPA atua interrompendo a ovulação. Seu efeito contraceptivo é principalmente atribuído à influência nos níveis hipofisário e hipotalâmico (RIVERA; YACOBSON; GRIMES, 1999). De acordo com Poli et al. (2009), esse método tem como vantagem a ausência do efeito de primeira passagem no fígado.

De um modo geral, pode dizer-se que existe uma escassez de dados sobre os efeitos dos esteroides contraceptivos no metabolismo de minerais vestigiais.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Comparar, estatisticamente, os intervalos de concentração de elementos medidos em amostras de cabelos de pessoas que possuem cabelos naturais e não fumam nem fazem uso de anticoncepcionais, com os medidos em amostras de pessoas que fumam ou de mulheres que tomam anticoncepcionais orais, de maneira a avaliar como esses hábitos afetam os resultados do exame de mineralograma capilar.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Gerar um banco de dados de amostras de cabelo;
- Comparar os resultados de concentrações de elementos químicos, através de ferramentas estatísticas, a fim de identificar diferenças entre os grupos “fumantes”, “não fumantes” e “fumantes passivos” e “usa anticoncepcional” e “não usa anticoncepcional”.
- Verificar correlações entre os elementos químicos analisados em cada grupo estudado.
- Estabelecer agrupamentos entre os elementos químicos para cada grupo.
- Verificar possível diferenciação entre os grupos.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Coleta e preparo das amostras

As amostras de cabelo foram coletadas em 5 escolas públicas da região metropolitana do Rio de Janeiro (Figura 4), entre os meses de outubro e dezembro de 2022. Foram coletadas um total de 226 amostras, sendo 49 da escola 1, 46 da escola 2, 35 da escola 3, 48 da escola 4 e 48 da escola 5. Não foi realizado o estudo para avaliar diferenças geográficas nesta etapa do trabalho.

Para este estudo foram coletadas, tanto amostras masculinas quanto femininas, abrangendo a faixa etária entre 15 e 59 anos, com ou sem tratamento estético nos cabelos. Para melhor compreensão dos dados obtidos, foi realizado um questionário para coleta de informações quanto aos hábitos de vida, relacionados à alimentação, uso de suplementação alimentar, uso de fumo e anticoncepcional (dados detalhados no anexo I). Todos os voluntários foram informados sobre as determinações que seriam realizadas nas amostras e preencheram os documentos necessários de acordo com o comitê de ética institucional.



Figura 4: Mapa da localização das escolas onde foram coletadas as amostras de cabelo. Fonte: Mapa criado no QGIS 3.32 (do autor).

#### Descrição das amostras

A partir das informações obtidas no questionário foi realizado uma descrição inicial das amostras, que está apresentada na tabela 1, de forma a analisar as possíveis variáveis que possam influenciar no estudo. As amostras do sexo masculino que utilizam anticoncepcional não foram incluídas no estudo, tal informação pode ser atrelado a homens que estão passando pelo processo de hormonização ou erro de preenchimento do formulário.

Tabela 1: Descrição inicial das amostras.

	Tratamento Estético		Fumo			Anticoncepcional	
	Sim	Não	Sim	Não	Passivo	Sim	Não
<b>Homem</b>	9	48	14	39	4	3	54
<b>Mulher</b>	87	82	40	106	23	61	108
<b>Total</b>	96	130	54	145	27	64	162

#### Coleta das amostras

O processo de coleta e preparo de amostra seguiu o procedimento desenvolvido no Labspectro, localizado na PUC-Rio, para o mineralograma capilar. Procedimento este otimizado por Rocha et al. (2021). As amostras de cabelo foram coletadas da região occipital, logo acima da nuca e rente à raiz do cabelo, utilizando tesoura de aço inoxidável, previamente descontaminada com etanol a cada coleta. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em sacos plásticos com suas respectivas identificações. Das amostras coletadas, foram aproveitados os primeiros 3 cm a partir da raiz, sendo o restante da amostra descartado.

Antes da lavagem das amostras dos cabelos, estas foram pesadas, em balanças analíticas diretamente nos tubos de polipropileno de 50 mL, com tampa. O valor da massa do tubo de polipropileno com a amostra foi anotado.

#### Lavagem das amostras

A lavagem foi realizada utilizando água ultrapura, mantendo-se em banho de ultrassom por 15 minutos, sendo este procedimento repetido por mais duas vezes. Posteriormente, a amostra foi seca em estufa a 60 °C por uma noite (período aproximado de 12 h), resfriadas em temperatura ambiente e pesadas novamente. O intervalo de massa de amostra utilizado foi entre 75 e 275 mg.

#### Preparo das amostras

Para decomposição das amostras foi adicionado HNO<sub>3</sub> concentrado bidestilado, com volume proporcional à massa de cabelo, seguindo a metodologia do Labspectro, 2,5 mL de ácido para 250 mg de amostra. As amostras foram deixadas por 12 h sob temperatura ambiente. Para completa decomposição, após o pernoite, as amostras foram submetidas a 100 °C em chapa de aquecimento por 4 h.

Uma vez retirados do aquecimento, após atingirem a temperatura ambiente, foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suprapur aos tubos. Da mesma maneira que para

o ácido, o volume de peróxido adicionado foi proporcional à massa de cabelo da amostra: 1,00 mL para cada 250 mg de amostra.

Por fim, as amostras foram avolumadas com água ultrapura utilizando dispensador automático (volume final de 25 mL para 250 mg de amostra) e analisadas por ICP-MS.

### 3.2. Materiais e Reagentes

Durante todo o processo de lavagem e preparo da amostra foram usados  $\text{HNO}_3$  P.A. (bidestilado) (Qhemis, Brasil), água ultrapura (resistividade  $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ), proveniente de um sistema Milli-Q (Merck, Milipore, EUA), e  $\text{H}_2\text{O}_2$  suprapur (Merck, Brasil). Para as soluções da curva analítica, utilizou-se os seguintes padrões multielementares: Multi-Element Calibration Standard 3 (*no* Hg), MultiElement Calibration Standard 5, Multi-Element Calibration Standard 2, todos com concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , e monoelementar de Hg de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , todos da Perkin Elmer, EUA, padrões monoelementares de Au, B, K, Na, Ti e Zn, na concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  cada, Rh na concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ ; Al, Ca, Fe, P e Mg, na concentração de  $10000 \text{ mg L}^{-1}$  (Merck, Alemanha), Br, I, Sb, Sn e Pd, na concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (VHG Labs, EUA) e S  $10000 \text{ mg L}^{-1}$  (Dinâmica, Brasil).

### 3.3. Equipamento

O equipamento de ICP-MS utilizado foi o modelo NexIon 300X (PerkinElmer, EUA) (Figura 5) do Labspectro, com as condições operacionais do equipamento ilustradas na Tabela 2.



Figura 5: PerkinElmer NexION 300X ICP-MS  
FONTE: Adaptado de PerkinElmer

Tabela 2: Parâmetros operacionais do equipamento NexIon 300X

Potência da Radiofrequência	1100 W
Vazão do gás principal	17 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás auxiliar	1,20 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás de nebulização	0,97 L min <sup>-1</sup>
Replicatas	3

As amostras foram processadas no modo normal e no modo cela de reação dinâmica (DRC) de modo a minimizar ou até mesmo eliminar possíveis interferências. Para o preparo das amostras foram utilizados: balança analítica (OHAUS, EUA), chapa de aquecimento (Fisatom, Brasil), dispensador automático (Brand, EUA), ultrassom (Thornton, Brasil) e estufa de secagem (SPLabor, Brasil), todos do Labspectro.

### 3.4. Soluções Analíticas

A curva analítica foi construída seguindo o padrão de análise para mineralograma capilar do Labspectro. Foram preparadas 18 soluções a partir de padrões multielementares e monoelementares que variaram de acordo com a concentração de cada elemento. As concentrações de Ag, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Ge, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Sb, Se, Sn, Sr, U e V variaram de 1 a 80 µg L<sup>-1</sup>, B variou de 11 a 580 µg L<sup>-1</sup>, I de 2 a 160 µg L<sup>-1</sup>, Fe, K, Na e Mg variaram de 51 a 1080 µg L<sup>-1</sup>, Ca de 71 a 2680 µg L<sup>-1</sup>, P de 41 a 3280 µg L<sup>-1</sup>, Au, Hg e Th de 0,5 a 20 µg L<sup>-1</sup>, Al de 11 a 380 µg L<sup>-1</sup>, Zn de 11 a 280 µg L<sup>-1</sup>, S de 10 a 500 mg L<sup>-1</sup>. Como padrão interno, foi usada uma solução de Rh com concentração 40 µg L<sup>-1</sup> introduzida em linha em todas as soluções analíticas, brancos e amostras.

### 3.5. Parâmetros Analíticos do Método

A determinação dos parâmetros de mérito foi feita de acordo com as recomendações do documento orientativo sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO), onde orienta que para métodos normalizados, é necessário verificar a recuperação e precisão em toda a faixa de trabalho, LD e LQ, a fim de validar o desempenho do método utilizado.

A quantificação requer que se conheça a relação entre a resposta medida e a concentração do analito. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática para o cálculo da concentração

do analito a ser determinado na amostra real. A linearidade do método foi determinada a partir da curva analítica e calculada a partir da equação da regressão linear (Equação 1) (INMETRO,2016).

$$y = ax + b \quad (1) \quad \text{Equação 1}$$

Os limites de detecção e quantificação são propriedades importantes para a análise de desempenho e qualidade de um método desenvolvido. O Limite de Detecção (LD) de um procedimento analítico individual corresponde à menor quantidade de analito presente na amostra que pode ser identificada, embora não obrigatoriamente quantificada, dentro das condições específicas do ensaio (BRITO et al., 2003; INMETRO, 2016). O cálculo do LD foi determinado pela análise do branco com 10 repetições, sendo calculados a média e o desvio padrão (Equação 2).

$$LD = \frac{3.s}{S} \quad \text{Equação 2}$$

Onde

s = desvio-padrão da resposta;

S = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método)

O Limite de Quantificação (LQ) representa a concentração mínima do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis (BRITO et al., 2003; INMETRO, 2016). Para a sua determinação (Equação 3), foram analisados 10 brancos e calculados a média e o desvio padrão.

$$LQ = \frac{10.s}{S} \times fd \quad \text{Equação 3}$$

Onde

s = desvio-padrão da resposta;

S = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método)

fd = fator de diluição da amostra

A exatidão denota a proximidade entre o valor medido e um valor de referência considerado como verdadeiro, sendo vinculada ao erro absoluto associado a uma medida. Pode ser avaliada por dois métodos: o primeiro envolve a aplicação da metodologia proposta a uma substância de pureza conhecida, como por exemplo, Materiais de Referência Certificados (MRC). A segunda abordagem consiste na comparação dos resultados obtidos através da metodologia em questão com os resultados de uma segunda metodologia já bem estabelecida, que apresente exatidão e precisão conhecidas (RIBEIRO et al., 2008).

Os Materiais de Referência Certificados são as escolhas preferenciais para controle, já que estão diretamente vinculados a padrões internacionais. O processo de avaliação com base em MRC implica em analisar um número adequado de réplicas desse material e comparar os resultados obtidos com o valor certificado (BRITO et al., 2003).

Para este estudo foram utilizadas duas amostras de referência certificada de cabelo humano (NCSDC 73347a, Pequim, China; ERM-DB001, European Reference Materials, Bélgica).

### **3.6. Análise Estatística dos Dados**

As modernas técnicas instrumentais produzem uma quantidade substancial de dados experimentais e informações. Nesse contexto, o emprego de ferramentas estatísticas se torna imprescindível para facilitar a compreensão desses dados e informações.

Neste estudo as informações preenchidas no formulário por cada voluntário e os resultados obtidos por ICP-MS foram transferidos para uma planilha do Microsoft Excel e a análise estatística foi realizada usando o Software *Statistica for Windows 14.0*.

#### **3.6.1. Normalidade**

Uma curva de frequências tende a ter características de uma curva de sino, conhecida como a curva de Gauss. Quando as medidas seguem essa distribuição gaussiana, elas revelam o que é chamado de tendência central. Nesse cenário, os valores tendem a se agrupar em torno de um ponto central, que está mais ou menos próximo do centro da curva, enquanto a frequência diminui conforme nos afastamos desse ponto, seja para a direita ou para a esquerda (HEGENBERG, 1998).

Portanto, é essencial verificar a normalidade dos dados. A partir dessa avaliação, torna-se possível determinar qual abordagem estatística será empregada: a estatística paramétrica, quando se constata a normalidade das variáveis, ou a abordagem não paramétrica, quando os dados não exibem uma distribuição normal.

A normalidade pode ser visualizada graficamente, através de histograma, e testes estatísticos para verificar o desvio da normalidade que normalmente estão associados a um nível de probabilidade (valor  $p$ ). Os testes mais utilizados são o teste de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors (K-S), ambos podem fornecer informações que indicam se os dados apresentam uma distribuição normal ou não em relação a uma distribuição de referência, caso se obtiver um valor para  $p \geq 0,05$  então a população investigada se encontra em uma distribuição normal (SHEAT E PANKRATZ, 2002).

### 3.6.2. Estatística Não Paramétrica

Como mencionado, as abordagens estatísticas são divididas em duas categorias principais: as paramétricas e as não paramétricas. Segundo Sheat E Pankratz (2002) a estatística paramétrica engloba um conjunto de testes estatísticos que fazem uso de médias e uma medida de dispersão (como desvio padrão ou variância) para avaliar se há diferenças significativas entre os grupos. Para a estatística não paramétrica, a mediana, valor que ocupa a posição central dos dados, após estes serem organizados em ordem crescente ou decrescente, pode ser a medida mais apropriada dos dados, pois evita a influência de dados extremos na estimativa do valor correspondente ao centro dos dados.

Dentre os vários testes não paramétricos, podemos destacar o teste U de Mann-Whitney, que é um procedimento que compara as medianas de dois grupos independentes, em vez das médias, para avaliar se são diferentes. A mediana de cada grupo é encontrada classificando os dados em cada grupo do menor para o maior, e identificando o valor da mediana (SIEGEL, 1975; SHEAT E PANKRATZ, 2002).

O teste de Kuskall- Walis é o mais indicado quando se quer comparar 2 ou mais grupos em relação à tendência central dos dados. O teste leva a resultados estatisticamente significativos, indicando que, pelo menos, uma das amostras difere das demais. No entanto, o teste não especifica a localização das diferenças nem a quantidade exata de diferenças que ocorrem. Portanto, é essencial realizar um teste adicional (*post hoc*) para efetuar comparações entre pares, a fim de

identificar quais amostras diferem e quantificar essas diferenças (CALLEGARI-JACQUES, 2003).

Além das comparações entre os dados, é possível fazer uma análise de correlação destes, a fim de analisar duas variáveis para determinar se há uma relação ou associação. Segundo Reimann (2008), a análise de correlação avalia a magnitude da relação entre dois conjuntos de variáveis, sendo que o coeficiente de correlação varia entre -1 (correlação negativa) e +1 (correlação positiva). Na abordagem não paramétrica, a mais utilizada é a Correlação de Spearman, que se assemelha à correlação de Pearson na estatística paramétrica.

### 3.6.3. Análise Multivariada

O avanço tecnológico ocorrido ao longo do último século trouxe consigo uma revolução na coleta e processamento de dados em diversas áreas, utilizando equipamentos cada vez mais sofisticados e instrumentos mais precisos. Com isso, a quantidade e complexidade dos dados gerados aumentaram significativamente. Parte dessas informações pode ser estudada através da estatística simples, mas a grande maioria necessita de técnicas estatísticas mais complexas, que contribuem para uma compreensão mais profunda dos fenômenos observados, acelerando os avanços experimentados em diversas áreas do conhecimento.

Dessa forma, de acordo com Hair et al. (2009), a análise multivariada engloba todas as técnicas estatísticas que avaliam simultaneamente várias medidas relacionadas ao objeto de estudo. A seguir será descrito resumidamente a análise dos componentes principais, técnica multivariada utilizada neste trabalho.

A Análise Dos Componentes Principais (do inglês, principal component analysis, PCA) é uma abordagem estatística que pode ser utilizada para analisar inter-relações entre um grande número de variáveis, assim como explicá-las em fatores (componentes principais). O objetivo principal é a redução do conjunto de dados a ser analisado, especialmente quando os dados consistem em um elevado quantitativo de variáveis inter-relacionadas. Essa simplificação é alcançada por meio da transformação do conjunto original de variáveis em um novo conjunto que preserva, em sua maioria, a variação presente nos dados. As novas variáveis resultantes, chamadas de Componentes Principais (PC), são independentes e não correlacionadas, o que confere vantagens à análise, especialmente em cenários que envolvem múltiplos fatores, como é evidenciado no controle estatístico de processos.

Para determinar os componentes principais, o processo requer o cálculo da matriz de variância-covariância ou da matriz de correlação, seguido da identificação dos autovalores e autovetores. Por fim, por meio desses valores, as combinações lineares são desenvolvidas e transformadas nas novas variáveis (Figura 6) (SOUZA, 2000).

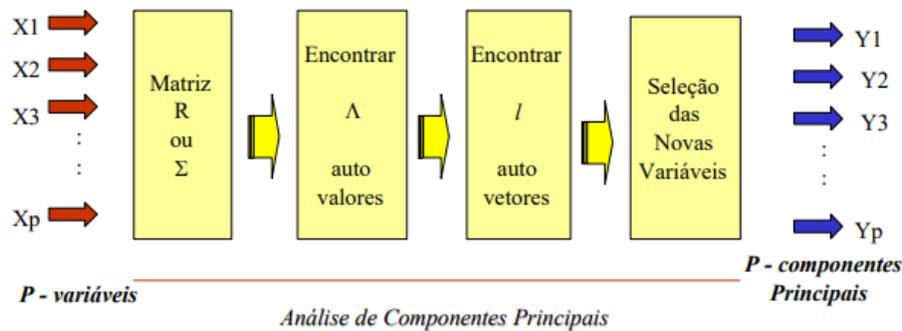


Figura 6: Descrição Gráfica da aplicação da Análise dos Componentes Principais. Fonte: ADAPTADO SOUZA, 2000.

A relevância de um componente principal é avaliada com base em sua contribuição, que é representada pela proporção da variância total explicada pelo componente. Inicialmente, a expectativa é que um número reduzido de Componentes Principais seja capaz de explicar a maior parte da variância (informação) contida nos dados. Por fim, gráficos são empregados para representar visualmente a dispersão dos tratamentos em relação aos escores das Componentes Principais em um espaço bidimensional ou tridimensional.

## 4. Resultados

### 4.1. Parâmetros do Método

#### 4.1.1. Sensibilidade

Os coeficientes de determinação,  $R^2$ , das curvas analíticas foram superiores a 0,999, com isso foram calculados os limites de detecção instrumental, em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e os limites de quantificação do método, em  $\text{mg kg}^{-1}$ , apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Coeficientes de determinação das curvas analíticas, limites de detecção instrumentais e limites de quantificação por quilograma de amostra, para os elementos estudados.

<b>Isótopo</b>	<b>coeficiente de Determinação</b>	<b>LD (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LQ (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>
<sup>23</sup> Na	0,99983	0,10	0,32
<sup>24</sup> Mg	0,99983	0,02	0,06
<sup>27</sup> Al	0,99979	0,05	0,18
<sup>31</sup> P	0,99984	3,10	10,40
<sup>34</sup> S	0,99992	23,4	78,1
<sup>44</sup> Ca	0,99993	2,38	7,92
<sup>47</sup> Ti	0,99987	0,07	0,24
<sup>51</sup> V	0,99996	0,0005	0,001
<sup>53</sup> Cr	0,99985	0,06	0,20
<sup>55</sup> Mn	0,99994	0,002	0,008
<sup>57</sup> Fe	0,99996	0,26	0,86
<sup>59</sup> Co	0,99999	0,0007	0,02
<sup>60</sup> Ni	0,99996	0,003	0,01
<sup>65</sup> Cu	0,99998	0,01	0,02
<sup>66</sup> Zn	0,99991	0,03	0,09
<sup>69</sup> Ga	0,99999	0,0009	0,003
<sup>75</sup> As	0,99996	0,01	0,02
<sup>82</sup> Se	0,99939	0,14	0,45
<sup>88</sup> Sr	0,99997	0,0008	0,003
<sup>98</sup> Mo	0,99999	0,0012	0,004
<sup>107</sup> Ag	0,99992	0,0007	0,002
<sup>114</sup> Cd	0,99998	0,0009	0,003
<sup>118</sup> Sn	0,99979	0,005	0,02
<sup>121</sup> Sb	0,99991	0,0007	0,0025
<sup>127</sup> I	0,99975	0,01	0,02
<sup>137</sup> Ba	0,99993	0,0032	0,01
<sup>202</sup> Hg	0,99992	0,004	0,01
<sup>208</sup> Pb	0,99995	0,0009	0,003
<sup>238</sup> U	0,99999	0,0002	0,0006

### 4.1.2. Exatidão

Os resultados obtidos para avaliar a exatidão do método estão apresentados nas Tabela 4 e 5 e expressos como os valores de recuperação, em %, em relação aos valores certificados, das concentrações elementares para as duas amostras de referência analisadas, respectivamente, NCSDC 73347a, China, e ERM-DB001, União Europeia.

Tabela 4: Concentrações certificadas e concentrações obtidas, com respectivos desvios padrão, em mg kg<sup>-1</sup>, e recuperação, em %, para a amostra certificada CRM NCS DC 73347<sup>a</sup>.

Isótopo	Valor Certificado ± sd	Valor Obtido ± sd	Rec %
<sup>23</sup> Na	89 ± 12	71 ± 1,2	80
<sup>24</sup> Mg	140	113 ± 25	81
<sup>31</sup> P	140 ± 20	141 ± 5	101
<sup>34</sup> S	41900 ± 1100	46810 ± 3420	112
<sup>44</sup> Ca	1450 ± 200	1194 ± 97	82
<sup>51</sup> V	0,5 ± 0,18	0,2 ± 0,02	82
<sup>53</sup> Cr	0,41 ± 0,12	0,42 ± 0,06	104
<sup>55</sup> Mn	2 ± 0,3	1,7 ± 0,04	85
<sup>57</sup> Fe	36 ± 5	25 ± 3	89
<sup>59</sup> Co	0,045 ± 0,009	0,026 ± 0,006	110
<sup>60</sup> Ni	0,43 ± 0,12	0,20 ± 0,07	84
<sup>75</sup> As	0,28 ± 0,05	0,23 ± 0,01	83
<sup>88</sup> Sr	7,7 ± 0,4	6,3 ± 0,1	82
<sup>98</sup> Mo	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,02	85
<sup>107</sup> Ag	0,05	0,01 ± 0,003	91
<sup>118</sup> Sn	0,2	0,16 ± 0,04	81
<sup>121</sup> Sb	0,065	0,075 ± 0,003	116
<sup>127</sup> I	0,021	0,527 ± 0,08	106
<sup>137</sup> Ba	11,4 ± 0,6	10,5 ± 0,5	93
<sup>238</sup> U	0,099 ± 0,015	0,086 ± 0,007	87

Tabela 5: Concentrações certificadas e concentrações obtidas dos elementos, com respectivos desvios padrão, em  $\text{mg kg}^{-1}$ , e recuperação, em %, para a amostra certificada CRM ERM-DB001.

<b>Isótopo</b>	<b>Valor Certificado <math>\pm</math> sd</b>	<b>Valor Obtido <math>\pm</math> sd</b>	<b>Rec %</b>
$^{65}\text{Cu}$	$33 \pm 4$	$29 \pm 1,3$	90
$^{66}\text{Zn}$	$209 \pm 12$	$179 \pm 28$	86
$^{82}\text{Se}$	$3,24 \pm 0,24$	$3,90 \pm 0,27$	120
$^{114}\text{Cd}$	$0,125 \pm 0,007$	$0,138 \pm 0,013$	110
$^{202}\text{Hg}$	$0,37 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,01$	88
$^{208}\text{Pb}$	$2,14 \pm 0,2$	$2,03 \pm 0,2$	95

#### 4.2. Análise geral dos resultados e remoção de outliers

Um total de 226 amostras de cabelo foram coletadas de homens e mulheres nas 5 escolas do Rio de Janeiro. Para melhor tratamento dos dados disponíveis, as amostras foram divididas em 2 grupos, o grupo fumo que avalia homens e mulheres “fumantes”, “não fumantes” e “fumantes passivos” e o grupo anticoncepcional que incluiu apenas as mulheres “usa anticoncepcional” e “não usa anticoncepcional”. Em ambos os casos, foram descartadas amostras de pessoas com tratamento estético, visto que essa variável pode interferir nos resultados do mineralograma, como já evidenciado em trabalho anterior do grupo (Peregrino et al., 2020).

Para o grupo fumo, foram excluídas as amostras que usa anticoncepcional de modo a reduzir o máximo possível o número de variáveis que possam influenciar no estudo, o procedimento mesmo foi realizado para o grupo anticoncepcional retirando as amostras fumantes e fumantes passivos. A Tabela 6 apresenta as quantidades, de amostras disponíveis para a avaliação de cada grupo.

Tabela 6: Caracterização das amostras em relação aos grupos de estudo.

<b>Fumo</b>	<b>Anticoncepcional</b>	<b>Usa Anticoncepcional</b>	<b>Não Usa Anticoncepcional</b>
	<b>Fumante</b>		8
Fumante Passivo		3	8
Não fumante		16	71

Fonte: Próprio autor

Ademais, com a redução das variáveis e consequentemente do número de amostras total de cada grupo, foram mantidos todos os tipos de cigarros assim como todos os tipos de anticoncepcionais hormonais encontrados nos formulários(Tabela 7).

Tabela 7: Caracterização das amostras em relação subgrupos “fumantes” e “usa anticoncepcional”.

Fumantes		Usa Anticoncepcional	
Tipo de Cigarro	n	Tipo de Anticoncepcional	n
C	14	Pílula	7
C + E	1	Injetável	7
C + M	4	Não foi informado	2
E	1		
M	4		
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>		<b>16</b>

C: Cigarro Convencional C+E: Cigarro Convencional e Cigarro Eletrônico C+M: Cigarro Convencional e Maconha E: Cigarro Eletrônico M: Maconha. n = número de amostras analisadas. Fonte: Próprio autor.

Foi possível avaliar a presença de *outliers*, utilizando o teste de GRUBBS. Diante disso, os outliers foram removidos para não influenciarem nos resultados dos próximos testes estatísticos.

### 4.3. Avaliação Da Normalidade Dos Resultados Analíticos

Posteriormente, realizou-se o tratamento estatístico dos dados, a fim de verificar se os dados obtidos possuíam ou não distribuição normal. Os testes estatísticos utilizados para verificar a normalidade foram os testes Kolmogorov- Smirnov com a correção de Lilliefors (K-S) e de Shapiro-Wilk (S-W). Ambos apresentaram os mesmos resultados, todos os p-valores foram menores que 0,05, portanto admitiu-se que os elementos não seguem distribuição normal nas amostras.

De acordo com Hair et al. (2009) para utilizar técnicas da análise multivariada de dados, é necessário que as pressuposições sejam atendidas, como por exemplo, a normalidade dos dados. Quando não é possível satisfazer a normalidade, transformações podem ser feitas para uma escala mais apropriada com o objetivo de se conseguir distribuição aproximadamente normal.

Há inúmeras possibilidades de transformações, uma delas é a família de transformações Box-Cox (Box & Cox, 1964) que é amplamente utilizada, pois

permite identificar a melhor transformação, com base na utilização de um valor  $\lambda$  (lambda) que maximize o estimador de máxima verossimilhança e minimize o resíduo (CHUNG et al., 2007). Portanto, para transformação de dados em uma distribuição normal, realizou-se a transformação Box-Cox com valores de potência ( $\lambda$ ) no intervalo de  $-5 \leq \lambda \leq 5$ . Com o auxílio do histograma é possível observar a transformação do cálcio, por exemplo, em uma distribuição normal (Figura 7). Os histogramas obtidos para os outros elementos foram semelhantes aos obtidos para Ca e não serão apresentados aqui.

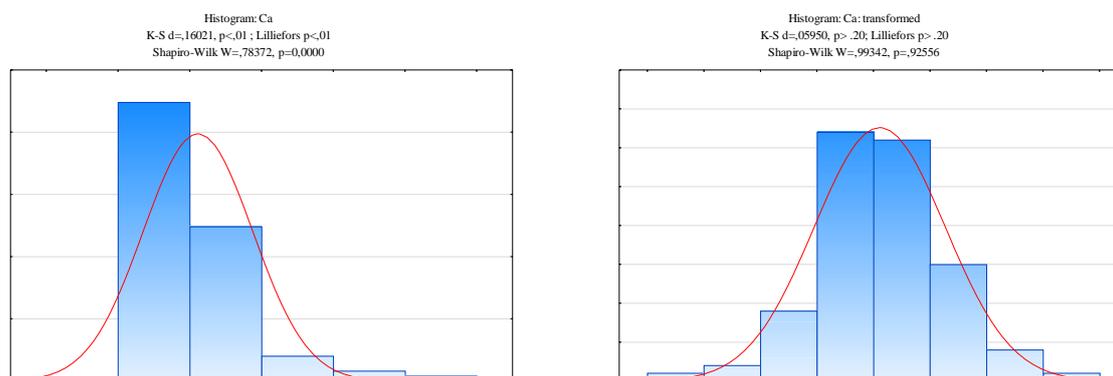


Figura 7: Histogramas da concentração de Ca: 1A – Distribuição antes da transformação BOXCOX.1B - Distribuição após a transformação BOXCOX.

A tabela 8 e a tabela 9 apresentam a estatística descritiva dos resultados de concentrações obtidos para os analitos nos cabelos de fumantes e mulheres que tomam anticoncepcional, respectivamente. Os valores de média, mediana, mínimo e máximo foram obtidos através dos dados brutos. Os resultados de 'p' e 'p- Box-Cox' representam os valores obtidos para dos dados brutos e transformados, respectivamente, no teste de Shapiro-Wilk para normalidade.

Tabela 8: Sumário Estatístico referente ao estudo do fumo com valores destacados em verde indicam que a transformação aplicada foi suficiente para normalização dos dados.

Isótopo	Não Fumante	Fumante	Fumante	P -Valor	p-Box-Cox
	(n= 71)	(n= 24)	Passivo (n= 7)		
	Média ± SD	Média ± SD	Média ± SD		
<sup>23</sup> Na	19 ± 41	7,2 ± 7,4	21 ± 24	0,00	0,95
<sup>24</sup> Mg	60 ± 53	46 ± 58	107 ± 142	0,00	0,64
<sup>27</sup> Al	25 ± 26	20 ± 11	32 ± 16	0,00	0,54
<sup>31</sup> P	180 ± 48	181 ± 47	154 ± 3	0,00	0,00
<sup>34</sup> S	54579 ± 12928	57123 ± 125963	49900 ± 10559	0,00	0,00
<sup>44</sup> Ca	607 ± 403	407 ± 270	807 ± 917	0,00	0,92
<sup>47</sup> Ti	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,00	0,88
<sup>51</sup> V	0,05 ± 0,05	0,03 ± 0,02	0,08 ± 0,08	0,00	0,04
<sup>53</sup> Cr	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,00	0,00
<sup>55</sup> Mn	0,9 ± 2,2	0,6 ± 1,5	1,2 ± 1,7	0,00	0,96
<sup>57</sup> Fe	15,5 ± 10,3	13,8 ± 6,6	14,3 ± 3,7	0,00	0,48
<sup>59</sup> Co	0,04 ± 0,11	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,00	0,31
<sup>60</sup> Ni	0,7 ± 1,1	0,3 ± 0,2	0,7 ± 0,4	0,00	0,76
<sup>65</sup> Cu	12,6 ± 7,5	11,1 ± 3,5	23 ± 31	0,00	0,00
<sup>66</sup> Zn	161 ± 71	190 ± 97	114 ± 53	0,00	0,00
<sup>69</sup> Ga	0,11 ± 0,16	0,05 ± 0,05	0,17 ± 0,16	0,00	0,73
<sup>75</sup> As	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,00	0,00
<sup>82</sup> Se	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,2	3,6 ± 9,2	0,00	0,00
<sup>88</sup> Sr	2,5 ± 2,5	1,5 ± 1,5	3,6 ± 3,1	0,00	0,87
<sup>98</sup> Mo	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,00	0,00
<sup>107</sup> Ag	0,05 ± 0,07	0,1 ± 0,1	0,08 ± 0,1	0,00	0,14
<sup>114</sup> Cd	0,06 ± 0,08	0,05 ± 0,09	0,07 ± 0,06	0,00	0,92
<sup>118</sup> Sn	0,6 ± 1	0,4 ± 0,5	1,2 ± 1,6	0,00	0,54
<sup>121</sup> Sb	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,00	0,33
<sup>127</sup> I	1,2 ± 1,9	0,4 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,00	0,55
<sup>137</sup> Ba	3,1 ± 5,3	1,2 ± 1,1	4,4 ± 4,2	0,00	0,72
<sup>202</sup> Hg	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,33	0,0	0,10
<sup>208</sup> Pb	0,3 ± 0,4	0,6 ± 0,9	0,5 ± 0,8	0,00	0,77
<sup>238</sup> U	0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,00	0,96

Fonte: Próprio autor

Tabela 9: Sumário Estatístico referente ao estudo do anticoncepcional com valores destacados em verde indicam que a transformação aplicada foi suficiente para normalização dos dados.

Isótopo	Usa Anticoncepcional	Não Usa Anticoncepcional	p- Valor	p-Box-Cox
	(n= 15)	(n= 37)		
	Média ± SD	Média ± SD		
<sup>23</sup> Na	9 ± 17	22 ± 53	0,00	0,94
<sup>24</sup> Mg	68 ± 57	59 ± 59	0,00	0,13
<sup>27</sup> Al	23 ± 11	21 ± 17,7	0,00	0,95
<sup>31</sup> P	162 ± 32	182 ± 53	0,00	0,32
<sup>34</sup> S	51921 ± 9529	57647 ± 14063	0,00	0,26
<sup>44</sup> Ca	561 ± 368	670 ± 455	0,00	0,90
<sup>47</sup> Ti	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,00	0,98
<sup>51</sup> V	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,07	0,00	0,62
<sup>53</sup> Cr	0,35 ± 0,24	0,3 ± 0,2	0,00	0,00
<sup>55</sup> Mn	0,35 ± 0,20	6 ± 30	0,00	0,78
<sup>57</sup> Fe	13 ± 4	13 ± 8	0,00	0,65
<sup>59</sup> Co	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,09	0,00	0,58
<sup>60</sup> Ni	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,6	0,00	0,91
<sup>65</sup> Cu	9,9 ± 2,7	15,8 ± 9,1	0,00	0,11
<sup>66</sup> Zn	138 ± 57	163 ± 73	0,00	0,00
<sup>69</sup> Ga	0,07 ± 0,05	0,15 ± 0,25	0,00	0,62
<sup>75</sup> As	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,04	0,00	0,00
<sup>82</sup> Se	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,4	0,00	0,00
<sup>88</sup> Sr	2,4 ± 1,5	2 ± 3	0,00	0,91
<sup>98</sup> Mo	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,05	0,00	0,00
<sup>107</sup> Ag	0,05 ± 0,07	0,03 ± 0,06	0,00	0,65
<sup>114</sup> Cd	0,04 ± 0,06	0,07 ± 0,06	0,00	0,71
<sup>118</sup> Sn	0,7 ± 1,3	0,8 ± 0,8	0,00	0,28
<sup>121</sup> Sb	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,00	0,91
<sup>127</sup> I	1,3 ± 1,6	1,0 ± 1,2	0,00	0,12
<sup>137</sup> Ba	1,9 ± 5	4,8 ± 8,3	0,00	0,43
<sup>202</sup> Hg	0,08 ± 0,06	0,2 ± 0,4	0,0	0,45
<sup>208</sup> Pb	1,9 ± 1,6	0,3 ± 0,2	0,00	0,68
<sup>238</sup> U	0,01 ± 0,006	0,01 ± 0,01	0,00	0,85

. Fonte: Próprio autor

#### **4.4. Análise Dos Resultados - Fumantes**

##### **4.4.1. Avaliação Estatística Das Concentrações**

Inicialmente foi avaliado se as concentrações do mineralograma para os elementos essenciais e tóxicos apresentavam diferenças significativas entre os grupos de fumantes, não fumantes e fumantes passivos. Analisando os gráficos box plot, tem-se a reta azul que indica o valor máximo de referência das concentrações dos elementos essenciais e tóxicos e a reta vermelha indica o valor mínimo de referência, segundo Carneiro et al. (2002).

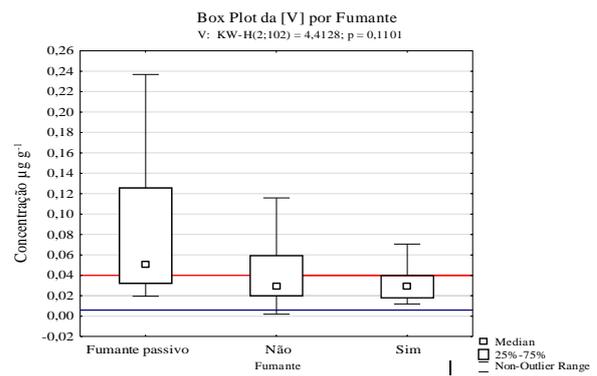
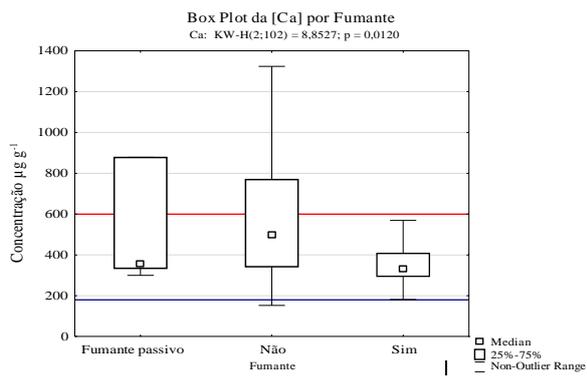
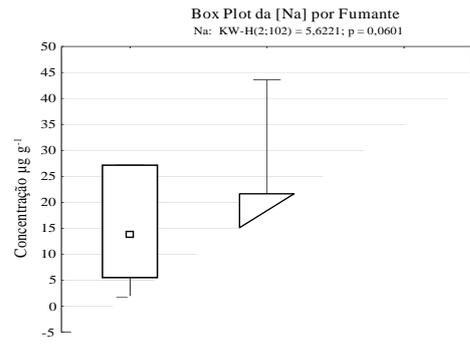
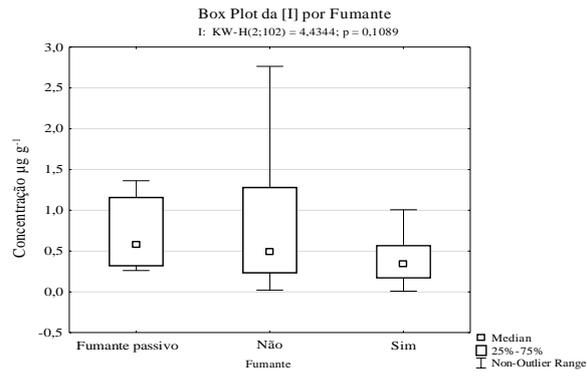


Figura 8: Box plot das concentrações dos elementos essenciais e outros para não fumantes, fumantes passivos e fumantes. Linha vermelha indica o limite superior, enquanto a azul, o limite inferior, segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).

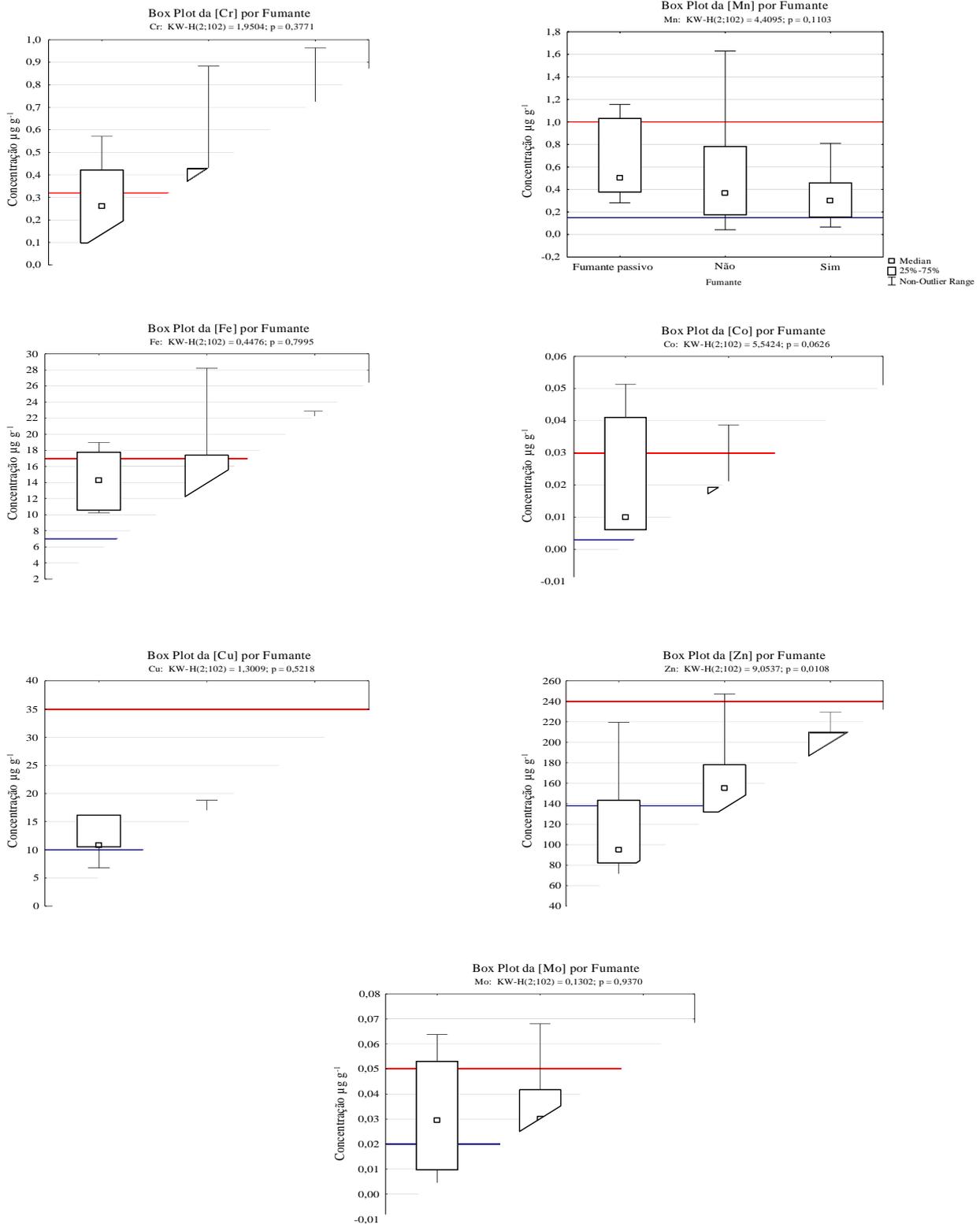


Figura 8: Continuação- Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para fumantes. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo.

Foi possível, a partir da análise gráfica, verificar a ocorrência de variação das concentrações dos elementos entre os grupos de estudo, entretanto para verificar se essa diferença entre as medianas é significativa, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. Dessa forma, os elementos essenciais e outros, que apresentaram diferença significativa foram: Ca e Zn (Figura 8).

Visto que o teste de Kruskal-Wallis identifica apenas se há diferença entre os grupos, com o intuito de analisar em qual grupo de fumante essa diferença se encontra, foi realizado o teste de comparação múltipla por pares. Analisando os valores de  $p$ , é possível encontrar em quais pares de tratamentos há diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Por conseguinte, para o elemento Ca verificou-se que a diferença significativa está entre o grupo dos fumantes com os não fumantes, enquanto para Zn, Ba e Ga, há diferença significativa entre os grupos que fumam e os fumantes passivos. Não foi identificada diferença significativa entre os grupos de não fumantes e fumantes passivos.

O cálcio é um macronutriente essencial e importante na manutenção da saúde óssea, a falta desse mineral pode causar desmineralização óssea, fraturas e osteoporose (Institute of Medicine, 2011). No presente estudo encontrou-se uma concentração média menor desse macronutriente nos cabelos dos fumantes e fumantes passivos. A deficiência de cálcio em relação ao tabagismo foi estudo de várias pesquisas nas quais a maioria aponta que os níveis de cálcio são menores entre fumantes. Entretanto, há uma grande discussão entre os autores devido aos motivos que levam os fumantes a possuírem menor densidade óssea, quando comparados aos não fumantes. Dentre elas, uma dieta com baixa ingestão de alimentos ricos em cálcio, os fumantes não absorvem o cálcio dietético com eficiência em relação aos não fumantes, nas mulheres o cálcio pode afetar os níveis de estrogênio, que reduz o nível de estradiol e o aumento de globulinas ligantes de hormônios sexuais (KRALL E DAWSON-HUGHES, 1991; KRALL E DAWSON-HUGHES, 1999; MORABIA et al., 2000; FROES et al., 2002; BREITLING, 2015; WU E DU, 2022;).

Contudo, também são levantados outros fatores que podem influenciar em baixos níveis desse macronutriente, como o consumo de cafeína, de álcool, sedentarismo, entre outros (BUZINARO et al., 2006).

Para o Zn, há diferença significativa entre os grupos que fumam e os fumantes passivos, sendo a maior concentração média para o grupo dos fumantes. O zinco é amplamente reconhecido por sua capacidade de combater o estresse oxidativo, além de suas funções como catalisador de enzimas e contribuinte para o metabolismo de gorduras, açúcares e proteínas. Ele também

desempenha um papel na redução da produção de respostas inflamatórias persistentes, auxiliando na diminuição da geração de citocinas inflamatórias. É essencial para a formação da síndrome fisiológica, aterosclerose e diabetes mellitus tipo 2, devido ao seu papel fundamental na produção, armazenamento e liberação de insulina (JAIN, 2017; ALEA et al, 2023).

Embora o zinco esteja presente no cigarro e estime-se que 70 % seja transferido para a fumaça (BEHARD et al., 2005), estudos apontam que a concentração de zinco em fumantes é menor devido a suas propriedades oxidativas, divergindo do resultado encontrado nesse estudo (MORALES- SUÁREZ-VARELA et al., 2015; THEINT et al., 2019; SALAM et al., 2023).

Estudos atuais demonstram o poder da fumaça principal e lateral do cigarro. De acordo com Behera et al. (2014), a fumaça lateral tem níveis mais elevados de elementos tóxicos do que a fumaça principal, entretanto apresenta menor risco à população visto que boa parte dos elementos tóxicos presentes podem ser diluídos no ar. Portanto, pode-se concluir que os elementos tóxicos carcinogênicos presentes na fumaça do cigarro podem causar risco significativo de câncer ao longo da vida, assim como alterações na função renal (MORAES et al., 2021).

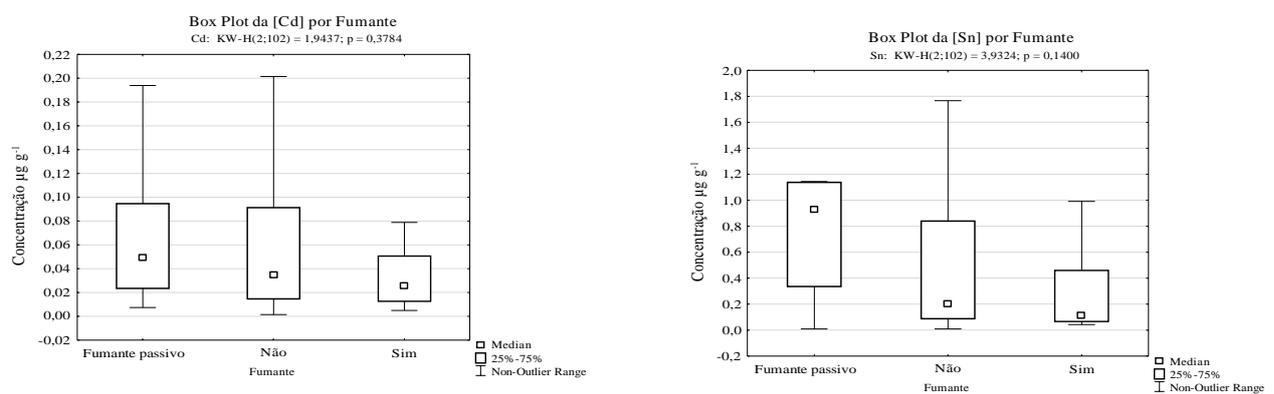


Figura 9: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para fumantes. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).

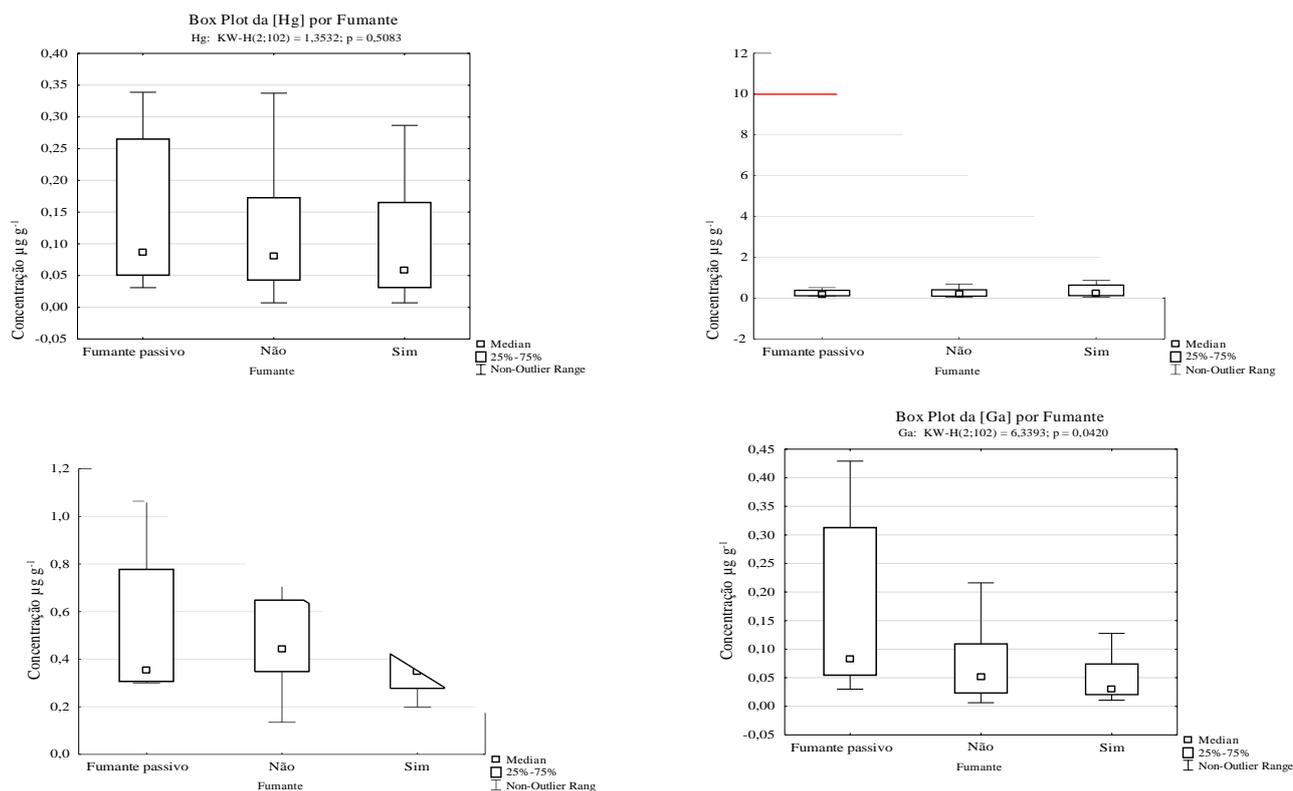


Figura 9, continuação: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para fumantes. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).

Para os elementos tóxicos, os elementos Ba e Ga apresentaram diferença significativa entre os grupos que fumam e os fumantes passivos, com maiores concentrações entre os grupos dos fumantes passivos (Figura 9). Entretanto, os elementos Ba e Ga não estão presentes em estudos relacionados ao cigarro. É importante chamar a atenção para o baixo número amostral do grupo de fumantes passivos, em comparação ao número de fumantes e de não fumantes, fazendo necessário um estudo com um maior número de fumantes passivos para confirmarmos tais observações.

Para os outros elementos, não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos de não fumantes e fumantes passivos.

Portanto, com o objetivo de estabelecer uma correlação direta entre fumantes e não fumantes, foi realizado o teste de Mann Whitney U (Tabela 10), na qual foram identificados outros elementos essenciais, como Na e Mg, em deficiência nos fumantes. Os baixos níveis de magnésio podem ser considerados como o primeiro marcador de risco de doenças cardiovasculares e outras doenças não transmissíveis (KARUNAKARAN et al., 2019). A prata apresentou maior concentração média para os fumantes, embora não tenham sido encontrados

estudos relacionando o tabagismo à prata. Entretanto, o acetato de prata é utilizado em medicamentos, sprays e gomas de mascar para parar de fumar, e estudos identificaram maiores níveis de prata, nesses casos (JENSEN et al., 1988), além de poder estar presente em outras fontes possíveis de exposição, como alimentos e água, o que dificulta o estabelecimento de uma relação de causae efeito.

Tabela 10: Resultados p-value Teste Whitney U, com destaque em vermelho para os valores <0,05 que indicam uma diferença significativa entre os grupos “Fumantes” e “Não fumantes”.

Variável	Rank Sum Não	Rank Sum Sim	U	Z	p-value	Valid N Não	Valid N Sim
Na	3552,00	913,00	613,00	1,96	0,05	70,00	24,00
Mg	3582,00	883,00	583,00	2,22	0,03	70,00	24,00
P	3184,00	1281,00	699,00	-1,22	0,22	70,00	24,00
S	3109,00	1356,00	624,00	-1,87	0,06	70,00	24,00
Ca	3657,00	808,00	508,00	2,87	0,00	70,00	24,00
V	3428,00	1037,00	737,00	0,89	0,37	70,00	24,00
Cr	3169,00	1296,00	684,00	-1,35	0,18	70,00	24,00
Mn	3470,00	995,00	695,00	1,25	0,21	70,00	24,00
Fe	3348,00	1117,00	817,00	0,20	0,85	70,00	24,00
Co	3453,00	1012,00	712,00	1,11	0,27	70,00	24,00
Cu	3243,00	1222,00	758,00	-0,71	0,48	70,00	24,00
Zn	3173,00	1292,00	617,00	-1,75	0,08	71,00	23,00
Se	3476,00	989,00	713,00	0,91	0,36	71,00	23,00
Sr	3538,00	927,00	627,00	1,84	0,07	70,00	24,00
Mo	3295,50	1169,50	810,50	-0,25	0,80	70,00	24,00
I	3532,00	933,00	633,00	1,79	0,07	70,00	24,00
Al	3320,00	1145,00	835,00	-0,04	0,97	70,00	24,00
Ni	3506,00	959,00	659,00	1,57	0,12	70,00	24,00
As	3312,00	1153,00	827,00	-0,11	0,91	70,00	24,00
Ag	3075,00	1390,00	590,00	-2,16	0,03	70,00	24,00
Cd	3461,00	1004,00	704,00	1,17	0,24	70,00	24,00
Sn	3487,00	978,00	702,00	1,00	0,32	71,00	23,00
Sb	3451,00	1014,00	714,00	1,09	0,28	70,00	24,00
Ba	3582,00	883,00	583,00	2,22	0,03	70,00	24,00
Hg	3472,00	993,00	717,00	0,87	0,38	71,00	23,00
Pb	3195,00	1270,00	710,00	-1,12	0,26	70,00	24,00
U	3159,50	1305,50	674,50	-1,43	0,15	70,00	24,00
Ti	3486,00	979,00	679,00	1,39	0,16	70,00	24,00
Ga	3506,00	959,00	659,00	1,57	0,12	70,00	24,00

A fim de verificar a existência de correlação entre as variáveis, realizou-seo teste não paramétrico de Spearman. O teste de significância da correlação entre variáveis quantitativas se baseia na hipótese nula, ou seja, que não existenenhuma correlação entre as variáveis ( $r = 0$ ), sujeitando o p-valor à influência,

tanto da dimensão do efeito, quanto do tamanho amostral. Para tal, os resultados foram divididos em grupo dos fumantes e dos não fumantes.

Entre os fumantes, foram obtidas correlações muito elevadas ( $r > 0,8$ ) para os seguintes pares de elementos: Ba/Ga; V/Fe; Cr/Co. Com correlações elevadas ( $0,8 > r > 0,7$ ), foram identificados Cr/Se; V/Mn; Ca/Sr; Co/Se; Ga/Mn; Cu/Pb; e Sr/Ba. Por último, correlações moderadas ( $0,7 > r > 0,6$ ) foram obtidas para P/S; S/Cu; S/Zn; Sr/Mg; Ba/Ca; Ga/Ca; V/Cd; V/Ti; As/Cr; Ba/Mn; Pb/Fe; Ti/Fe; Co/As; As/Se; Sr/Ga; Al/Ti; Cd/Sn (Figura 10).

Para o grupo dos não fumantes, as correlações muito elevadas ( $r > 0,8$ ) foram observadas entre Ba/Ga; V/Mn; Sr/Ca; e Sr/Ba. Para as correlações elevadas ( $0,8 > r > 0,7$ ) foram associados Cr/Co; Sr/Mg; Al/V; Mn/Sb; Mn/Ba; Ga/Mn; Fe/Ti; Al/Sb; Sr/Ga; e Cd/Sn. As correlações moderadas ( $0,7 > r > 0,6$ ) foram obtidas para Fe/Li; Mg/Ca; Zn/S; V/Fe; Mn/Fe; V/Sb; V/Ba; Ca/Ba; Mn/Al; Fe/Al; Co/Se; Co/I; Mn/Ti; Ga/Ca; V/Ga; Al/Ni; Al/Ti; Cd/Ba; Sb/Pb; Sb/Ti; e Cr/Se (Figura 11).

Coeficientes da Correlação de Spearman - FUMANTES - SIM																													
Na	1,00	Mg																											
Mg	-0,06	1,00	P																										
P	0,19	-0,08	1,00	S																									
S	0,25	-0,06	0,69	1,00	Ca																								
Ca	-0,13	0,50	-0,24	0,16	1,00	V																							
V	-0,27	0,16	0,15	-0,03	0,07	1,00	Cr																						
Cr	-0,31	-0,30	-0,07	-0,35	-0,11	0,14	1,00	Mn																					
Mn	-0,03	0,13	-0,24	-0,15	0,33	0,71	0,24	1,00	Fe																				
Fe	-0,17	0,11	0,32	0,28	0,17	0,81	-0,06	0,58	1,00	Co																			
Co	-0,47	-0,20	-0,14	-0,28	0,01	0,49	0,81	0,41	0,20	1,00	Cu																		
Cu	0,00	-0,07	0,50	0,67	0,11	0,24	-0,03	0,11	0,49	0,08	1,00	Zn																	
Zn	0,04	-0,29	0,60	0,61	0,05	-0,19	0,10	-0,22	-0,01	-0,05	0,40	1,00	Se																
Se	-0,35	-0,43	0,05	0,03	-0,12	0,13	0,77	0,16	-0,05	0,79	0,15	0,37	1,00	Sr															
Sr	-0,25	0,67	-0,32	-0,09	0,71	0,29	-0,04	0,52	0,20	0,17	0,09	-0,28	-0,11	1,00	Mo														
Mo	0,29	0,18	0,48	0,42	0,13	0,39	-0,25	0,22	0,49	-0,11	0,19	0,09	-0,12	0,00	1,00	I													
I	-0,46	0,31	-0,13	-0,43	0,13	0,43	0,51	0,46	0,15	0,57	-0,03	-0,22	0,31	0,47	-0,04	1,00	Al												
Al	-0,14	0,19	0,04	-0,06	0,10	0,44	-0,21	0,20	0,45	0,00	0,14	-0,23	-0,23	0,10	0,31	0,37	1,00	Ni											
Ni	-0,39	-0,15	-0,31	-0,24	0,18	0,08	0,60	0,47	-0,09	0,54	0,06	0,08	0,58	0,33	-0,34	0,51	-0,19	1,00	As										
As	-0,08	-0,46	0,29	-0,02	-0,45	0,38	0,64	0,20	0,26	0,65	0,17	0,23	0,61	-0,32	0,06	0,25	0,03	0,17	1,00	Ag									
Ag	-0,46	0,40	-0,11	-0,03	0,32	0,35	-0,01	0,29	0,47	0,11	0,41	-0,07	-0,12	0,44	0,08	0,29	0,32	0,17	-0,21	1,00	Cd								
Cd	-0,37	0,19	-0,05	-0,02	0,12	0,62	-0,04	0,45	0,39	0,34	0,30	-0,24	-0,02	0,50	-0,11	0,44	0,40	0,30	0,11	0,30	1,00	Sn							
Sn	-0,13	0,41	-0,07	-0,08	-0,02	0,50	-0,27	0,17	0,16	0,14	-0,02	-0,44	-0,14	0,34	0,06	0,24	0,28	-0,16	-0,10	0,15	0,68	1,00	Sb						
Sb	-0,29	0,04	0,09	-0,24	-0,19	0,57	0,25	0,33	0,39	0,41	0,29	-0,30	0,15	0,15	0,04	0,58	0,45	0,31	0,27	0,23	0,57	0,32	1,00	Ba					
Ba	-0,12	0,17	-0,45	-0,08	0,67	0,27	0,19	0,68	0,17	0,37	0,22	-0,21	0,11	0,74	-0,04	0,41	0,12	0,56	-0,14	0,35	0,47	0,15	0,15	1,00	Hg				
Hg	0,16	0,25	0,18	0,22	0,04	-0,16	0,17	-0,01	-0,20	0,07	0,13	0,37	0,34	0,02	0,01	0,13	-0,10	0,34	0,02	0,03	-0,06	0,00	0,02	-0,03	1,00	Pb			
Pb	-0,31	-0,19	0,24	0,48	0,12	0,43	0,05	0,31	0,60	0,29	0,71	0,19	0,35	0,17	0,10	-0,06	0,03	0,12	0,18	0,43	0,33	0,11	0,12	0,25	-0,19	1,00	U		
U	-0,31	0,48	0,24	0,24	0,33	0,27	-0,20	-0,05	0,41	-0,01	0,46	-0,07	-0,16	0,45	0,05	0,17	0,33	-0,13	-0,13	0,34	0,40	0,21	0,41	0,08	-0,06	0,35	1,00	Ti	
Ti	-0,03	0,33	0,13	0,06	-0,02	0,69	-0,26	0,31	0,69	0,03	0,22	-0,33	-0,28	0,03	0,43	0,09	0,64	-0,35	0,19	0,36	0,39	0,41	0,38	-0,07	-0,16	0,21	0,38	1,00	Ga
Ga	-0,17	0,10	-0,44	-0,07	0,65	0,30	0,22	0,70	0,22	0,39	0,23	-0,21	0,16	0,68	-0,03	0,40	0,15	0,58	-0,13	0,33	0,46	0,10	0,19	0,98	-0,05	0,29	0,06	-0,07	1,00

Figura 10: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos FUMANTES.

Coeficientes da Correlação de Spearman - FUMANTES - NÃO																																	
Na	1,00																																
Mg	0,11	1,00																															
P	0,29	0,12	1,00																														
S	-0,03	0,06	0,46	1,00	Ca																												
Ca	0,14	0,69	0,17	0,20	1,00	V																											
V	-0,11	0,28	0,12	-0,11	0,36	1,00	Cr																										
Cr	0,06	0,19	0,06	-0,32	0,16	0,51	1,00	Mn																									
Mn	0,11	0,28	0,15	-0,20	0,40	0,80	0,51	1,00	Fe																								
Fe	0,15	0,24	0,26	0,01	0,34	0,63	0,40	0,64	1,00	Co																							
Co	0,16	0,34	0,15	-0,25	0,27	0,52	0,72	0,51	0,37	1,00	Cu																						
Cu	-0,13	0,17	0,07	0,26	0,43	0,39	0,20	0,26	0,25	0,26	1,00	Zn																					
Zn	0,20	0,12	0,50	0,63	0,13	-0,22	-0,11	-0,22	0,08	-0,08	0,06	1,00	Se																				
Se	0,11	0,10	0,09	-0,13	0,11	0,31	0,62	0,29	0,29	0,61	0,14	-0,07	1,00	Sr																			
Sr	-0,02	0,73	-0,04	0,00	0,82	0,58	0,20	0,54	0,34	0,33	0,33	-0,20	0,14	1,00	Mo																		
Mo	-0,04	0,05	0,05	0,41	0,24	0,31	-0,04	0,23	0,26	-0,06	0,22	0,05	0,05	0,21	1,00	I																	
I	-0,10	0,09	-0,05	-0,29	0,05	0,47	0,49	0,26	0,11	0,62	0,25	-0,33	0,53	0,20	-0,11	1,00	Al																
Al	-0,04	0,15	-0,02	-0,17	0,15	0,75	0,39	0,61	0,68	0,33	0,17	-0,33	0,22	0,32	0,30	0,34	1,00	Ni															
Ni	0,02	0,15	-0,06	-0,23	0,08	0,50	0,57	0,49	0,37	0,56	0,20	-0,27	0,38	0,27	-0,01	0,42	0,62	1,00	As														
As	0,27	-0,01	0,34	-0,14	-0,20	0,26	0,41	0,38	0,45	0,45	-0,18	0,10	0,31	-0,11	0,00	0,05	0,26	0,32	1,00	Ag													
Ag	0,05	0,10	-0,05	-0,18	0,17	0,21	0,21	0,18	0,27	0,14	0,17	-0,04	0,09	0,18	0,12	0,15	0,17	0,06	0,26	1,00	Cd												
Cd	-0,01	0,15	-0,15	-0,16	0,30	0,55	0,22	0,61	0,28	0,28	0,35	-0,27	0,09	0,50	0,09	0,14	0,35	0,33	0,06	0,02	1,00	Sn											
Sn	-0,22	0,03	-0,30	-0,22	0,22	0,52	0,22	0,42	0,13	0,12	0,33	-0,54	0,16	0,43	0,20	0,27	0,40	0,32	-0,15	-0,01	0,72	1,00	Sb										
Sb	0,03	0,09	-0,03	-0,22	0,15	0,69	0,46	0,75	0,58	0,34	0,22	-0,41	0,25	0,35	0,30	0,23	0,73	0,48	0,34	0,19	0,55	0,49	1,00	Ba									
Ba	-0,04	0,51	0,02	-0,04	0,62	0,64	0,33	0,73	0,47	0,47	0,32	-0,14	0,18	0,81	0,14	0,26	0,41	0,38	0,05	0,07	0,66	0,47	0,50	1,00	Hg								
Hg	0,08	-0,01	0,08	0,22	0,03	0,04	-0,17	-0,12	-0,04	-0,07	0,19	-0,05	0,02	0,09	0,02	0,13	-0,02	0,00	-0,08	0,17	0,13	0,05	0,03	-0,02	1,00	Pb							
Pb	0,07	0,14	0,14	-0,08	0,23	0,50	0,39	0,53	0,49	0,52	0,38	-0,13	0,28	0,33	0,12	0,21	0,36	0,27	0,23	0,23	0,49	0,24	0,62	0,53	0,15	1,00	U						
U	-0,09	0,23	0,18	0,30	0,38	0,45	0,06	0,25	0,42	0,19	0,41	0,23	0,16	0,35	0,38	0,30	0,25	0,09	-0,03	0,23	0,10	0,06	0,16	0,39	0,12	0,15	1,00	Ti					
Ti	0,27	0,07	0,37	-0,14	0,10	0,60	0,52	0,61	0,72	0,38	0,11	0,00	0,37	0,12	0,11	0,15	0,62	0,44	0,57	0,16	0,27	0,11	0,69	0,25	-0,01	0,42	0,15	1,00	Ga				
Ga	-0,06	0,50	0,05	0,00	0,62	0,67	0,32	0,73	0,50	0,43	0,34	-0,12	0,16	0,79	0,17	0,21	0,43	0,36	0,05	0,09	0,64	0,46	0,53	0,99	-0,02	0,55	0,40	0,28	1,00				

Figura 11: Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos NÃO FUMANTES.

Com isso, observamos correlações semelhantes entre os grupos como o Ba/Ga com correlação elevada para ambos, entretanto podemos perceber que, no grupo de fumantes, os elementos tóxicos apresentam uma correlação mais elevada em comparação aos não fumantes, como Cr/Co; Co/Se; e Cr/Se, que são elementos presentes nos cigarros. Para o grupo dos não fumantes, apareceram correlações mais elevadas para os elementos essenciais, como Ca/Sr (BORGARDING E KLUS, 2008).

Algumas correlações foram encontradas apenas para o grupo dos fumantes como Cu/Pb; As/Cr; Co/As; As/Se; V/Cd, entre outros. É possível perceber correlações em sua maioria entre elementos tóxicos, como o As e Cr que são elementos cancerígenos presentes nos cigarros segundo Bernhard et al. (2015) (Figura 12).

Figura 12: 1- A Gráfico de dispersão entre Pb e Cu para fumantes. 1- B Gráfico de dispersão entre Pb e Cu para não fumantes. 2- A Gráfico de dispersão entre As e Cr para fumantes. 2- B Gráfico de dispersão entre As e Cr para não fumantes. 3 - A Gráfico de dispersão entre Co e As para fumantes.3- B Gráfico de dispersão entre Co e As para não fumantes.

#### 4.4.2. Resultado Da Análise Dos Componentes Principais

Para a análise multivariada de dados, foram utilizados os dados transformados por BOXCOX mencionado no início do capítulo. Além disso, foi necessário realizar a padronização de dados por meio do z-score. Primeiramente, fez-se a análise de cluster (dendrograma). Utilizou-se o método de Ward e as distâncias euclidianas, a análise foi realizada separando as amostras entre os 2 grupos de estudo não fumantes (figura 13) e fumantes (figura 14).

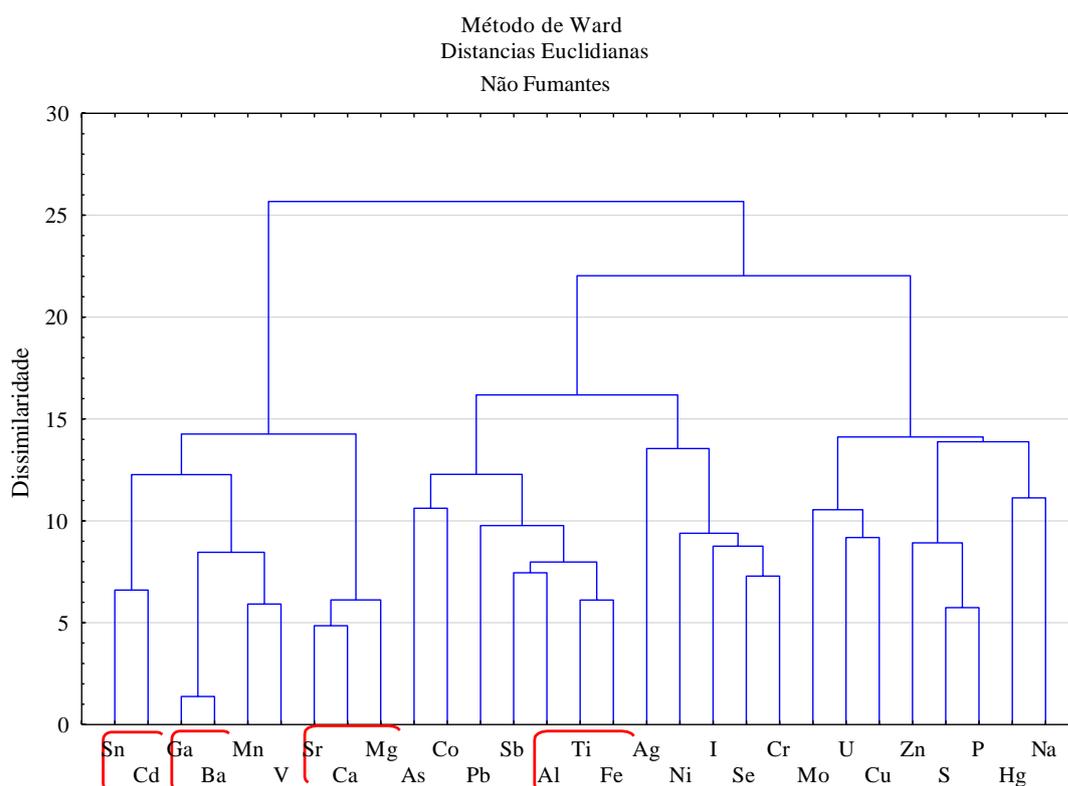


Figura 13: Agrupamentos das variáveis para o grupo Não fumante (Do autor).

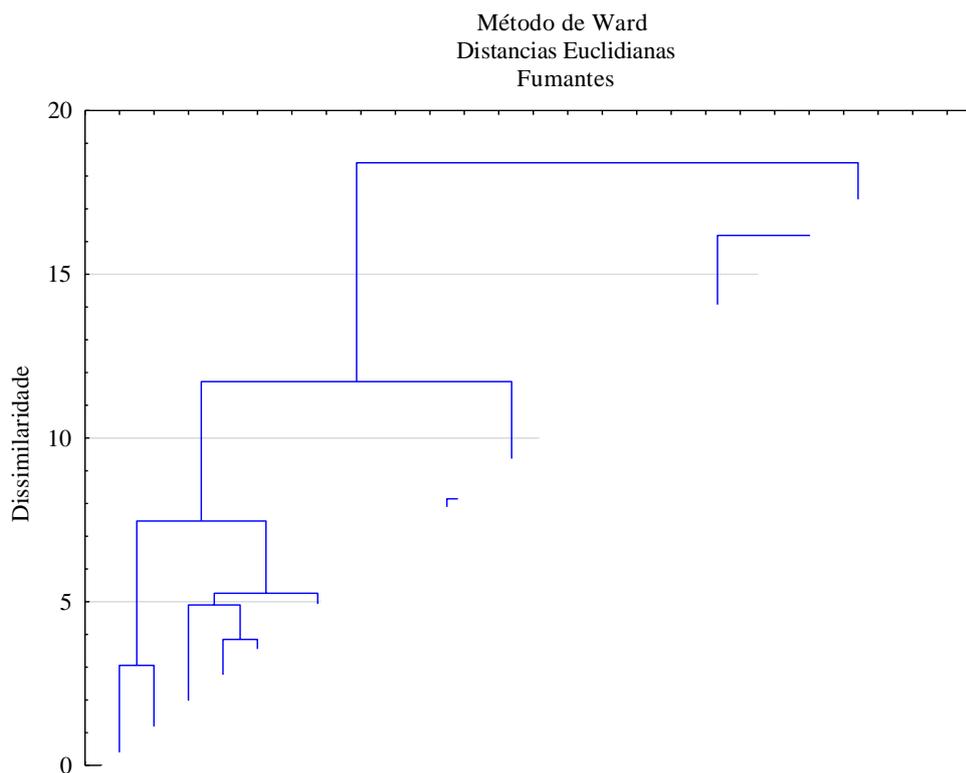


Figura 14: Agrupamentos das variáveis para o grupo fumante (Do autor).

O estudo foi realizado comprando os dois resultados. Observou-se em ambos a divisão em 2 grandes clusters. No dendrograma referente ao grupo dos fumantes atenta-se para a aproximação dos elementos tóxicos (Se, Cr, As e Co) enquanto para o dendrograma dos não fumantes, os mesmos elementos encontram-se dispersos e não agrupados, corroborando com o que visto na correlação de Spearman, uma correlação entre os fumantes com os elementos tóxicos que estão presentes no cigarro.

Verificou-se que em ambos dendogramas apresentaram a formação de agrupamentos semelhantes como o Sn e C; Sr, Ca e Mg, que também foram observados durante a análise de correlações.

A abordagem estatística apontou vinte e dois fatores que, juntos, explicam um percentual de 100% da variabilidade dos dados. Conforme pode ser visto pelo gráfico de Scree (Figura 15), a partir do sexto componente principal a variação percentual total que cada fator explica muda pouco, formando uma linha praticamente reta, indicando que, a partir do sexto componente principal, as componentes respondem por uma proporção baixa da variabilidade dos dados,

significando que estes fatores não terão uma contribuição relevante para este estudo estatístico.

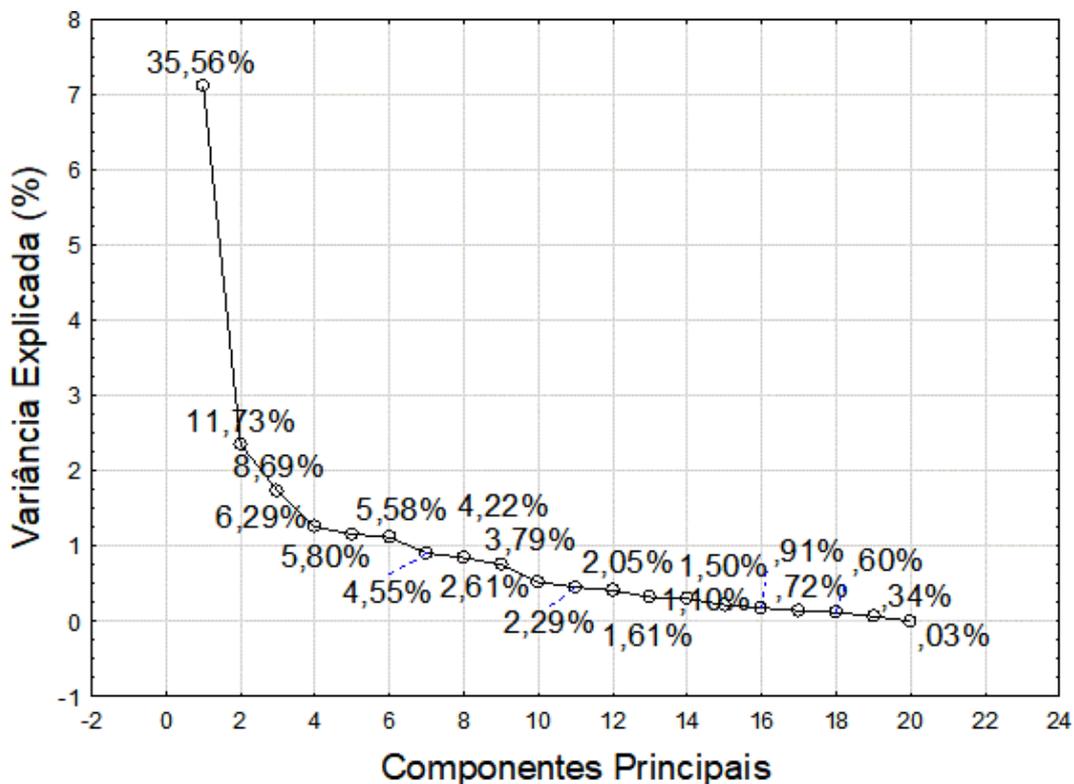


Figura 15: Gráfico Scree utilizado para a escolha do número de componentes principais (Do autor).

Na análise multivariada de dados, os seis primeiros fatores explicam cerca de 73 % da variância total, sendo que: o Fator 1 (F1) explica quase 33 % da variância, o Fator 2 (F2) 12,3 %, o Fator 3 (F3) 10,1 %, o Fator 4 (F4) 6,7 %, o Fator 5 (F5) 6,0 % e o fator 6 (F6) 5,1% (Tabela 11).

Tabela 11: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor).

Component e Principal	Autovalor	Variância explicada (%)	Autovalor acumulado	% Variância acumulada
1	7,112180	35,56090	7,11218	35,56090
2	2,345911	11,72956	9,45809	47,29046
3	1,738810	8,69405	11,19690	55,98451
4	1,258808	6,29404	12,45571	62,27855
5	1,160546	5,80273	13,61626	68,08128
6	1,116776	5,58388	14,73303	73,66516

A utilização da rotação Varimax aumenta a definição da carga de cada elemento nos fatores em estudo (Tabela 12).

Tabela 12: Cargas relacionadas a cada um dos fatores após a rotação varimax. Destaque em vermelho para as variáveis relacionadas em cada fator.

Variável	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Na	0,109460	0,164063	-0,196534	-0,110128	<b>-0,819678</b>	0,118264
Mg	<b>0,829847</b>	0,084120	-0,161045	0,035560	0,021199	0,017718
Ca	<b>0,904314</b>	0,139853	0,018304	-0,086203	-0,051383	0,006998
Mn	0,547734	0,493781	0,399271	0,272037	-0,068531	-0,002782
Fe	0,323824	<b>0,854464</b>	0,005654	-0,027569	0,001729	0,033911
Co	-0,303612	0,254740	0,086613	0,459216	0,205519	0,021294
Sr	<b>0,910221</b>	0,083664	0,250706	0,119402	0,052130	0,051542
I	0,275226	0,098295	0,141168	<b>0,705421</b>	0,135518	0,249767
Al	0,106927	<b>0,703358</b>	0,238012	0,251284	0,053688	-0,108538
Ni	0,237005	0,261537	0,271171	0,629567	-0,266939	0,038526
Ag	0,020771	-0,214798	-0,159251	0,537128	0,150028	-0,363637
Cd	0,306858	0,240521	<b>0,805279</b>	0,058504	-0,014886	0,111032
Sn	0,188516	0,053271	<b>0,817254</b>	0,065865	0,207379	-0,051600
Sb	0,098999	0,658046	0,527297	0,166145	0,000599	-0,011896
Ba	<b>0,791360</b>	0,173877	0,445481	0,170267	-0,025097	0,046648
Hg	0,041070	-0,083655	0,015763	0,085899	-0,019578	<b>0,883542</b>
Pb	0,134251	0,495230	0,329419	0,011608	-0,036872	0,347293
U	0,387176	0,363155	-0,107373	-0,186497	0,588651	0,296524
Ti	0,086535	<b>0,880458</b>	0,101486	0,015587	-0,075573	-0,038095
Ga	<b>0,761434</b>	0,209387	0,466132	0,142281	0,010995	0,028362

A Figura 16 mostra um gráfico relacionando a primeira componente principal com a segunda componente principal.

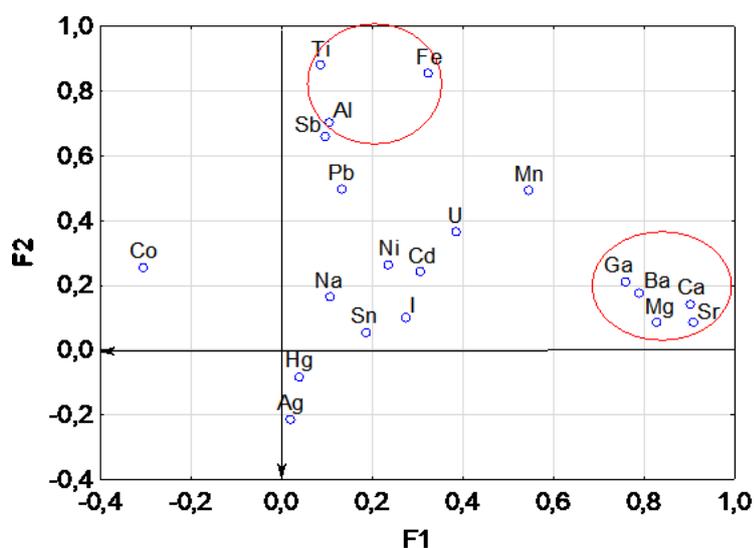


Figura 16: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2

É possível observar que a associação entre Ga, Mg, Ca e Sr exerce uma forte influência no fator 1, associação já vista nas correlações e no dendrograma. O segundo fator indica um predomínio de Li, Al e Ti, elementos que também foram vistos nas correlações, porém aparecem na análise de componentes principais como um grupo bem definido que não tinha sido observado anteriormente.

O terceiro fator (figura 17) mostra uma associação entre, que apresentava maior correlação para o grupo dos não fumantes.

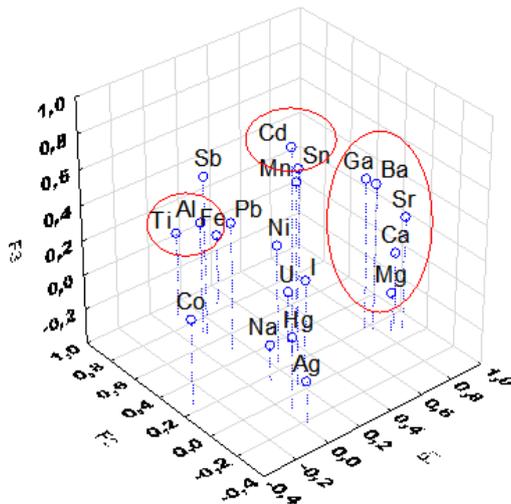


Figura 17: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 versus Fator 3

Correlacionando os fatores dos *loadings* e dos *scores* (figura 18) não é possível determinar grupos bem definidos de fumantes e não fumantes, portanto, não é possível correlacionar um grupo de elementos específicos ao fumo.

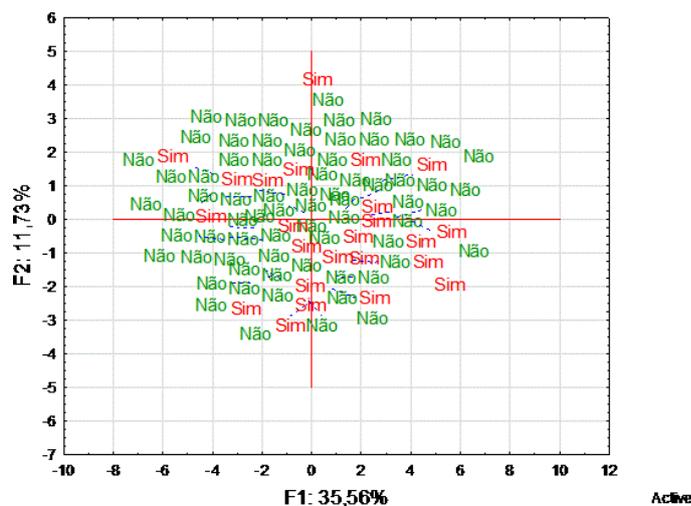


Figura 18: Gráfico de dispersão de scores Fumantes x Não Fumantes

## 4.5. Análise Dos Resultados – Anticoncepcional

### 4.5.1. Avaliação Estatística Das Concentrações

Por meio da análise gráfica dos box-plot e com auxílio do teste de Kruskal-Wallis e Mann Whitney, observou-se quais variáveis apresentaram diferença significativa entre os grupos de mulheres que usam e que não usam anticoncepcional (Figura 19).

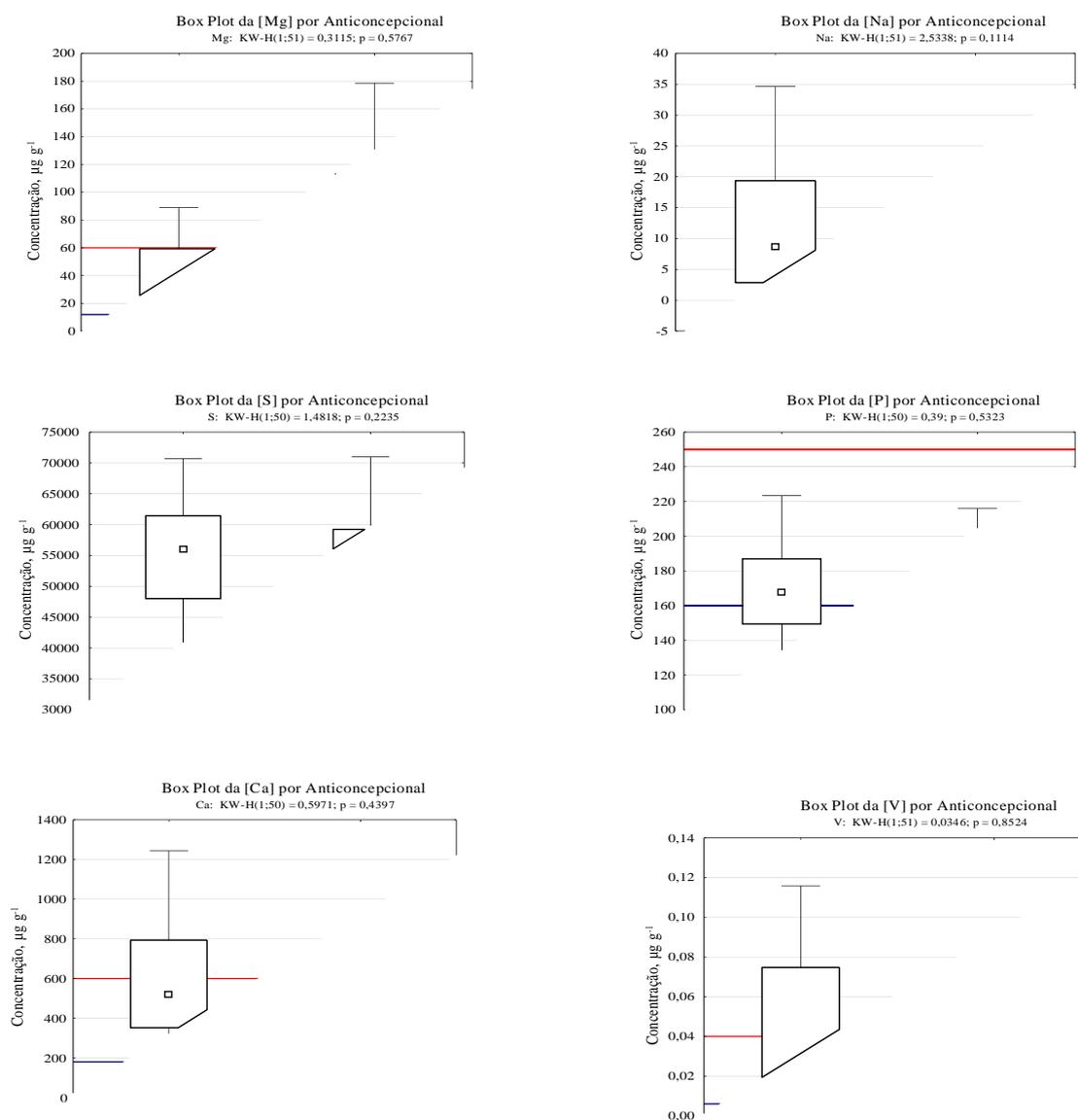


Figura 19: Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para mulheres que tomam ou não anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo.

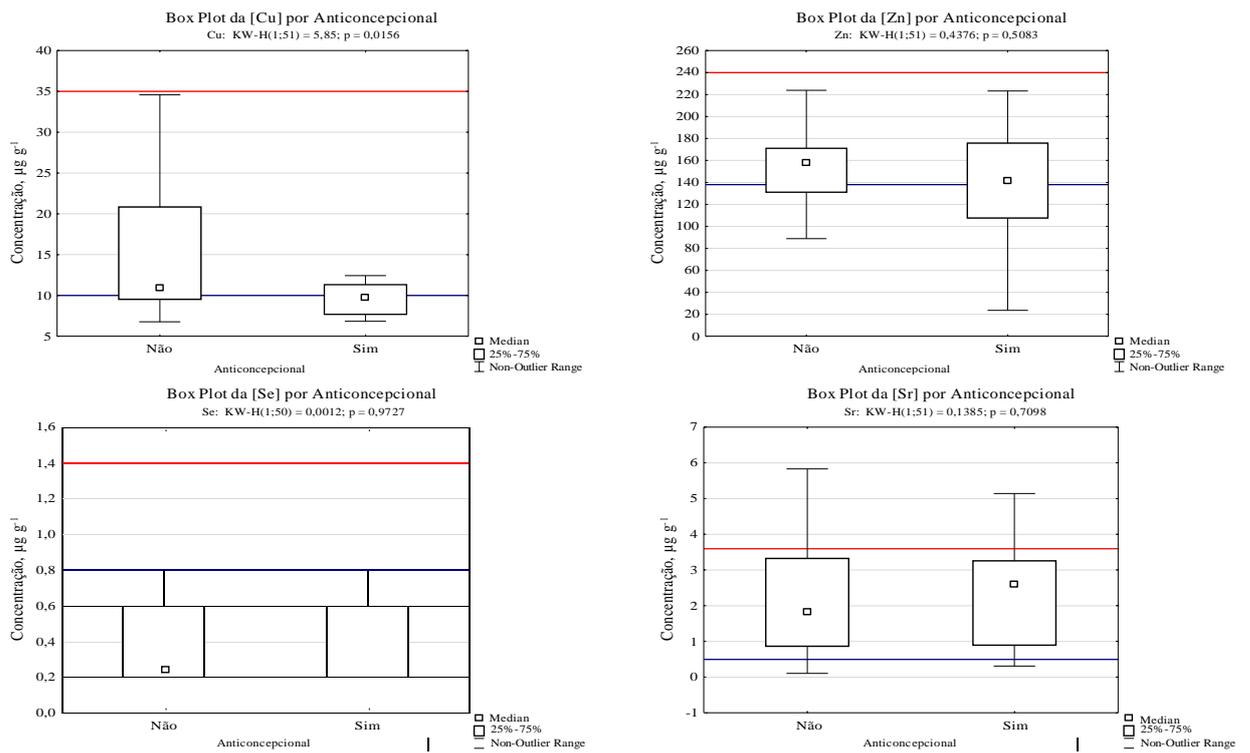


Figura 19, continuação: Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo.

Figura 19, continuação: Box plot da concentração dos elementos essenciais e outros para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002), enquanto a azul, o mínimo.

Com isso, observou-se que apenas os elementos Cu apresentaram diferença significativa entre os grupos. Verificou-se que o grupo das pessoas que usam anticoncepcional apresentou menor média da concentração desses elementos, em relação às pessoas que não fazem uso contínuo desse medicamento.

O cobre desempenha um papel de significância vital como componente central em diversas enzimas que desempenham funções cruciais em processos bioquímicos essenciais. Suas funções abrangem a regulação do equilíbrio pró-oxidante e antioxidante, a geração de energia, a síntese e metabolismo de neurotransmissores, o processamento de hormônios peptídicos, a produção de heme e a utilização de ferro (LINDER, 2010). Diferentemente do resultado encontrado, a maioria dos estudos relatam que o uso de contraceptivos aumenta os níveis de cobre, entretanto essa afirmação se resume apenas aos anticoncepcionais orais e em níveis plasmáticos (CREWS, 1980; VIR E LOVE, 1981; PETROLI et al., 2021). No presente estudo foram utilizados anticoncepcionais orais e injetáveis, devido ao n amostral.

Na análise gráfica é possível perceber um leve aumento nas concentrações de cobre nos cabelos das mulheres que tomam anticoncepcionais orais, entretanto a diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ) (Figura 20).

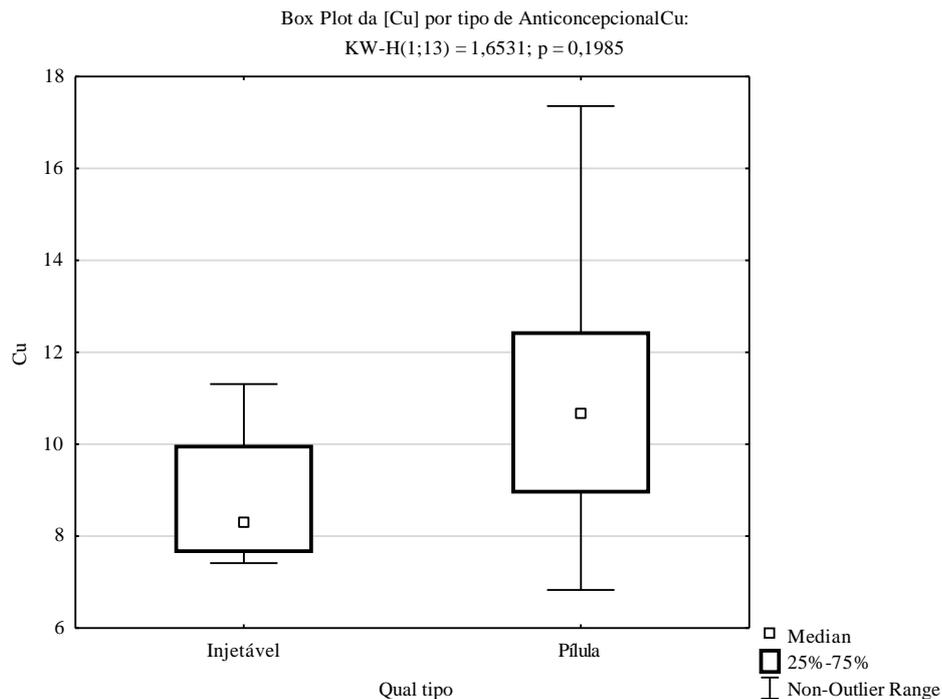


Figura 20: Box plot da concentração do cobre para os tipos de anticoncepcionais.

Contudo, a fim de tornar esse resultado mais fidedigno, faz-se necessário o aumento do número amostral de pessoas que fazem o uso de anticoncepcionais hormonais orais e injetáveis, assim como uma comparação entre os níveis plasmáticos e os encontrados no cabelo através do mineralograma.

Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre os elementos tóxicos em relação ao uso de anticoncepcional (Figura 21).

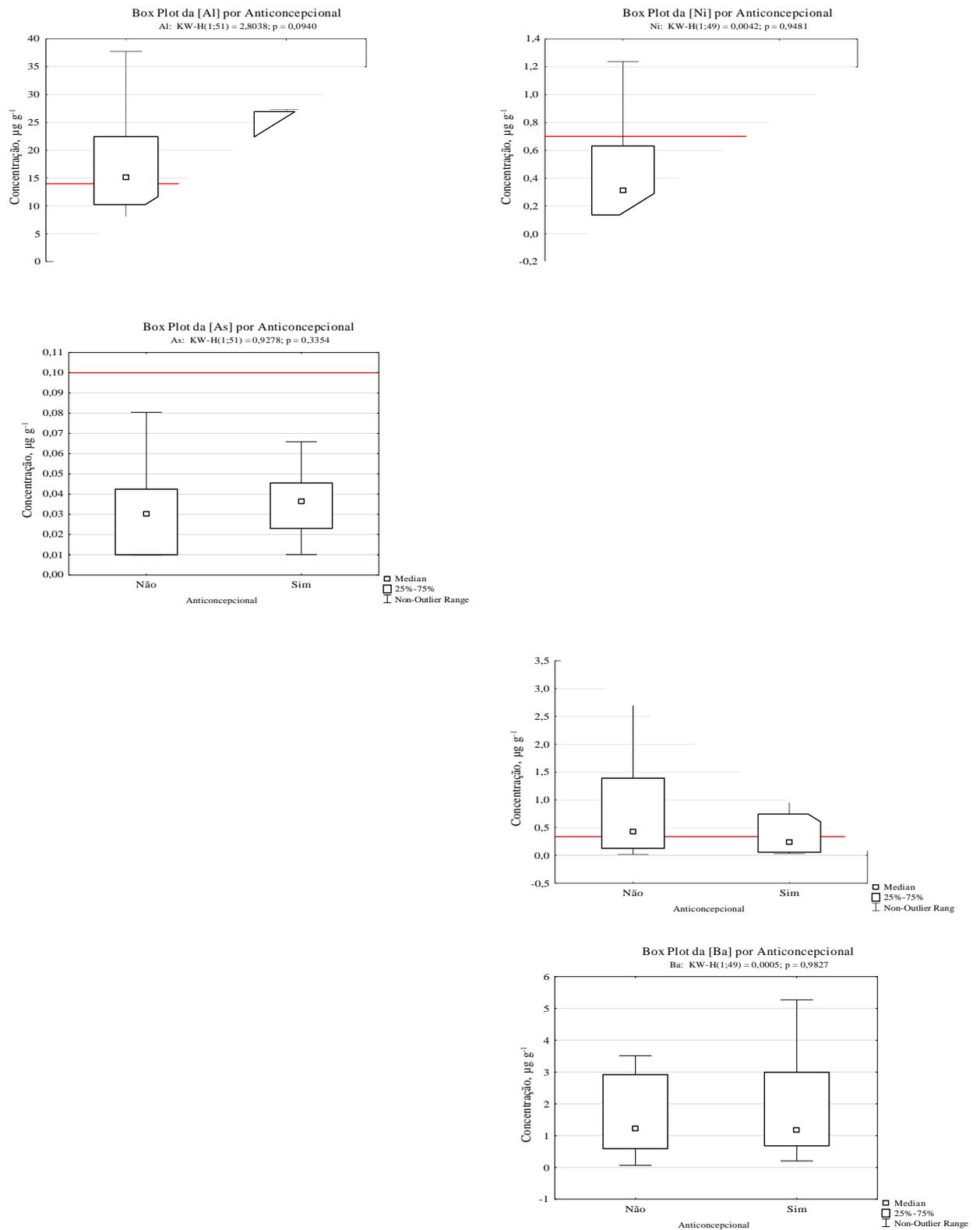


Figura 21: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).

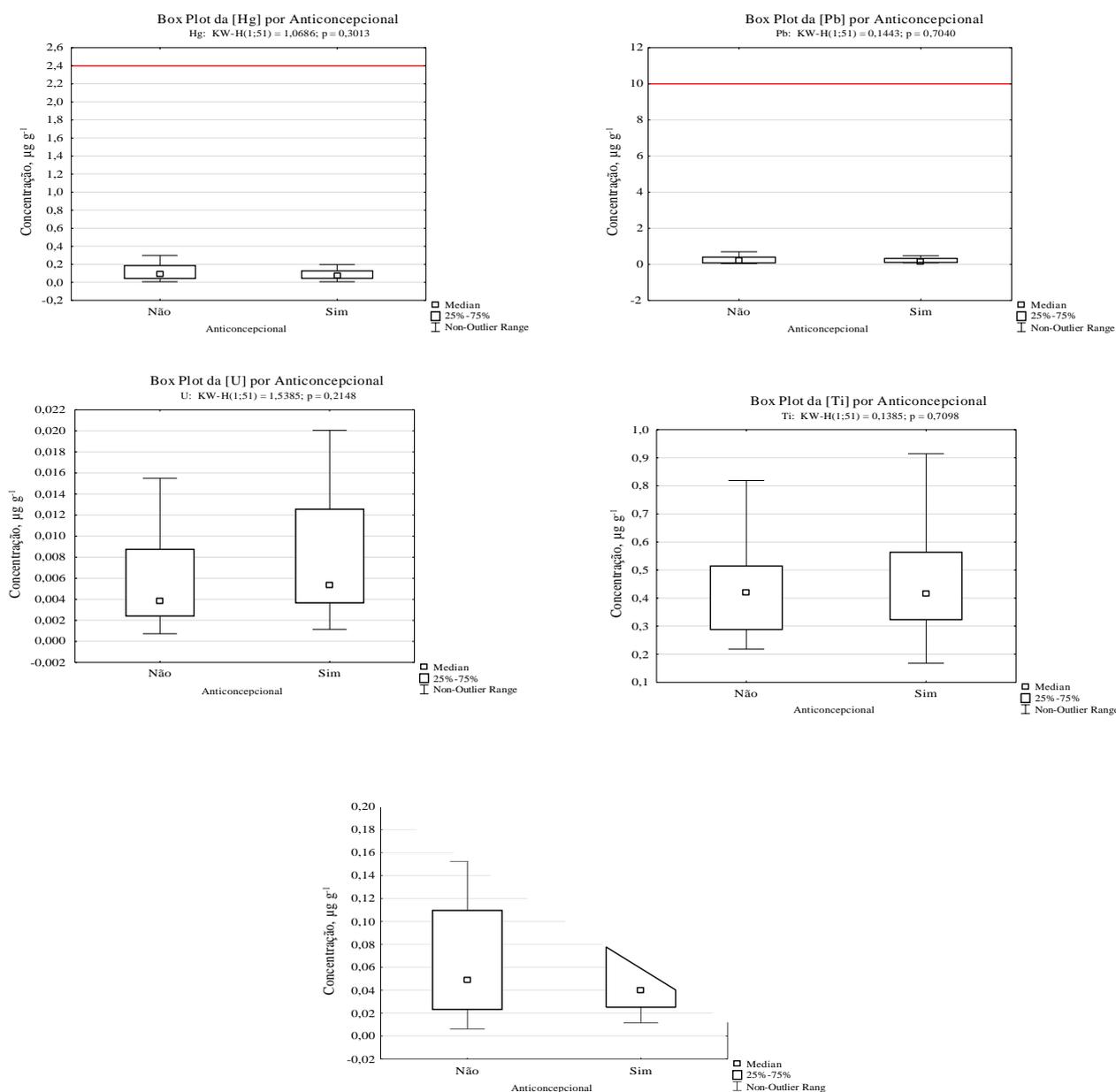


Figura 21, continuação: Box plot da concentração dos elementos tóxicos para anticoncepcional. Linha vermelha indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO et al. (2002).

Buscando verificar possíveis correlações entre os elementos, principalmente os essenciais, foi realizada a correlação de Spearman para os dois grupos separados: usam anticoncepcional/ não usam anticoncepcional.

Para mulheres que usam anticoncepcional foram observadas as seguintes correlações: muito elevadas ( $r > 0,8$ ) entre Ba/Ga; Sr/Mg; Al/Mn; Co/Se; e Co/I. Correlações elevadas ( $0,8 > r > 0,7$ ) foram associadas a Ca/Mg; Zn/S; Cd/S; Ga/Ca; Mn/Ti; Co/As; Se/As; I/Cd; Al/Cd; Al/Ti; e Cd/S. Por último, correlações

moderadas ( $0,7 > r > 0,6$ ) foram obtidas para Cu/Mg; Zn/Mg; Sb/Na; I/S; Al/S; Ba/Ca; Ti/V; V/Mn; Fe/V; Mn/Fe; Cd/Mn; Co/Cd; Cd/Zn; Sr/Ba; e Ga/Sr (Figura 22). Analisando as correlações entre as mulheres que não fazem o uso de anticoncepcionais hormonais, foram obtidas correlações muito elevadas ( $r > 0,8$ ) entre V/Mn; S/Ca; Sr/Ba; Ga/Sr; Sb/Ti; Ba/Ga; e Mn/Fe. Para as correlações elevadas ( $0,8 > r > 0,7$ ), foram associados Ca/Mg; Sr/Mg; Cr/Co; Ga/V; Ga/Mn; e Cd/Sn. E correlações moderadas ( $0,7 > r > 0,6$ ) foram obtidas para Zn/s; V/Co; V/Sr; V/I; V/Al; V/Cd; Mn/Co; Mn/Al; Mn/Sb; Mn/Ba; Mn/Ti; Co/Ni; Co/Ba; Co/Pb; Zn/Sn; Al/Ti; Al/Ni; Al/Sb; Cd/Ba; Cd/Ga; Ga/Ca; Ca/Ba; e Co/Cd (Figura 23).

Coeficientes da Correlação de Spearman - ANTICONCEPCIONAL - SIM																													
Na	1,00																												
Mg	-0,25	1,00																											
P	0,07	0,08	1,00																										
S	-0,24	0,39	0,37	1,00																									
Ca	0,08	0,73	-0,11	0,08	1,00																								
V	-0,26	-0,02	0,19	-0,25	-0,01	1,00																							
Cr	-0,23	0,05	-0,16	-0,51	-0,07	0,32	1,00																						
Mn	0,11	-0,18	0,16	-0,45	0,01	0,65	0,18	1,00																					
Fe	0,08	0,34	0,43	0,03	0,14	0,68	0,19	0,60	1,00																				
Co	0,03	-0,08	0,10	-0,50	-0,14	0,45	0,40	0,52	0,40	1,00																			
Cu	0,15	0,62	0,51	0,39	0,45	-0,06	-0,19	-0,09	0,27	0,11	1,00																		
Zn	-0,26	0,65	0,29	0,73	0,20	0,09	-0,22	-0,33	0,33	0,02	0,59	1,00																	
Se	0,20	-0,01	0,02	-0,33	-0,12	0,30	0,00	0,32	0,39	0,80	0,16	0,20	1,00																
Sr	-0,08	0,80	-0,20	0,04	0,88	-0,06	-0,01	0,11	0,20	-0,05	0,40	0,18	-0,04	1,00															
Mo	0,26	0,25	0,39	0,32	0,23	0,35	-0,28	0,25	0,56	0,03	0,29	0,45	0,06	0,11	1,00														
I	-0,10	-0,36	-0,01	-0,64	-0,38	0,37	0,59	0,46	0,15	0,87	-0,18	-0,30	0,55	-0,26	-0,27	1,00													
Al	0,20	-0,26	0,00	-0,65	0,05	0,63	0,29	0,89	0,43	0,39	-0,13	-0,53	0,19	0,09	0,11	0,45	1,00												
Ni	0,21	-0,25	-0,16	-0,28	-0,20	0,28	0,19	0,16	0,13	0,09	0,11	-0,17	0,06	-0,19	-0,14	0,18	0,41	1,00											
As	0,54	-0,20	0,00	-0,34	-0,18	0,29	0,16	0,42	0,50	0,71	0,02	0,06	0,72	-0,19	0,36	0,49	0,30	0,21	1,00										
Ag	0,35	0,25	0,10	-0,37	0,28	0,19	0,51	0,19	0,39	0,59	0,28	0,10	0,47	0,18	0,26	0,44	0,24	-0,08	0,58	1,00									
Cd	0,22	-0,38	-0,12	-0,76	-0,07	0,20	0,29	0,65	0,00	0,61	-0,12	-0,62	0,28	0,03	-0,08	0,71	0,72	0,21	0,37	0,32	1,00								
Sn	0,10	-0,29	0,07	-0,49	-0,08	0,08	0,16	0,45	-0,01	0,33	-0,14	-0,56	-0,08	0,05	0,02	0,44	0,49	0,14	0,08	0,01	0,83	1,00							
Sb	0,66	-0,15	0,33	-0,34	0,00	0,06	0,00	0,43	0,31	0,10	0,35	-0,35	0,10	0,02	0,15	0,09	0,60	0,52	0,26	0,24	0,45	0,42	1,00						
Ba	0,01	0,26	-0,24	-0,53	0,68	0,20	0,14	0,33	-0,01	0,22	0,15	-0,32	0,12	0,66	-0,14	0,20	0,51	0,05	-0,12	0,29	0,51	0,38	0,20	1,00					
Hg	0,44	-0,02	-0,09	-0,01	0,27	-0,58	-0,38	-0,36	-0,57	-0,08	0,28	-0,01	0,12	0,09	-0,15	-0,16	-0,30	-0,25	-0,02	0,13	0,03	-0,23	0,02	0,23	1,00				
Pb	0,28	0,37	-0,27	-0,14	0,43	0,06	-0,10	-0,05	0,09	-0,19	0,35	0,11	-0,02	0,51	0,35	-0,30	0,13	0,47	0,01	0,10	0,09	0,13	0,43	0,39	0,08	1,00			
U	-0,46	0,47	-0,17	0,22	0,42	0,18	-0,22	-0,11	-0,02	0,03	0,34	0,44	0,12	0,49	-0,11	-0,12	-0,15	0,16	-0,27	-0,32	-0,19	-0,15	-0,33	0,39	0,06	0,31	1,00		
Ti	0,20	-0,26	0,30	-0,41	-0,20	0,67	0,15	0,72	0,57	0,31	-0,03	-0,24	0,36	-0,20	0,18	0,31	0,78	0,33	0,31	0,23	0,33	0,05	0,58	0,15	-0,28	0,04	-0,25	1,00	
Ga	-0,03	0,30	-0,09	-0,40	0,72	0,19	0,11	0,36	0,03	0,13	0,22	-0,32	-0,03	0,69	-0,13	0,11	0,50	0,02	-0,23	0,19	0,45	0,39	0,24	0,96	0,17	0,31	0,39	0,13	1,00

Figura 22 : Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos USO DO ANTICONCEPCIONAL.

Coeficientes da Correlação de Spearman - ANTICONCEPCIONAL - NÃO																														
Na	1,00																													
Mg	0,08	1,00																												
P	0,37	-0,09	1,00																											
S	-0,06	-0,08	0,52	1,00																										
Ca	0,12	0,74	0,06	-0,10	1,00																									
V	-0,12	0,25	-0,05	-0,25	0,29	1,00																								
Cr	0,11	0,30	-0,19	-0,51	0,19	0,46	1,00																							
Mn	0,12	0,32	0,07	-0,35	0,40	0,83	0,54	1,00																						
Fe	0,15	0,22	0,15	-0,07	0,48	0,46	0,20	0,55	1,00																					
Co	0,03	0,43	0,04	-0,33	0,40	0,63	0,75	0,63	0,44	1,00																				
Cu	-0,09	0,35	0,13	0,03	0,43	0,59	0,29	0,46	0,46	0,55	1,00																			
Zn	0,10	0,08	0,35	0,60	-0,12	-0,40	-0,14	-0,37	-0,04	-0,13	-0,01	1,00																		
Se	0,20	0,14	-0,13	-0,33	0,06	0,28	0,49	0,35	0,19	0,43	0,25	-0,19	1,00																	
Sr	-0,07	0,76	-0,14	-0,23	0,82	0,65	0,30	0,58	0,48	0,47	0,49	-0,34	0,21	1,00																
Mo	0,05	-0,04	0,24	0,59	0,10	0,01	-0,20	-0,01	0,11	-0,25	0,28	0,24	-0,04	-0,10	1,00															
I	-0,17	0,13	-0,21	-0,32	0,15	0,66	0,56	0,47	0,24	0,54	0,45	-0,29	0,56	0,39	-0,07	1,00														
Al	0,00	-0,07	-0,09	-0,14	0,15	0,69	0,31	0,65	0,53	0,30	0,34	-0,33	0,15	0,28	0,34	0,37	1,00													
Ni	-0,13	0,27	-0,26	-0,30	0,28	0,60	0,58	0,56	0,28	0,61	0,20	-0,33	0,25	0,54	0,06	0,48	0,65	1,00												
As	0,25	0,00	0,39	0,02	-0,24	0,11	0,36	0,24	0,01	0,39	0,04	0,27	0,33	-0,13	-0,07	0,03	-0,11	0,00	1,00											
Ag	0,23	0,19	0,08	0,01	0,25	0,22	0,19	0,28	0,34	0,12	0,31	0,15	0,42	0,31	0,24	0,27	0,14	0,13	0,21	1,00										
Cd	-0,20	0,31	-0,34	-0,42	0,26	0,65	0,40	0,57	0,15	0,55	0,35	-0,55	0,33	0,59	-0,35	0,52	0,29	0,47	0,05	-0,10	1,00									
Sn	-0,33	0,04	-0,43	-0,34	0,08	0,54	0,23	0,38	0,13	0,23	0,16	-0,67	0,30	0,40	-0,25	0,48	0,36	0,36	-0,21	-0,22	0,79	1,00								
Sb	0,10	0,06	-0,08	-0,31	0,13	0,63	0,43	0,69	0,45	0,45	0,35	-0,48	0,31	0,31	0,18	0,41	0,69	0,46	0,18	0,17	0,40	0,33	1,00							
Ba	-0,14	0,54	-0,09	-0,32	0,61	0,69	0,33	0,69	0,52	0,61	0,37	-0,38	0,24	0,84	-0,16	0,34	0,33	0,59	-0,02	0,17	0,68	0,45	0,44	1,00						
Hg	0,19	-0,09	0,08	0,12	0,05	0,24	-0,11	0,02	0,07	-0,07	0,14	-0,04	0,00	0,15	0,14	0,12	0,08	0,09	0,06	0,11	0,09	0,07	0,15	0,05	1,00					
Pb	0,18	0,16	0,02	-0,19	0,18	0,47	0,39	0,42	0,42	0,62	0,53	-0,19	0,36	0,29	-0,03	0,32	0,30	0,21	0,10	0,30	0,36	0,12	0,54	0,39	0,09	1,00				
U	-0,10	0,23	-0,02	0,11	0,36	0,36	-0,06	0,20	0,52	0,17	0,51	0,22	0,03	0,39	0,32	0,31	0,29	0,12	-0,13	0,46	0,00	0,01	0,19	0,28	0,02	0,11	1,00			
Ti	0,37	0,05	0,18	-0,28	0,17	0,55	0,38	0,64	0,48	0,42	0,24	-0,32	0,31	0,25	0,10	0,21	0,61	0,35	0,36	0,19	0,25	0,10	0,82	0,35	0,25	0,42	0,07	1,00		
Ga	-0,15	0,51	-0,04	-0,29	0,61	0,72	0,36	0,73	0,59	0,60	0,44	-0,26	0,26	0,83	-0,17	0,38	0,39	0,55	0,01	0,19	0,66	0,48	0,43	0,99	-0,02	0,41	0,37	0,35	1,00	

Figura 23 : Valores do coeficiente de correlação de Spearman para os dados obtidos dos NÃO USO DO ANTICONCEPCIONAL.

Observando as correlações, é possível perceber um maior número de correlações, em ambos os grupos, entre os elementos essenciais Sr/Ca; Ba/Ga; Ca/Mg diferente do que foi observado no estudo dos cigarros. No grupo que faz uso de anticoncepcional, encontramos com alta correlação entre os elementos Co, Se e I, que são minerais importantes para o bom funcionamento do organismo e estão correlacionados com hormônios, principalmente da tireoide.

O selênio encontra-se difundido em vários tecidos do corpo humano, porém sua maior concentração está localizada na tireoide, glândula endócrina situada na região anterior e inferior do pescoço, cuja principal função é a produção dos hormônios que estimulam o metabolismo, além do hormônio calcitonina, que desempenha um papel essencial na homeostase do cálcio (RAYMAN, 2012).

Observou-se uma correlação negativa entre o Zinco e o Cádmiio em ambos os grupos, segundo Cozzolino (1997), o cádmio e outros metais podem se complexar com minerais essenciais como zinco e selênio no trato gastrointestinal e, desta forma, serem excretados, diminuindo a toxicidade dos metais, e conseqüentemente a biodisponibilidade dos elementos essenciais.

#### **4.5.2. Resultado Da Análise Dos Componentes Principais**

O método de cluster foi utilizado, a fim de identificar possíveis agrupamentos entre os elementos, para isso as amostras foram separadas em não usam anticoncepcional e usam anticoncepcional (figuras 24 e 25). Ao comparar os resultados observou-se uma aproximação entre os elementos Se, Co, Cu e Mg para as mulheres que utilizam anticoncepcional. Assim como o Selênio, todos os elementos observados possuem função importante no organismo humano.

O cobre possui diversas propriedades essenciais para o organismo, como o combate ao estresse oxidativo e a síntese de hemoglobina de tecido e dos hormônios adrenalina e tireoidiano (BARBOSA et al, 2010).

O magnésio atua em mais de 300 reações enzimáticas entre elas, podem ser destacas: metabolismo de ATP, transporte iônico, transmembrana de sódio, cálcio, potássio e cloretos; síntese de gorduras e proteínas, ativa a fosfatase alcalina, frutoquinase, hexoquinase; é cofator da síntese de proteínas dos ribossomos, dentre outras funções ( MONTEIRO & VANNUCCHI, 2010).

O cobalto é um micronutriente essencial no organismo humano, desempenhando um papel fundamental como íon central na vitamina B12, vital para a síntese de moléculas cruciais, como ácidos nucleicos e aminoácidos. Em níveis alterados, pode levar à anemia perniciosa, apresentando sintomas como fadiga, diarreia, icterícia e parestesia. Além disso, pode resultar na inativação de enzimas, alterações no metabolismo de carboidratos, dificuldades na captação de oxigênio, hipoglicemia, danos hepáticos, doenças renais graves e redução da captação de iodo pela glândula tireoide, entre outros problemas de saúde (ALVESE ROSA, 2003).

O agrupamento observado para o grupo usa anticoncepcional não foi observado para o grupo não usa anticoncepcional, os elementos estão dispersos. Dessa forma, não foi possível estabelecer uma correlação entre eles.

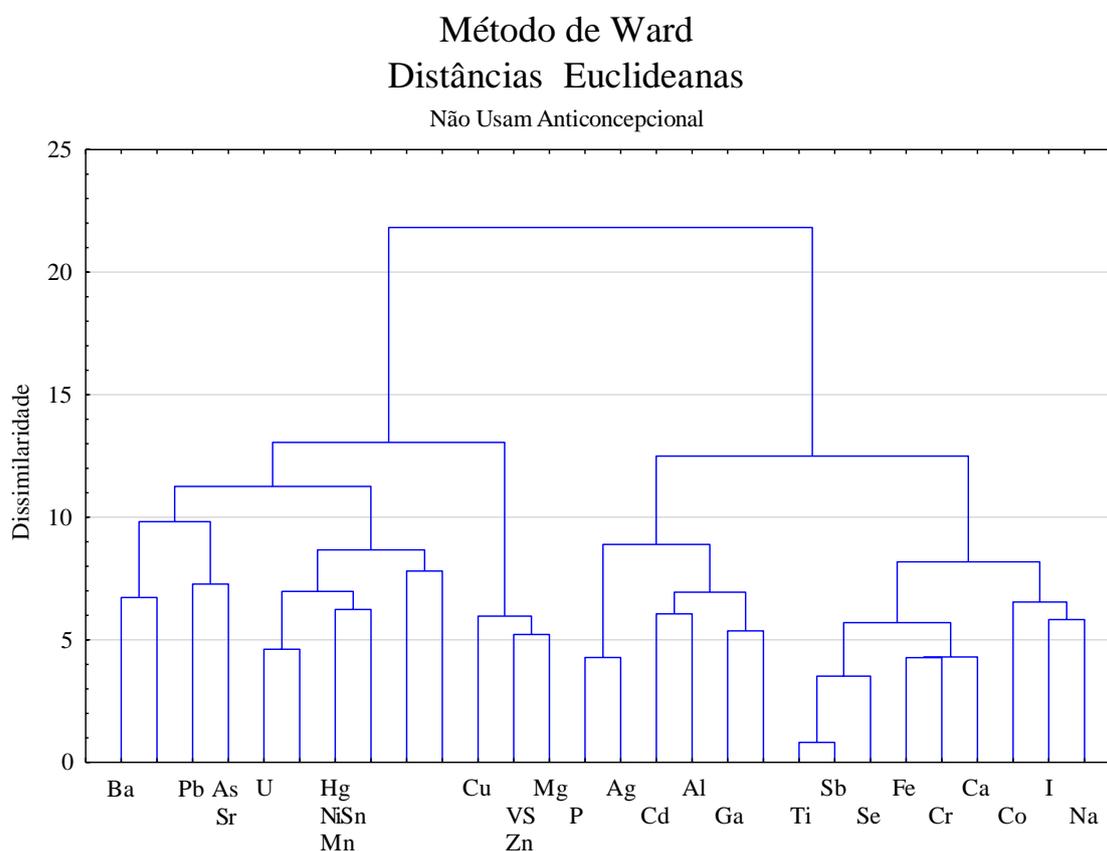


Figura 24: Agrupamentos das variáveis para o grupo Não Usam Anticoncepcional (Do autor).

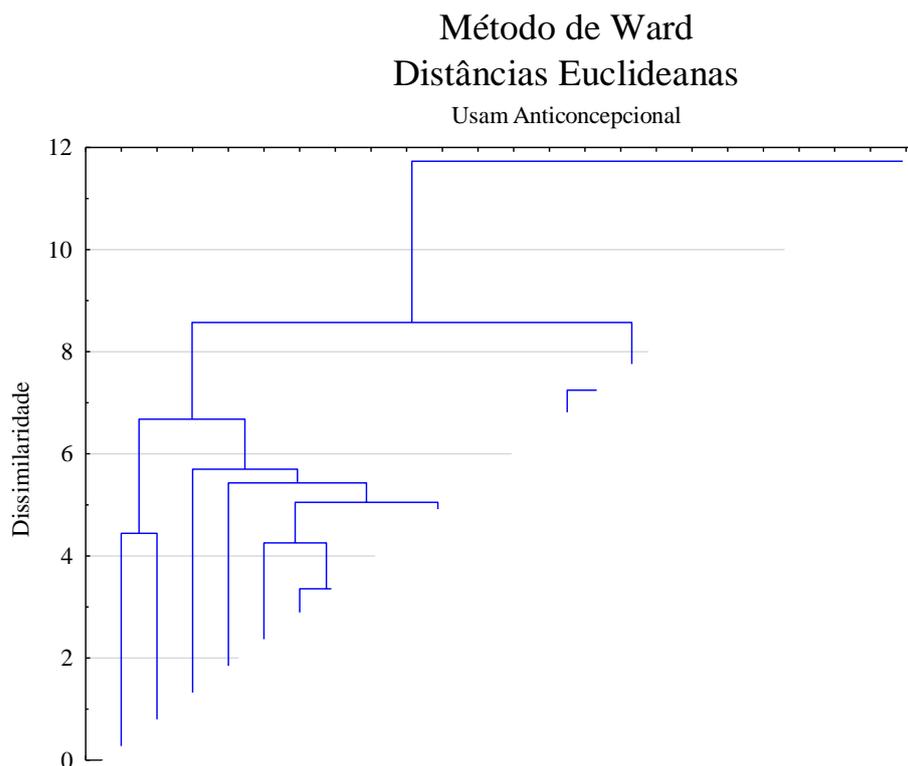


Figura 25: Agrupamentos das variáveis para o grupo Usam Anticoncepcional (Do autor).

A Análise de Componentes Principais foi realizada, a fim de observar grupos e propor uma relação com as variáveis. Foram observados vinte e seis fatores que, no somatório, representam 100% dos dados. Na tabela 13, encontram as componentes principais escolhidas para a análise do uso de anticoncepcional, pois depois do sexto fator foi observada contribuição significativa. Os seis primeiros fatores juntos somam 76% da variância explicada (Figura 26).

Tabela 13: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor)

<b>Componente Principal</b>	<b>Autovalor</b>	<b>% Variância Explicada</b>	<b>Autovalor acumulado</b>	<b>% Variância Acumulada</b>
1	9,279227	37,11691	9,27923	37,11691
2	3,095324	12,38130	12,37455	49,49820
3	2,172572	8,69029	14,54712	58,18849
4	1,765266	7,06107	16,31239	65,24956
5	1,512972	6,05189	17,82536	71,30145
6	1,282934	5,13174	19,10830	76,43319

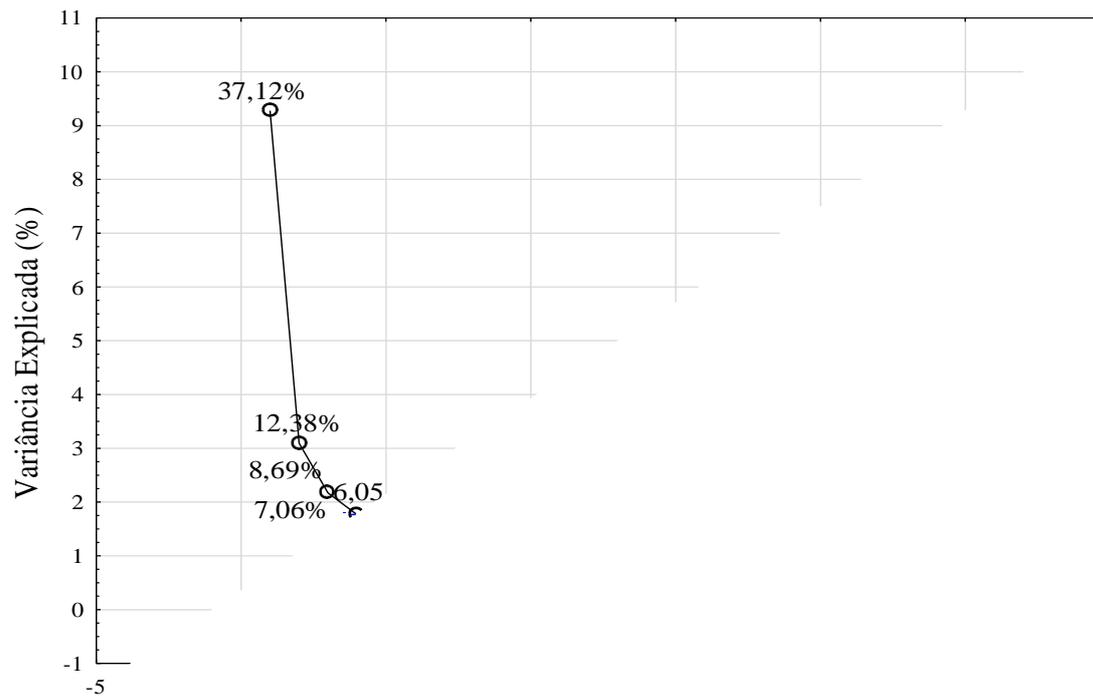


Figura 26: Gráfico Scree para utilizado para a escolha do número de componentes principais (Doautor).

As contribuições de cada fatores podem ser descritas na tabela de fator *loadings*, tendo sido escolhida a contribuição Varimax para esta análise (Tabela 14), na qual os valores destacados em vermelho representam as variáveis que mais contribuem para cada componente principal.

Tabela 14: Resumo dos autovalores dos fatores (Do autor).

<b>variável</b>	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6
Na	0,037136	-0,102602	0,145532	0,199549	0,065884	<b>-0,861879</b>
Mg	<b>0,887192</b>	-0,190217	-0,074713	-0,063352	0,115921	-0,060623
P	0,077019	-0,038741	0,152121	-0,034004	<b>0,852477</b>	-0,217229
S	0,068569	-0,300445	-0,084545	0,070940	<b>0,786492</b>	0,199637
Ca	<b>0,872082</b>	-0,144088	0,107514	0,075903	0,096205	-0,200163
V	0,544928	0,422699	0,528173	0,152462	0,098609	0,166343
Mn	0,566926	0,399777	0,562905	-0,012336	0,033885	0,046401
Fe	0,419870	-0,182497	<b>0,704933</b>	0,116403	0,193189	0,057640
Co	0,680159	0,362296	0,404905	-0,106082	0,081420	0,185700
Cu	0,486735	0,179678	0,158134	0,290236	0,427557	-0,022647
Sr	<b>0,930797</b>	0,186948	0,132331	0,124545	-0,006918	0,033232
I	0,086127	0,653667	0,342846	0,029036	0,083882	0,341914
Al	0,143762	0,221964	<b>0,816357</b>	0,003672	-0,054535	0,169629
Ni	0,313704	0,297754	0,579349	-0,324233	-0,006677	0,072618
Ag	0,341132	-0,176029	0,010243	<b>0,742207</b>	-0,206166	-0,023584
Cd	0,276900	<b>0,825899</b>	0,239294	-0,004198	-0,146908	-0,157583
Sn	0,099058	<b>0,864620</b>	0,072360	0,032915	-0,169769	0,075642
Sb	0,059342	0,291546	<b>0,760611</b>	0,039894	-0,077301	-0,246481
Ba	<b>0,812984</b>	0,394358	0,273239	0,125412	-0,033040	0,086782
Hg	-0,033904	0,336279	-0,003389	<b>0,750471</b>	0,270908	-0,236491
Pb	0,258794	-0,087822	0,560071	0,239853	-0,211647	0,001863
U	0,385596	-0,245563	0,244614	0,382760	0,035214	0,490404
Ti	0,106623	0,155415	<b>0,808659</b>	-0,030471	0,193469	-0,281377
Ga	<b>0,807498</b>	0,380124	0,279232	0,104692	-0,039445	0,138131

Com isso, observando o fator 1 versus fator 2 é possível observar claramente o grupo dos metais alcalinos terrosos, que se destacaram nas correlações de Spearman e no dendrograma, ambos essenciais para o bom funcionamento do organismo humano (Figura 27).

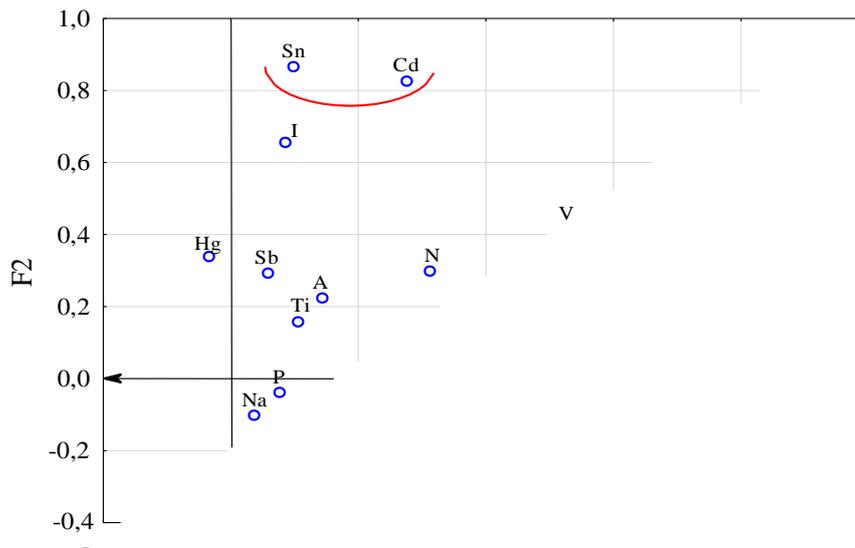


Figura 27: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2

Com a inclusão do terceiro fator, temos o Cd e Sn que apresentaram uma correlação elevada no grupo das mulheres que não faziam uso de anticoncepcional (Figura 28). Não se observou relação entre o Co, Se e I nos seis primeiros componentes principais.

Figura 28: Gráfico de dispersão de loadings com rotação Varimax – Fator 1 versus Fator 2 versus fator 3.

Com o objetivo de definir os grupos sim/não em relação ao uso de anticoncepcional, foi plotado o gráfico de scores, entretanto não houve uma separação clara e bem definida desses grupos (Figura 29).

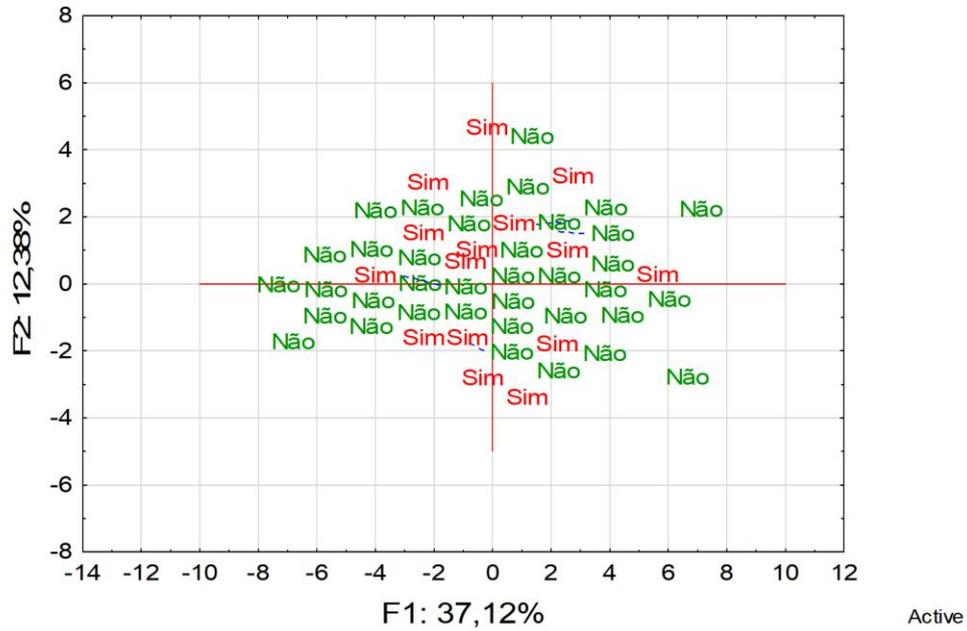


Figura 29: Gráfico de dispersão de scores uso anticoncepcional x Não Uso Anticoncepcional

## 5. Considerações Finais

O presente trabalho investigou, de forma preliminar, os efeitos do fumo e do uso de anticoncepcionais na concentração dos elementos analisados para a realização do exame de mineralograma capilar. Os resultados foram avaliados a partir da análise gráfica do box-plot e das estatísticas não paramétricas.

Na análise dos resultados dos mineralogramas de fumantes e não fumantes utilizando o teste de Kuskal-Wallis, observou-se diferença significativa entre os dois grupos para Na e Ag. O elemento Na, essencial, apresentou menor concentração, indicando que o grupo de fumantes pode apresentar deficiência desses minerais em decorrência do fumo. Comparou-se também os fumantes passivos, que apresentaram elementos com maiores concentrações que para os fumantes, entretanto devido ao pequeno n amostral, é necessária uma análise mais aprofundada sobre esses grupos. Os elementos tóxicos que estão presentes no cigarro, só foram observados na análise de correlação de Spearman, demonstrando que o seu aumento vai de encontro com outros metais tóxicos, como por exemplo As, Pb, Co, classificados como carcinogênicos pela IARC.

Para o uso de anticoncepcional, foram realizados os mesmos testes não paramétricos. Na análise do box-plot e Kuskall-Wallis, observou-se diferença para Cu havendo divergência entre os dados encontrados neste trabalho com os da literatura. Isto pode ser explicado pela diferença do material da análise dos diferentes trabalhos (cabelo, sangue ou soro), o que traz a necessidade de estudos que avaliem as possíveis relações entre eles, assim como a influência dos tipos de anticoncepcionais hormonais orais na análise. Na análise de correlação de Spearman, houve uma predominância de correlações entre elementos essenciais para ambos os grupos, entretanto o grupo que faz uso do anticoncepcional apresentou um maior número de correlações com o I, que é um elemento que faz parte de vários ciclos metabólicos de hormônios.

A análise de componentes principais apresentou comportamentos parecidos para ambos os grupos, os fumantes apresentaram maior influência dos elementos tóxicos, enquanto o uso de anticoncepcional afetou mais os elementos essenciais. Nos dois casos, não foi possível observar separação bem clara entre os grupos Sim/Não, demonstrando que não há uma correlação direta do fumo ou do anticoncepcional com um grupo de elementos distintos, requerendo, para isso, ferramentas estatísticas mais robustas.

## Referências

- AKINLOYE, O. et al. Effects of contraceptives on serum trace elements, calcium and phosphorus levels. **The West Indian medical journal**. 2011 vol. 60,3: 308-15.
- ALDRIGHI, J. M.; PETTA, C. A. (Ed.). **Anticoncepção**: manual de orientação. - São Paulo: Ponto, 2004. 308.
- ALEA F. S. et al. Estimation of Lipid Profile and Zinc in smoking and Non-Smoking Urban and Rural people of Al Hila city. **Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 291–300, 2023. DOI: 10.47750/jptcp.2023.1109.
- ALVES, A. N. L.; ROSA, H. V. D. Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos. **Braz. J. Pharm. Sci.**, Vol. 39, N. 2, p. 129-139, 2003.
- ARNAUD J. et al. Relationships between selenium, lipids, iron status and hormonal therapy in women of the SU.VI.M.AX cohort, **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, V.21, S.1, 2007.
- BARBOSA et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista De Nutrição**, 2010. 23(4), 629–643. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- BEHERA, S. N.; XIAN, H.; BALASUBRAMANIAN, R. Human health risk associated with exposure to toxic elements in mainstream and side stream cigarette smoke. **Ciência do Meio Ambiente Total**, 2014. 472, 947-956. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.063>
- BERNHARD; DAVID. Metals in Cigarette Smoke. **IUBMB Life**, 2005 vol. 57, no. 12, pp. 805-809, <https://doi.org/10.1080/15216540500459667>.
- BORGERDING; MICHAEL; KLUS. Analysis of Complex Mixtures – Cigarette Smoke. **Experimental and Toxicologic Pathology**, vol. 57, 2005, pp. 43-73, <https://doi.org/10.1016/j.etp.2005.05.010>.
- BOX G; COX D. An analysis of transformations. **J Roy Stat Soc B** 1964 26:211–252

BREITLING, L. P. Smoking as an Effect Modifier of the Association of Calcium Intake with Bone Mineral Density. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2015. 100(2), 626-635.

<https://doi.org/10.1210/jc.2014-2190>

BRITO, N. M. et al. **Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão**. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 13, p. 130-137, 2003

BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N.A.; MAZETO, G. M. F. S. Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arquivos Brasileiros De Endocrinologia & Metabologia**, 2006. 50(5), 852-861. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302006000500005>

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística**: princípios e aplicações. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2003

CARNEIRO, M. T. W. D. et al. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro - Brasil. **Química Nova**, v.25, n.1, p. 37-45, 2002.

CARVALHO, M. C. O Cigarro. **Publifolha**. São Paulo, 2001.

CHATT A; KATZ S.A. **Hair Analysis**: Applications in the Biomedical and Environmental Sciences. New York: VCH; 1988. 1-16 p

CHIBA M.; MASIRONI R. Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. **Bulletin of the World Health Organization** vol. 70,2 (1992): 269-75.

CHOJNACKA, K., et al. The Effect of Age, Sex, Smoking Habit, and Hair Color on the Composition of Hair. **Toxicologia E Farmacologia Ambiental**, vol. 22, no. 1, 2006, pp. 52-57, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.11.006>.

CHRISTIN-MAITRE, S. History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 27, n. 1, p. 3-12, Feb. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2012.11.004>.

CHUNG S.H.; PEARN W.L.; YANG Y.S. A comparison of two methods for transforming non-normal manufacturing data. **International Journal of Advanced Manufacturing Technology**. 2007. 31: 957-968.

DE LIMA, C. E.; DA SILVA, C. L.; **Cabelo como Matriz Analítica Alternativa para a determinação de drogas de abuso** (2007). Disponível em: [http://www.researchgate.net/profile/Elizabeth\\_De\\_Lima2/publication/228446704\\_Cabelo\\_como\\_Matriz\\_Analtica\\_Alternativa\\_para\\_a\\_determinao\\_de\\_drogas\\_de\\_abuso/links/0046351a66911b7737000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Elizabeth_De_Lima2/publication/228446704_Cabelo_como_Matriz_Analtica_Alternativa_para_a_determinao_de_drogas_de_abuso/links/0046351a66911b7737000000.pdf).

DEEMING, S. B.; WEBER, C. W. Hair analysis of trace minerals in human subjects as influenced by age, sex, and contraceptive drugs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 1978. 31(7), 1175–1180. doi:10.1093/ajcn/31.7.1175

DONGARRÀ, G., et al. Concentration and Reference Interval of Trace Elements in Human Hair from Students Living in Palermo, Sicily (Italy). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, vol. 32, no. 1, 2011, pp. 27-34, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.003>.

DROBYSHEV, E. et al. Trace Element Biomonitoring in Hair of School Children from a Polluted Area by Sector Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 39, 2017, pp. 14-20, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.07.004>.

FONSECA SOBRINHO D. **Estado e população: uma história do planejamento familiar no Brasil**. Rio de Janeiro: Rosa dos Tempos; FNUAP, 1993.

FROES, N. D. T. C.; PEREIRA, E.S.; NEGRELLI, W. F. Fatores de risco da osteoporose: prevenção e detecção através do monitoramento clínico e genético. **Acta Ortopédica Brasileira**, 2002. 10(1), 52–56. <https://doi.org/10.1590/S1413-78522002000100007>

GERHARDSSON, L., et al. Lead in Tissues of Deceased Lead Smelter Workers. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 9, no.3, 1995, pp. 136-143, [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(11\)80037-4](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(11)80037-4).

GOYER, R.A.; CLARKSON, T.W. Toxic Effects of Metals. Em Amdur, MO, Doull, JD e Klaassen, CD, Eds., **Casarett and Doull's Toxicology**, 1996. 4ª Edição, Pergamon Press, New York, 623-680.

GRAY, A. L.; DATE, A. R. Plasma source mass spectrometry of inorganic samples – recent developments of the technique. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics**, n. 46, p. 7–10, 1983.

HALAL, J. **Tricologia e a química cosmética capilar**. 5. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014. 304 p

HEGENBERG, L. **Doença**: um estudo filosófico [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1998. 137 p. ISBN: 85-85676-44-2

HEITLAND, P. et al. Application of ICP-MS and HPLC-ICP-MS for Diagnosis and Therapy of a Severe Intoxication with Hexavalent Chromium and Inorganic Arsenic. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 41, 2017, pp. 36-40, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.02.008>.

HILSINGER, R. **O território do tabaco no sul do Rio Grande do Sul diante da Convenção Quadro para o Controle do Tabagismo**. UFRGS, 2016. Tese (Doutorado) Instituto de geociências. Programa de Pós- Graduação em Geografia. Porto Alegre- RS, 2016.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar 2019. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Nacional de Saúde 2019: acidentes, violências, doenças transmissíveis, atividade sexual, características do trabalho e apoio social. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ambiente, trabalho e câncer: aspectos epidemiológico, toxicológicos e regulatório. – Rio de Janeiro : INCA, 2021. 290 p. : il. color.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Convenção-Quadro da OMS para o Controle do Tabaco no Brasil: dez anos de história – 2005-2015 – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2018. 88p.; il. color.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008– Rev.05 –Ago./16. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOPROGEQ-CGCRE->

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (US). **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. Washington (DC): National Academy Press; 2010.

JAIN R.B. Lipid distribution differentials among smokers and nonsmokers and within various types of smokers. **Ann Clin Lab Res**, 2017. 5(2): 168 DOI: 10.21767/2386-5180-1000168

JÄRUP, L. Hazards of Heavy Metal Contamination. **British Medical Bulletin**, vol. 68, no. 1, 2003, pp. 167-182, <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>.

JENSEN E. J. et al. Serum Concentrations and Accumulation of Silver in Skin During Three Months Treatment with an Anti-smoking Chewing Gum containing Silver Acetate. **Human Toxicology**. 1988;7(6):535-540. doi:10.1177/096032718800700603

KARUNAKARAN B.; SHANKAR P.; THOMAS T. Study of effect of duration and severity of smoking on serum magnesium levels in young smokers. **J. Evid. Based Med. Health**. 2019; 6(27), 1858-1862. DOI:10.18410/jebmh/2019/379

KRALL, E. A.; DAWSON-HUGHES, B. Smoking and bone loss among postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Research**, 1991 6(4), 331-338. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650060404>

KRALL, E. A.; DAWSON-HUGHES, B. Smoking Increases Bone Loss and Decreases Intestinal Calcium Absorption. **Journal of Bone and Mineral Research**, 1999. 14(2), 215-220. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.2.215>

LINDER, M. C. Copper and Genomic Stability in Mammals. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, vol. 475, no. 1-2, 2001, pp. 141-152, [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(01\)00076-8](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(01)00076-8).

LLORENTE BALLESTEROS, M. et al. Reference Levels of Trace Elements in Hair Samples from Children and Adolescents in Madrid, Spain. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 43, 2017, pp. 113-120, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.12.010>.

MIRANDA-VILELA, A. L.; BOTELHO, A. J.; MUEHLMANN, L. A. An overview of chemical straightening of human hair: Technical aspects, potential risks to hair fiber and health and legal issues. **International Journal of Cosmetic Science**, 2014.

MORABIA A.; BERNSTEIN M.S.; ANTONINI S. Tabagismo, deficiência dietética de cálcio e vitamina D em mulheres: um estudo de base populacional. **Jornal Europeu de Nutrição Clínica** . 2000; 54 (9):684–689.

MORAES, C. A.; BREDASTELLA, M.; CARVALHO, C. A. F. **Morphofunctional study on the effects of passive smoking in kidneys of rats.** Einstein (São Paulo). 2021. [https://doi.org/10.31744/einstein\\_journal/2021AO6000](https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021AO6000).

MORALES-SUÁREZ-VARELA, M. et al. Correlation of Zinc with Oxidative Stress Biomarkers. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 12, no. 3, 2015, pp. 3060-3076 <https://doi.org/10.3390/ijerph120303060>.

NORDBERG, G. et al. **Cadmium.** Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition), 2015, pp. 667-716, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00032-9>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO report on the global tobacco epidemic 2019.**

PAPPAS, R. S. **Toxic elements in tobacco and in cigarette smoke: inflammation and sensitization.** *Metallomics*, Cambridge, v. 3, n. 11, p. 1181-1198, 2011.

PAUMGARTTEN, F. J. R. et al. O impacto dos aditivos do tabaco na toxicidade da fumaça do cigarro: uma avaliação crítica dos estudos patrocinados pela indústria do fumo. **Cadernos de Saúde Pública**, vol. 33,nº supl. 3, setembro de 2017. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1590/0102-311x00132415>.

PEDRO J.M. **A experiência com contraceptivos no Brasil:** uma questão de geração. *Rev. Bras. Hist.* [online], v.23, n.45, p. 239-260, 2003.

PEREGRINO, G. et al. Hair Mineralogram Analysis for Health Assessment: Statistical Bias from Gender and Aesthetic Treatments. **Braz. J. Anal. Chem.**, 2020. do: <http://dx.doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.AR-20-2021>

PETROLI, M. et al. Hypercupremia in female munitions workers using taking oral contraceptives: a case series. **Revista brasileira de medicina do trabalho : publicação oficial da Associação Nacional de Medicina do Trabalho- ANAMT.** 2021. vol. 19,1 114-118. doi:10.47626/1679-4435-2021-638

PINHEIRO A. et al. **Fisiologia dos Cabelos.** Kosmoscience. Valinhos, SP, Brasil. LONGO Valeria. Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos SP, Brasil. Editora Tecnopress. 2013. *Revista Cosmetics&Toiletries Brasil*, vol. 25, mai-jun, p. 36-47, 2013.

POLI, M.E.H. et al. **Manual de anticoncepção da Febrasgo.** *Femina.* 2009;37(9):459-9

POPESCU, C.; HOCKER, H. Hair-the most sophisticated biological composite material. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n.8, p. 1282-1291,2007.

POTTS, P.J. Inductively coupled plasma—mass spectrometry. In: **A Handbook of Silicate Rock Analysis.** Springer, Boston, MA. 1987. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3270-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3270-5_20)

POZEBON, D.; SCHEFFLER, G.L.; DRESSLER, V.L. Análise elementar do cabelo: Uma revisão dos procedimentos e aplicações. **Analytica Chimica Acta**, 2017. 992, 1–23. doi:10.1016/j.aca.2017.09.017

POZEBON, D.; VALDERI, L.; CURTIUS, A. J. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química nova**, 22 (6), p. 838-846, 1999.

PRAGST, F.; BALIKOVA, M. A. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. **Clinica Chimica Acta**, 2006. 370, 17-49.

PREMA K.; RAMALAKSHMI B.A.; BABU S. Serum copper and zinc in hormonal contraceptive users. *Fert Steril*, 33 (1980), pp. 267-271

RAHIL-KHAZEN, R.; BOLANN, B.; ULVIK, R. **Trace Element Reference Values in Serum Determined by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry**. 2000. 38(8), 765-772.

REIMANN, C. (Org). **Statistical data analysis explained: applied environmental statistics with R**. John Wiley & Sons, 2008

RIBEIRO, F.A.L. et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v.31, p.164- 171, 2008.

ROCHA, R. C.C., **Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado**, Rio de Janeiro, 2021. 82 p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

SANTANA J.R.; WAISSE S. Chegada e difusão da pílula anticoncepcional no Brasil, **Revi Bras Hist. Ciênc**. 2016;9(2):203-18.

SENOFONTE, O., et al. "Assessment of Reference Values for Elements in Human Hair of Urban Schoolboys." **Jornal De Oligoelementos Em Medicina E Biologia**, vol. 14, no. 1, 2000, pp. 6-13, [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(00\)80017-6](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(00)80017-6).

SHEATS R.D.; PANKRATZ V.S. Understanding distributions and data types.

**Semin Orthod.** 2002 June;8(2):62-6.

\_\_\_\_\_. Common Statistical Tests. **Semin Orthod**, vol. 8, no. 2, 2002, pp. 77-86. <https://doi.org/10.1053/sodo.2002>.

STERN A. H. A quantitative assessment of the carcinogenicity of hexavalent chromium by the oral route and its relevance to human exposure. **Environmental Research**, No 110, 798–807, 2010.

SOUZA, A. M. **Monitoração e ajuste de realimentação em processos produtivos multivariados.** 2000. Tese (Doutorado Engenharia de Produção) – Universidade Federal Santa Catarina, 2000.

TALHOUT R. et al. Hazardous compounds in tobacco smoke. **Int J Environ Res Public Health** 2011; 8:613-28.

THEINT et al. Relationship between Oxidative Stress, Serum Zinc Level and Systemic Arterial Blood Pressure in Smokers and Non-smokers. **International journal of clinical and experimental pathology.** 2019. 6. 100-103.

THOMAS, R. **Practical guide to ICP-MS.** New York, NY: M. Dekker, 2004. Print.

Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura. Relatório de monitoramento global da educação 2018 : relatório conciso de gênero ; cumprir nossos compromissos com a igualdade de gênero. – Brasília: UNESCO, 2018.69 p., il.

VIR S.C.; LOVE A.H. Zinc and copper nutriture of women taking oral contraceptive agents. **Am J Clin Nutr.** 1981;34(8):1479-1483. doi:10.1093/ajcn/34.8.1479

WAGNER, G.J., Accumulation of Cadmium in Crop Plants and its Consequences to Human Health. **Advances in Agronomy**, 1993. 51: p. 173-212.

WATKINS, E.S. **On the Pill: A Social history of oral contraceptives, 1950-1970.** EUA: JHU Press, 1998.

WHO Framework Convention on Tobacco Control e World Health Organization.  
**History of the World Health Organization Framework Convention on Tobacco Control.** 2009, p. 51. WHO IRIS, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44244>.

WU, L.; DU, Q. The effect of cigarette smoking on the serum levels of calcium and 25 hydroxy vitamin D in patients with postmenopausal osteoporosis. **Journal of Laboratory Medicine**, 46(6), 391-397. 2022. <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0061>

ZAKRGYNSKA-FONTAINE, V et al. "Study of the age and sex dependence of trace elements in hair by correspondence analysis." **Biological trace element research** vol. 61,2 (1998): 151-68. doi:10.1007/BF02784027

ZHA, Q.; MOLDOVEANU, S. The Influence of Cigarette Moisture to the Chemistry of Particulate Phase Smoke of a Common Commercial Cigarette. **Contributions to Tobacco & Nicotine Research**,21(3) 184-191. 2004 <https://doi.org/10.2478/cttr-2013-0779>.

## ANEXO I

Questionário preenchido por cada participante

1. E-mail \*

---

2. Escola \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Olga Benário
- Mário Campos
- IFRJ
- Mahatma Gandhi
- Ulisses Guimarães

3. Município de residência \*

---

4. Bairro de residência: \*

---

5. Nome: \*

---

6. Número da amostra \*

---

7. Idade (apenas número): \*

---

8. Sexo biológico: \*

*Marcar apenas uma oval.*

Masculino

Feminino

9. Tipo de pele: \*

*Marcar apenas uma oval.*

Branco

Pardo

Preta

10. Tipo de cabelo natural: \*

*Marcar apenas uma oval.*

Liso

Ondulado

Crespo

11. Faz algum tratamento capilar? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Não
- Sim, tingimento
- Sim, alisamento
- Sim, alisamento e tingimento
- Outro: \_\_\_\_\_

12. É fumante? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Não
- Sim. Cigarro convencional
- Sim. Cigarro eletrônico
- Sim. Ambos, convencional e eletrônico
- Fumante passivo (reside ou convive frequentemente com fumantes)
- Outro: \_\_\_\_\_

13. Quanto tempo? (anos)

*Marcar apenas uma oval.*

- Menos de 1 ano
- Entre 1 e 2 anos
- Entre 2 e 3 anos
- Entre 3 e 4 anos
- 5 anos ou mais

14. Em média, quantos cigarros por dia? (Apenas para cigarros convencionais)

*Marcar apenas uma oval.*

- Ocasionalmente (menos de 1 cigarro)
- De 1 a 5 cigarros
- de 5 a 10 cigarros
- 10 a 20 cigarros
- Acima de 20 cigarros

15. Faz uso de anticoncepcional? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim
- Não

16. Qual tipo?

*Marcar apenas uma oval.*

- Pílula
- Injetável
- Adesivo
- DIU Hormonal
- Outro: \_\_\_\_\_

17. Há quanto tempo?

*Marcar apenas uma oval.*

- Menos de 1 ano
- Entre 1 e 2 anos
- Entre 2 e 3 anos
- Entre 3 e 4 anos
- 5 anos ou mais

18. Ingere bebidas alcoólicas? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim
- Não

19. Com qual frequência?

*Marcar apenas uma oval.*

- Menos de 1 vez por semana
- 1 a 3 vezes por semana
- Diariamente

20. Utiliza medicamento de uso contínuo? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim
- Não

## 21. Caso a pergunta anterior seja positiva, qual tratamento? \*

Marque todas que se aplicam.

- Diabetes
- Depressão / Ansiedade
- Hipertensão
- Outro: \_\_\_\_\_

## 22. Toma algum suplemento alimentar? \*

Marque todas que se aplicam.

- Não
- Sim, "Whey Protein"
- Sim, Termogênicos
- Sim, Vitaminas específicas
- Sim, Complexo vitamínico
- Outro: \_\_\_\_\_

## 23. Faz atividade física? \*

Marcar apenas uma oval.

- Não
- Sim, 1 vez por semana
- Sim, 2 a 3 vezes por semana
- 4 ou mais vezes por semana

## 24. Observações gerais:

---

---

---

---

---