

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

NÍVEIS DE MERCÚRIO EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO

Bolsista: Jeanna Lee de Oliveira Coutinho, CNPQ

MANAUS  
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL  
PIB-S/0022/2009  
NÍVEIS DE MERCÚRIO EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO

Bolsista: Jeanna Lee de Oliveira Coutinho, CNPQ  
Orientador: Prof. Dr. Domingos Sávio

MANAUS  
2010

## RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, de natureza auto-imune com maior predominância em mulheres. Uma das hipóteses aventadas é que sua alta incidência na Amazônia seja, em parte, influenciada pela contaminação de pessoas predisponentes por mercúrio, através da cadeia alimentar devido à alta ingestão de peixes na dieta do homem amazônico. O objetivo do estudo foi analisar a correlação entre níveis de mercúrio e a doença, sua gravidade e padrões de auto-anticorpos nos pacientes com LES, de acordo com a frequência da ingestão de peixes. Trata-se de um estudo observacional do tipo transversal em duas populações: caso e controle. O estudo do mercúrio nessa população foi dosado nos 5 cm proximais de cabelo e mensurado através da espectrometria de absorção atômica por vapor a frio, além da análise laboratorial dos valores dos anticorpos, complemento, parâmetros hematológicos e bioquímicos. Foi evidenciado que, ao analisarmos o consumo diário de peixes, verificou-se no grupo de casos uma porcentagem de 40% e no grupo controle de 12,5%, sugerindo um  $p$  significativo ( $p = 0,065$ ). Em relação a ingestão de peixes piscívoros, notou-se que nos casos o consumo foi de 70% e entre os controles de 22,5% sendo notada uma relação significativa ( $p = 0,007$ ). Houve uma diferença estatisticamente significante encontrada ao nível de 5% da mediana de mercúrio (Hg) entre os grupos, onde obtivemos uma média de mercúrio de 31,50 entre os casos, sendo maior, que 9,26 dos controles ( $p < 0,001$ ). Ao correlacionarmos os níveis de mercúrio (Hg) com os valores do SLEDAI foi obtido um  $r = 0,47$ , mostrando uma não correlação estatisticamente significativa ( $p = 0,206$ ). Na comparação da mediana do mercúrio (Hg) e os tipos de anticorpos também não observamos diferença significativa entre elas. Neste estudo não foi observado a relação significativa entre os níveis de mercúrio com a intensidade da doença (SLEDAI) e os tipos de anticorpos. Porém, notou-se uma clara relação positiva, exposição-

doença, relacionando os valores aumentados desse metal e a frequência diária da ingestão de peixes piscívoros no grupo de casos.

**Palavras-chave:** lúpus eritematoso sistêmico, mercúrio , auto-imunidade.

## ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic inflammatory disease, multisystemic, autoimmune in nature with higher prevalence in women. One of the hypotheses proposed is that the high incidence in the Amazon is, in part, influenced by the mercury contamination of predisposing people through the food chain due to high intake of fish in the diet of Amazonian man. The aim of this study was to analyze the correlation between mercury levels and the disease, its severity and patterns of autoantibodies in SLE patients, according to the frequency of intake of fish. This is an observational cross-sectional study in two populations: cases and controls. The study of mercury in this population was measured in 5 cm proximal hair and measured by atomic absorption spectrometry by cold vapor, in addition to laboratory analysis of the values of antibodies, complement, hematological and biochemical parameters. It was shown that by analyzing the daily consumption of fish, it was found in the group of cases a percentage of 40% in the control group and 12.5%, suggesting a significant  $p$  ( $p = 0.065$ ). Regarding the intake of piscivorous fish, it was noted that where consumption was 70% and among controls 22.5% was noted a significant relationship ( $p = 0.007$ ). There was a statistically significant difference found at 5% of the median mercury (Hg) between the groups, where we obtained an average of 31.50 mercury among the cases, being larger than 9.26 in the controls ( $p < 0.001$ ). By correlating the levels of mercury (Hg) with the values of SLEDAI was reached  $r = 0.47$ , not showing a statistically significant correlation ( $p = 0.206$ ). In the comparison of median mercury (Hg) and the types of antibodies also observed no significant difference between them. In our study there was no significant relationship between mercury levels with disease severity and the amount and types of antibodies. However, we noted a clear positive relationship, exposure and illness, linking the increased values of the metal and the daily frequency of intake of piscivorous fish in the group of cases.

Keywords: lupus erythematosus, mercury, autoimmunity

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo biogeoquímico do mercúrio .....	16
Figura 2 – Distribuição segundo a frequência das manifestações renais.....	33
Figura 3 – Distribuição segundo as manifestações mais frequentes nos casos estudados .....	34
Figura 4 – Distribuição segundo a mediana de mercurio (Hg) em relação aos grupos.....	37
Figura 5 – Correlação entre o valor de Sledai e o mercúrio (Hg) em pacientes com lúpus .....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição segundo a frequência da procedência, sexo, idade e renda per capita em relação aos grupos de casos e controles.....	27
Tabela 2 - Distribuição segundo a frequência do critério de classificação ACR no grupo de casos.....	29
Tabela 3 - Distribuição segundo a frequência das alterações cardíacas no casos estudados.....	29
Tabela 4 - Distribuição segundo a frequência das alterações pulmonares no grupo de casos.....	30
Tabela 5 - Distribuição segundo a frequência das alterações neurológicas no grupo de casos.....	31
Tabela 6 - Distribuição segundo a frequência das alterações hematológicas nos casos estudados.....	31
Tabela 7 - Distribuição segundo a frequência da sorologia dos casos estudados.....	32
Tabela 8 - Distribuição segundo a biopsia renal e a classe glomerulonefrite.....	33
Tabela 9 - Distribuição em relação a frequência e a média do SLEDAI.....	34
Tabela 10 - Distribuição segundo a frequência de consumo de peixe.....	35
Tabela 11 - Distribuição segundo a mediana de mercurio (Hg) em relação aos grupos.....	36
Tabela 12 - Distribuição segundo a frequência do critério de classificação ACR dos pacientes atendidos em relação a mediana do mercúrio.....	39



Tabela 13 - Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) em pacientes em relação as manifestações da doença.....	40
Tabela 14 - Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) nos casos em relação as comorbidades.....	41
Tabela 15 - Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) em pacientes em relação tipos de anticorpos .....	41

## SUMÁRIO

RESUMO .....	03
LISTA DE FIGURAS .....	07
LISTA DE TABELAS.....	08
1. INTRODUÇÃO .....	12
2. OBJETIVOS .....	14
2.1.OBJETIVO GERAL .....	14
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
3. JUSTIFICATIVA .....	14
4. REVISÃO DE LITERATURA .....	16
4.1. O MERCÚRIO .....	16
4.1.1 BREVE HISTÓRICO .....	16
4.1.2 OCORRÊNCIA E O CICLO BIOGEOQUÍMICO .....	16
4.1.3 CONTAMINAÇÃO PELO METAL NA AMAZÔNIA .....	19
4.1.4 AUTOIMUNIDADE INDUZIDA PELO MERCÚRIO .....	20
5. METODOLOGIA .....	22
5.1 COLETA DE DADOS .....	23
5.1.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA .....	23
5.1.2 AMOSTRAS BIOLÓGICAS .....	23
5.2 ANÁLISES LABORATORIAIS .....	23
5.2.1 ANÁLISE DE AUTO-ANTICORPOS .....	23
5.2.2 ANÁLISE BIOQUÍMICA E HEMATOLÓGICA .....	24
5.2.3 ANÁLISE DE MERCÚRIO .....	24
5.2.4 ANÁLISE DE DADOS .....	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27

7. CONCLUSÃO .....	43
CRONOGRAMA DE ATIVIDADES .....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica multissistêmica de etiologia desconhecida, caracterizada por distúrbios da resposta imune contra antígenos ou constituinte próprio, provavelmente conseqüente a fatores genéticos, ambientais e hormonais em indivíduos geneticamente predispostos<sup>16</sup>.

A doença é muito mais prevalente em mulheres, principalmente, na idade reprodutiva, supondo ser os hormônios femininos um elo contribuidor para o desenvolvimento da doença.

Dentre os fatores de risco, destacamos:

a) Genéticos: 1) maior ocorrência da doença em gêmeos homozigóticos correspondendo a 25% se comparada a 2% em gêmeos dizigóticos; 2) genes do MHC, particularmente, o HLA-A1, B8 e DR3 têm sido relacionados ao LES; 3) alelos que causam deficiência de um dos fatores do complemento (C1q, C2 ou C4).<sup>22</sup>

b) Fatores ambientais infecciosos: 1) vírus Epstein- Barr (EBV), onde estudos mostraram que anticorpos anti-EBV estavam presentes em 99% e DNA de EBV estava presente em 100% dos pacientes com lúpus;

c) Fatores ambientais não infecciosos: 1) radiação ultravioleta sendo o fator ambiental mais óbvio ligado ao lúpus; 2) o mercúrio, como um dos fatores ambientais mais envolvidos na indução e aceleração das doenças auto-imunes, observando-se a produção de auto-anticorpos<sup>32</sup>, citado em nosso trabalho como via principal de estudo.

Embora, os níveis de contato com o mercúrio variem entre os indivíduos, a exposição ao mercúrio é universal devido a sua liberação natural no ambiente<sup>24</sup>.

O mercúrio metálico pode, posteriormente, ser depositado nos rios e por intermédio da cadeia biológica, contaminar os peixes na sua forma mais tóxica: o metilmercúrio, forma mais comum encontrada em amostra capilar<sup>26</sup>.

Através de estudo feitos com camundongos ou ratos geneticamente susceptíveis, a administração de doses subtóxicas de mercúrio pode induzir a produção de auto-anticorpos altamente específicos para antígenos nucleares e uma ativação policlonal do sistema imune<sup>4</sup>.

Frente ao exposto, torna-se relevante verificar os níveis de mercúrio no cabelo de indivíduos com lúpus, assim como de indivíduos hígidos, na tentativa de observar a presença ou não de uma associação causal entre o Hg e a presença da doença.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Analisar a relação entre níveis de mercúrio no cabelo e a ocorrência de lúpus eritematoso sistêmico.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Verificar se níveis de mercúrio correlacionam-se com subtipos clínicos, gravidade da doença e com determinados padrões de auto-anticorpos nos pacientes com LES.

## 3 JUSTIFICATIVA

O mercúrio é reconhecidamente deletério às populações humanas e causa danos importantes à saúde. Tais danos são decorrentes tanto dos compostos inorgânicos quanto orgânicos do mercúrio, sendo os primeiros dosados em sangue e urina e os segundos, entre os quais está o metilmercúrio, no cabelo<sup>13</sup>.

A poluição ambiental pelo mercúrio na Amazônia é um fato que vem sendo registrado na literatura<sup>12</sup>, observando-se níveis elevados do metal em meios inanimados como água e solo, em peixes, em outros elos da cadeia alimentar e na população.

O mercúrio na Amazônia pode originar-se de fontes antropogênicas, ligadas à garimpagem rústica do ouro de aluvião, como é o caso do Tapajós e outros rios do estado do Pará<sup>1</sup>; ou originar-se das características locais de determinados solos amazônicos, como os terrenos magmáticos das montanhas da fronteira do estado do Amazonas com a Venezuela e Colômbia, que acarreta contaminação das águas da bacia do rio Negro<sup>28</sup>.

Em um estudo realizado em uma extensa área no sul do Estado do Pará, às margens do rio Fresco, afluente do Xingu, foi observado que índios apresentavam uma dose de mercúrio total maior em sangue, urina e cabelo se comparada a garimpeiros. Foi concluído que 24% dos índios tinham níveis de metilmercúrio superiores a 10 mg/g, contra 6% dos garimpeiros. Entenderam-se, tais informações, como de considerável gravidade, por indicar maior exposição dos índios, atingidos pela ingestão de peixes contaminados pela água, a essa forma do metal, apesar de não terem contato direto com o garimpo<sup>13</sup>.

Esses níveis cronicamente elevados de mercúrio correlacionam-se, em patologia humana, como neuro-toxicidade, imuno-toxicidade, teratogenicidade e morbidade peri-natal<sup>7</sup>.

O mercúrio interfere em vários processos ligados ao sistema imune e à expressão de genes que interessam à metilação do DNA e à imunomodulação. Como consequência, pode ocorrer distúrbios relacionados à baixa atividade do sistema imune, como susceptibilidade aumentada às infecções<sup>2</sup>, e distúrbios relacionados à hiperatividade, conforme evidenciado pela geração de diversos auto-anticorpos e por aumento da prevalência de doenças auto-imunes em indivíduos expostos. Talvez seja o mercúrio o elo que explica a alta prevalência e a gravidade do lúpus eritematoso sistêmico na região amazônica<sup>8</sup>.

A associação de altos níveis de mercúrio na Amazônia e alta prevalência de LES na região é bastante questionada. Através disso, tentaremos correlacionar à ocorrência de casos novos de lúpus e o perfil respectivo de auto-anticorpos, em casos de lúpus procedentes do estado do Amazonas e um grupo de controles pareados por sexo, idade, procedência entre outros parâmetros.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1. O MERCÚRIO

#### 4.1.1. BREVE HISTÓRICO

O contato do homem com este metal é relatado desde as civilizações antigas, que já manipulavam o mesmo para executar seus desenhos nas paredes das cavernas, nos objetos de argila e em suas pinturas faciais<sup>6</sup>.

A utilização do mercúrio no processo de amalgamação do ouro já era conhecida pelos fenícios e cartagineses em 2.700 a.C. Caius Plinius, em sua “História Natural” (50 d.C.) descrevia a técnica de mineração do ouro e prata com um processo de amalgamação similar ao utilizado hoje nas minas de ouro<sup>30</sup>.

O cinábrio (HgS, principal minério do mercúrio) foi encontrado em tubas do Egito datadas de antes de 1.500 a.C e em tumbas da Grécia. Anterior a era cristã, os chineses usavam o sulfeto de mercúrio, na produção de tintas e pinturas, dominando o processo da redução do sulfeto a metal<sup>3</sup>.

Com o advento da Revolução Industrial e a difusão do uso do mercúrio em várias atividades humanas, presenciou-se um grande aumento nos níveis de mercúrio no meio ambiente global acarretando conseqüências para a humanidade<sup>6</sup>.

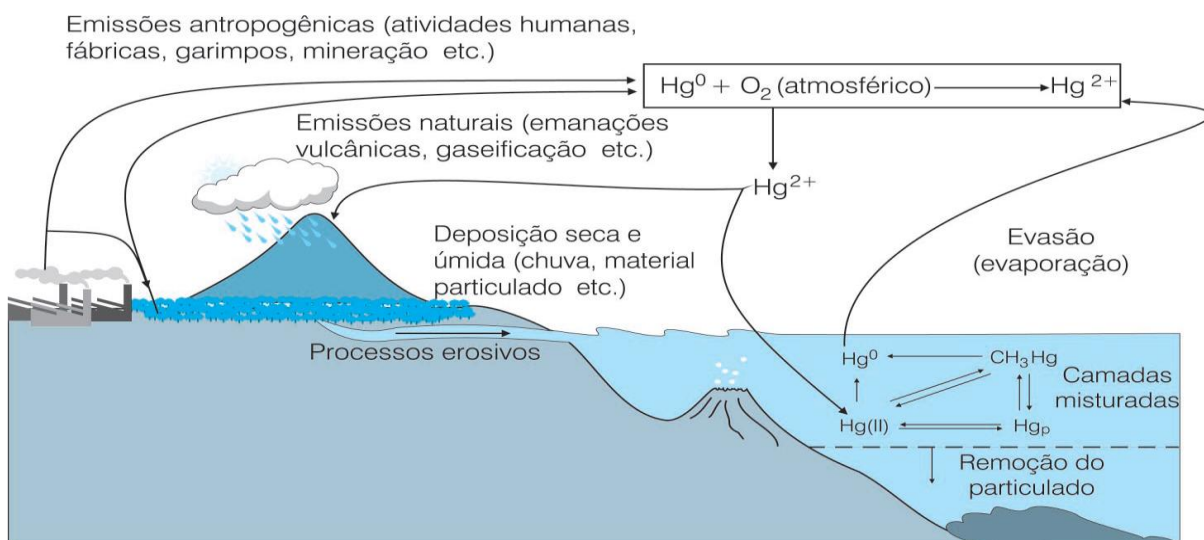
#### 4.1.2. OCORRÊNCIA E O CICLO BIOGEOQUÍMICO

O mercúrio (Hg) é encontrado na natureza como Hg elementar (Hg<sup>0</sup>) na forma líquida ou gasosa, compostos mercuriais inorgânicos e os compostos mercuriais orgânicos e estes têm grande importância e são de uso diário na indústria, na agricultura e na medicina. O Hg é um



elemento de ocorrência natural na atmosfera e crosta terrestre (em torno de  $80\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e é distribuído no meio ambiente por processos naturais como atividade vulcânica, incêndios, evaporação de rios e oceanos<sup>13,34</sup>.

O ciclo biológico onde o  $\text{Hg}^{2+}$ , vindo através das chuvas, de fontes naturais como evaporação das águas, do solo, dos vulcões ou de fontes artificiais como queima de combustíveis, incineração de dejetos químicos, atividades de garimpo, sofre a biometilação por bactérias alquilantes dos sedimentos aquáticos ou solos, transformando-se em  $\text{MeHg}$ . Este é solúvel em água e é rapidamente absorvido pelo fitoplâncton, ingerido pelo zooplâncton, outros microrganismos e peixes. Através destes, o Hg é incorporado à cadeia alimentar onde a concentração desse metal acumula-se, principalmente, em músculos e gorduras aumentando sua concentração de acordo com o aumento do nível trófico na cadeia alimentar<sup>31</sup>.



**FIGURA 1 - Ciclo biogeoquímico do mercúrio**

Vale frisar, que a capacidade de metilação de determinado rio ou lago é o que determina a taxa de Hg nos peixes<sup>7</sup>, ou seja, a absorção do mercúrio presente na água por organismos aquáticos é influenciada pela concentração deste elemento, pela taxa metabólica e pela eficiência de absorção, determinada pelas características do ambiente aquático.

Hoje, sabe-se que a velocidade de metilação realizada pelas bactérias é função de vários fatores, como o baixo pH da água, alta concentração de matéria orgânica dissolvida e baixo teor de material particulado, situação fácil de ser encontrada nos rios amazônicos. O pH do Rio Negro, por exemplo, é particularmente baixo, chegando a 3,8<sup>30</sup>.

A persistência do metilmercúrio nos peixes é relativamente alta porque ele é biotransformado muito lentamente. A meia-vida do metilmercúrio em peixes depende da espécie, variando de um a três anos. A forte ligação do metilmercúrio com os tecidos do peixe não é destruída pelo cozimento ou fritura<sup>3</sup>.

Com isso, a ingestão de metilmercúrio depende da quantidade do tamanho, da idade e das espécies de peixe consumidas. As populações nas quais o peixe é a maior fonte de alimento, apresentam níveis superiores do metal<sup>20</sup>.

Simplificando, há os peixes de nível trófico baixo, que são os herbívoros e detritívoros, os de nível trófico intermediário, os omnívoros, e finalmente os de nível trófico elevado, os piscívoros, também chamados de carnívoros ou predadores. Os herbívoros (tambaqui, jatuarana, pirapitinga, pacu) se alimentam basicamente de sementes e de frutos, os detritívoros (bodo, jaraqui, curimatã, branquinha) se alimentam de matéria orgânica em decomposição e microrganismos associados à lama do fundo de lagos e margens de rios. Os detritos provindos da mata alagada, ninfas de insetos e zooplâncton são a base da alimentação dos omnívoros (aruanã, pirarara, cará, mandi, matrinchã, cuiucuiu). Os piscívoros se alimentam de outros peixes e por isso bioacumulam o mercúrio (dourada, filhote, piranha, tucunaré, surubim, pescada e pintado)<sup>25</sup>.

### 4.1.3. A CONTAMINAÇÃO PELO METAL NA AMAZÔNIA

A exposição humana à intoxicação por mercúrio através da ingestão de peixes contaminados, já citado anteriormente, tem sido bem estudado<sup>35</sup>.

Os peixes são os principais, se não a única fonte de metilmercúrio<sup>10</sup>.

Verificaram que espécies carnívoras acumulam mais mercúrio, especialmente quando os peixes foram coletados no período de estiagem<sup>14</sup>. O Hg acumulado por peixes carnívoros da região amazônica foi o metilmercúrio e representa 73-98% do mercúrio total<sup>14,19</sup>.

Estudos realizados na Amazônia, observaram que a população ribeirinha da região do Tapajós, no Estado do Pará, tem no pescado sua principal fonte de alimentação. Nos últimos anos alguns estudos têm demonstrado que peixes da região apresentam teores de mercúrio acima do recomendável para consumo humano, colocando essa população como importante grupo de risco de contaminação ambiental pelo mercúrio<sup>21</sup>.

Dentre as manifestações neurocomportamentais, verificou-se que a exposição a baixos níveis de metilmercúrio causavam efeitos sobre a função motora nessa população<sup>11</sup>.

Sabe-se que a emissão anual de Hg para o ambiente da bacia Amazônica, proveniente da atividade aurífera, na década de 1980, pode ter alcançado cerca de 200 toneladas. Essa grande quantidade de mercúrio foi lançada nos principais rios e na atmosfera do ecossistema amazônico sendo o Brasil, a Bolívia, a Venezuela, a Guiana e a Colômbia os maiores emissores<sup>17</sup>.

O desmatamento da Amazônia seguido pela conversão dos solos para diferentes usos, também é apontado como uma das causas da remobilização do mercúrio. A erosão e lixiviação do mercúrio presente nos solos e a sua remissão para a atmosfera mantêm elevadas concentrações no ecossistema amazônico, mesmo após a diminuição do garimpo de ouro.

Outro fator que também favorece a mobilização do mercúrio e possivelmente a produção de metilmercúrio na Amazônia é a formação de grandes lagos para geração de energia hidroelétrica, via de regra resultando na inundação de extensas áreas florestadas. Portanto, a expansão do desmatamento para aumentar a área agropecuária poderia ser responsável pela manutenção das elevadas concentrações de mercúrio<sup>17</sup>. Pouco se sabe sobre a bioacumulação de Hg em função dos ciclos hidrológicos do ecossistema amazônico.

Em um período compreendido entre 1991 e 1993 foram analisadas amostras de cabelo de 270 ribeirinhos do rio Madeira, utilizando a espectrometria de absorção atômica com vapor frio. O teor médio de mercúrio no cabelo destes indivíduos, que faziam o consumo contínuo de peixes, foi 17,2 microgramas de mercúrio por grama de cabelo ( $\mu/g$ ), com valor máximo obtido de 303  $\mu/g$  em comparação a análise dos cabelos de 51 pessoas da região, mas com baixo consumo de peixe (controles)<sup>30</sup>.

Logo, fica explícito que o consumo freqüente de peixes aumenta, consideravelmente, a concentração do metal no organismo em comparação aqueles que não o fazem.

#### 4.1.4. AUTO-IMUNIDADE INDUZIDA PELO MERCÚRIO

Estudos realizados em laboratório com camundongos confirmaram a veracidade da toxicidade de metais, entre eles, o mercúrio. Verificou-se que esse metal, assim como outros, é capaz de induzir alterações nas células do sistema imune. Estas são caracterizadas pela produção de auto-anticorpos, aumento das imunoglobulinas séricas (IgE), ativação policlonal de linfócitos B e T e deposição de complexos imunes renais resultando em glomerulonefrite<sup>24</sup>.

Essas reações imunes que se desenvolvem em roedores, em resposta à exposição ao mercúrio, são controladas por múltiplos genes, sendo os mais importantes aqueles relacionados ao MHC<sup>4</sup>.

Desse modo, concluíram-se que a auto-imunidade induzida, em camundongos, pelo mercúrio, tinha como resposta uma produção de auto-anticorpos intensamente direcionados aos antígenos nucleares<sup>24</sup>.

Um trabalho realizado na Universidade de Maryland School of Medicine, com camundongos, constatou que a exposição a baixos níveis de mercúrio pode acelerar e agravar os sintomas do lúpus, mesmo quando a exposição ocorreu antes do desenvolvimento da doença. Um outro estudo com modelos experimentais analisaram as interações entre níveis baixos de exposição ao Hg e gatilhos (intrínseca ou adquirida) de doença auto-imune.<sup>32</sup>

O papel do Hg na expressão da doença auto-imune depende da co-exposição a outros fatores de risco, tais como predisposição genética, infecção ou exposição ao antígeno<sup>32</sup>. O Hg como fator de risco para doença auto-imune se encaixa no modelo conceitual de complexas interações gene-ambiente proposto para a doença auto-imune<sup>24</sup>.

Portanto, de acordo com os dados anteriormente mencionados, pode-se aventar a hipótese de que o Hg possa induzir uma doença auto-imune<sup>232</sup> e acelerar o curso de uma doença renal associada com a doença<sup>27</sup>.

## 5 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo observacional do tipo transversal em duas populações: caso e controle. Estes grupos abrangem pacientes com lúpus e indivíduos hígidos procedentes do Amazonas pareados por idade e sexo.

Devem ser considerados os seguintes critérios de:

### a) Inclusão

1. Foram selecionados 40 pacientes atendidos no Ambulatório Araújo Lima da UFAM com quatro ou mais dos 11 critérios para a classificação de LES do American College of Rheumatology (rash malar, fotossensibilidade, rash discóide, úlcera oral, artrite, serosite, nefrite, acometimento hematológico, acometimento neurológico, FAN positivo e critério imunológico)<sup>9</sup>.

2. Os pacientes envolvidos tem diagnóstico de LES há no máximo 12 meses;

3. Residem no Amazonas há pelo menos 2 anos antes do diagnóstico;

4. O grupo controle, em número de 40, residentes no Amazonas há pelo menos 2 anos.

### b) Exclusão

1. Pacientes procedentes de áreas de garimpo, já que o objeto de estudo é a contaminação por mercúrio oriunda da cadeia alimentar;

2. Com diagnóstico de LES há mais de 12 meses;

3. Não residem no Amazonas há pelo menos 2 anos.

4. Pacientes do grupo controle com cabelos pintados com tintura química.

Desses grupos em questão foram realizadas as seguintes etapas:

## 5.1 Coleta de dados

### 5.1.1 Avaliação clínica

Todos os participantes foram submetidos a um questionário que inclui dados demográficos, procedência, renda, história familiar de doenças auto-imunes e dieta piscívora; para os pacientes com diagnóstico de LES, foram acrescentadas informações quanto ao tempo e características da doença.

### 5.1.2 Amostras biológicas

Foi coletado de todos os participantes uma amostra de 5cm de cabelo proximal ao couro cabeludo, na região da nuca, numa quantidade equivalente a 5g para análise do mercúrio. Destes, também, foi coletado 10 mL de sangue venoso sem anticoagulante, em seguida separado o soro por centrifugação por 5 minutos a 3000 rpm e armazenado em freezer a -20°C para posterior realização das análises laboratoriais.

## 5.2 Análises laboratoriais

### 5.2.1 Análises de auto-anticorpos

Foram determinados os níveis séricos do Fator Anti-Nuclear (FAN) e anti-DNA de dupla hélice de alguns pacientes, usando células epiteliais humanas (HEp2) e *Crithidia luciliae* como substrato respectivamente; anticorpos anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB e anticorpo anticardiolipina que serão detectados por ELISA. A dosagem do complemento (C3 e C4) foi realizada por imunoturbidimetria<sup>7</sup>. Através dessa dosagem de anticorpos determinamos a frequência do FAN entre os casos e a determinação dos valores do SLEDAI, juntamente com os títulos de C3 e C4.

### 5.5.2 Análises bioquímicas e hematológicas

Foi realizado, em alguns pacientes em estudo, análises hematológicas (hemograma completo) e bioquímica (perfil lipídico, renal e hepático) com fins de definição de saúde nos indivíduos do grupo controle ou severidade da doença nos indivíduos com LES. Estes ensaios foram realizados nos Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Universitário Getúlio Vargas e do Departamento de Análises Clínicas do Curso de Farmácia da UFAM. Essa análise também serviu para ajudar a determinar os valores de SLEDAI dos pacientes com a doença.

### 5.2.3 Análise do mercúrio

O cabelo é o melhor biomarcador para exposição ao metil-mercúrio (MeHg), porque contém o SH-proteína grupos para os quais cátions MeHg tem alta afinidade. O MeHg está vinculado aos fios de cabelos na mesma proporção de concentração no sangue. Uma vez ligado aos fios, a concentração de MeHg permanece constante. A medição é útil porque, por assumir uma taxa constante de crescimento do cabelo (em média 1 cm por mês), é possível recapitular um perfil temporal de exposição ao MeHg em um passado recente. Para fazer isso é preciso analisar o Hg nos segmentos de cabelo medidos a partir do couro cabeludo<sup>5</sup>.

O mercúrio total foi dosado nos 5 cm proximais de cabelo. As etapas da análise de mercúrio total constaram: a) esterilização da vidraria com hidróxido de potássio (KOH), água desmineralizada e banho de ácido nítrico 5% (HNO<sub>3</sub>); b) cinco lavagens das amostras: a primeira com acetona, seguida de 3 banhos com água desmineralizada e uma última lavagem, novamente, com acetona. Todas essas etapas foram realizadas durante 10 minutos cada em mesa agitadora; c) o material era picado; d) digeridos em ácido nítrico e ácido sulfúrico em uma proporção de 2:1, respectivamente, com uma duração de 48h; e) a mensuração das



concentrações do mercúrio (Hg) foram realizadas por espectrometria de absorção atômica por vapor a frio; f) e os resultados foram obtidos em ppm (parte por milhão)<sup>19</sup>.

Vale lembrar que a análise foi realizada em todos os controles. Porém, somente 10 dos pacientes, que fazem parte do grupo de casos, foram dosados, sendo que um apresentou nível de mercúrio com valor igual a 0 (zero). Não se sabe ao certo a veracidade da mensuração do MeHg nesse paciente ou se houve algum erro durante a leitura do mesmo.

A dosagem do mercúrio somente nos 10 casos pode ser justificada pelo fato de a técnica, adotada na dosagem do mercúrio, ser nova e ainda ser foco de estudo. Isso contribui para a demora na análise das amostras somada a falta de rotina na prática da mesma, uma vez que são realizadas várias etapas até se chegarem aos valores mensurados de mercúrio. Além disso, considera-se também a disponibilidade do laboratório que é utilizado para outras atividades da universidade e a falta de mais equipamentos que agilizem o processo de dosagem.

#### 5.2.4. Análise de dados

Os dados foram apresentados por meio de gráficos e tabelas de frequência, sendo que para as variáveis quantitativas quando apresentando distribuição normal foi calculada a média e o desvio padrão (DP), no caso da não comprovação da hipótese de normalidade foi calculado a mediana e o desvio interquartil (di).

Na comparação da média de idade em relação aos grupos foi utilizado o teste t de Student e na comparação da renda per capita o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Na análise dos dados categorizados foi utilizada a estatística de teste do qui-quadrado de Pearson, sendo que no caso das tabelas dois por dois foi utilizado o teste exato de Fisher nos casos onde não era possível aplicar a estatística de Pearson<sup>2,27</sup>.

O software utilizado na análise dos dados foi o Epi-Info versão 3.5 para *Windows* desenvolvido e distribuído gratuitamente pelo CDC ([www.cdc.gov/epiinfo](http://www.cdc.gov/epiinfo)) e o nível de significância fixado para aplicação dos testes estatísticos foi de 5%..

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como pode ser observado no Tabela 1, não foi encontrada associação estatisticamente significativa dos grupos em relação a **procedência** ( $p = 0,302$ ). Levando-se em conta a cidade de Manaus, observa-se que 46,7% correspondeu ao grupo de casos e 53,3% ao grupo de controles. Considerando-se os demais municípios do Amazonas 60% foi equivalente aos casos; **sexo** ( $p = 0,120$ ), o grupo feminino representa 96,25% . Destes 48,1% são casos e 51,9% são controles. Cerca de 90% dos pacientes com lúpus são mulheres, onde o papel dos hormônios femininos parece provável ou um determinado efeito dos genes do cromossomo X, comparando-se com o papel protetor dos hormônios masculinos<sup>27</sup>; **idade** ( $p = 0,584$ ), observamos que média entre as idades dos casos variou de  $28,3 \pm 12,1$  anos e entre os controles  $25,8 \pm 7,3$  anos. Com isso, concluímos que a faixa etária mais freqüente da incidência da doença foi maior entre os 20 e 30 anos. Logo, o presente estudo nos permite ratificar dados presentes na literatura que faz a seguinte abordagem: “A doença é muito mais prevalente em mulheres, notadamente, na idade reprodutiva. Os primeiros sinais e sintomas aparecem entre a segunda e terceira décadas de vida<sup>16</sup>”; **renda per capita** ( $p < 0,001$ ), observou-se um p significativo onde a mediana entre os casos correspondeu a 240 e entre os grupos de 666,80.

Tabela 1. Distribuição segundo a frequência da procedência, sexo, idade e renda per capita em relação aos grupos de casos e controles.

Variáveis	Grupos				Total	P
	Casos (n = 40)		Controles (n=40)			
	<i>f<sub>i</sub></i>	%	<i>f<sub>i</sub></i>	%		
Procedência						0,302*
Manaus	28	46,7	32	53,3	60	

Demais municípios do AM	12	60,0	8	40,0	20	
Sexo						0,120**
Masculino	3	100,0	-	-	3	
Feminino	37	48,1	40	51,9	77	
Idade (anos)						0,584 <sup>†</sup>
10  --- 20	11	78,6	3	21,4	14	
20  --- 30	12	27,9	31	72,1	43	
30  --- 40	11	73,3	4	26,7	15	
40  --- 50	4	80,0	1	20,0	5	
≥ 50	2	66,7	1	33,3	3	
Média ± DP	28,3 ± 12,1		25,8 ± 7,3			
Amplitude	10 – 61		16 – 54			
Renda per capita						< 0,001 <sup>‡</sup>
Mediana	240,00		666,80			
d <sub>i</sub>	418,00		842,00			

\* Teste do qui-quadrado de *Pearson*; \*\* Teste Exato de *Fisher*; <sup>†</sup> Teste t de *Student* para comparação das médias; <sup>‡</sup> Teste de *Mann-Whitney*; d<sub>i</sub> = desvio interquartil.

Valor de p em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5%.

Entre os critérios de classificação da doença, exemplificados na Tabela 2, notou-se uma maior frequência de FAN (fator anti-nuclear), artrite e fotossensibilidade correspondendo a 92,3%, 79,5% e 76,9%, respectivamente. Em contrapartida, o critério menos frequente foi o rash discóide equivalendo a 10,3%. Vale comparar esses dados com um estudo realizado com 350 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico no serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas, UFMG, 1985-2007. Neste trabalho, os critérios diagnósticos mais comuns foram o FAN 98%, alterações hematológicas 81,8% e artrite 65,1%<sup>9</sup>.

O FAN, analisado como variável única, correspondeu a 90% de todos os pacientes. Mas, apesar de ser um dos 11 critérios estabelecidos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) para a classificação de LES, sua presença não necessariamente indica um estado patológico<sup>18</sup>.

Tabela 2. Distribuição segundo a frequência do critério de classificação ACR no grupo de casos.

<i>ACR (n = 39)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Fotos sensibilidade	30	76,9
Fan	36	92,3
Artrite	31	79,5
Rash malar	25	64,1
Úlcera oral	20	51,3
Hematológico	20	51,3
Renal	17	43,6
Sorológico	13	33,3
Neurológico	15	38,5
Serosite	10	25,6
Rash discóide	4	10,3

Ao analisarmos as manifestações sistêmicas, destacamos as mais encontradas: alterações cardíacas, pulmonares, neurológicas e hematológicas.

Dos 40 pacientes, 27,5% apresentaram dor torácica como principal manifestação cardíaca, seguidas de tamponamento cardíaco e miocardite correspondendo ambas a apenas 5%, como demonstrado na tabela abaixo. “Embora raro como manifestação inicial da doença, o comprometimento cardíaco no LES tem sido descrito entre 50 e 89% ao longo da evolução da doença. A miocardite é encontrada em 5 a 75% e a dor torácica pode estar presente em até 50% dos doentes<sup>9</sup>”.

Tabela 3. Distribuição segundo a frequência das alterações cardíacas no casos estudados.

<i>Manifestações cardíacas (n = 40)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Dor torácica	11	27,5
Tamponamento cardíaco	2	5,0
Miocardite	2	5,0

Na tabela 4, foram analisadas as manifestações pulmonares no LES. A pneumonia bacteriana foi a mais freqüente, correspondendo a 7,5% dos casos. A hipertensão pulmonar ocorre em até 14% em avaliação inicial e em 43% nos seguimento clínico dos pacientes lúpicos, tem desenvolvimento insidioso e é uma importante causa de morbidade<sup>9</sup>. Porém, em nosso estudo a manifestação só se fez presente em apenas 5%.

Tabela 4. Distribuição segundo a frequência das alterações pulmonares no grupo de casos.

<i>Manifestações pulmonares (n = 40)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Pneumonia bacteriana	3	7,5
Hipertensão pulmonar	2	5,0

Das manifestações do sistema nervoso central, a psicose e a convulsão são as únicas consideradas como critérios de classificação da doença, podendo até mesmo aparecer como primeira manifestação<sup>16</sup>. A convulsão pode estar presente em 10 a 20% dos casos, a neuropatia periférica em 10 a 15% e a psicose, de origem orgânica, em 5% dos doentes, em geral no primeiro ano da doença<sup>9</sup>. Entre os 40 pacientes, trinta e nove apresentaram manifestações neurológicas. Convulsão e neuropatia periférica foram as alterações mais frequentes, ambas correspondendo a 20,5% e a psicose apenas 2,6%. Nota-se que as porcentagens encontradas no nosso estudo foram próximas ao valores encontrados na literatura. Outras manifestações, como: cefaléia, alterações de humor, meningite e disfunção cognitiva corresponderam a 46,2 %.

Tabela 5. Distribuição segundo a frequência das alterações neurológicas no grupo de casos.

<i>Manifestações neurológicas (n = 39)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Convulsão	8	20,5
Neuropatia periférica	8	20,5
Psicose	1	2,6
Outros	18	46,2

Neste estudo foi observado que entre as manifestações hematológicas (Tabela 6) a leucopenia foi a mais predominante (28,2%) seguidas da linfopenia (25,6%), AHAI (23,1%) e PTI (17,9%). A leucopenia é a segunda manifestação mais freqüente podendo estar presente em até 50% dos casos. Já a linfopenia apresenta uma variabilidade muito grande de cerca de 20 a 75% dos pacientes estando relacionada a atividade inflamatória da doença<sup>9</sup>; a anemia hemolítica auto-imune (AHAI) pode aparecer como primeira manifestação em cerca de 2% a 6% das ocorrências e a plaquetopenia, que caracteriza a púrpura trombocitopênica idiopática (PTI), pode aparecer em 15% dos casos de LES e em menos de 5% como manifestação inicial<sup>15</sup>.

Tabela 6. Distribuição segundo a frequência das alterações hematológicas nos casos estudados.

<i>Alterações hematológicas (n = 39)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Leucopenia	11	28,2
Linfopenia	10	25,6
AHAI	9	23,1
PTI	7	17,9

Na análise sorológica, obtivemos o anticorpo anti-DNA como o mais freqüente, correspondendo a 62,5% (Tabela 7). Sendo este considerado um dos mais comuns da

doença<sup>16</sup>. Esse anticorpo possui alta especificidade e a sua presença em altos títulos está relacionada com a atividade da doença<sup>9</sup>.

Tabela 7. Distribuição segundo a frequência da sorologia dos casos estudados.

<i>Sorologia (n = 40)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
Ac anti-DNA	25	62,5
Ac anti-Ro	6	15,0
Ac anti-Sm	5	12,5
Ac anti-RNP	2	5,0
GPL	6	15,0
FR positive	4	10,0
MPL	4	10,0

A figura abaixo, ilustra a análise da manifestação renal nos pacientes analisados. Observa-se que dos 40 casos, 42,5% apresentaram alguma manifestação renal. O envolvimento desse órgão constitui-se ainda num dos principais determinantes da morbimortalidade de pacientes com lúpus, junto com as complicações infecciosas, que aumentam significativamente com a utilização de terapêuticas com maior efeito imunossupressor. O comprometimento renal na doença é freqüente, manifesta-se clinicamente em 50 a 70% dos pacientes, mas praticamente 100% deles têm doença à microscopia eletrônica. Em geral, as manifestações renais surgem nos primeiros 2 a 5 anos da doença, e quando se apresentam como manifestação inicial do LES (3 a 6%), pioram o prognóstico desses pacientes<sup>9</sup>.



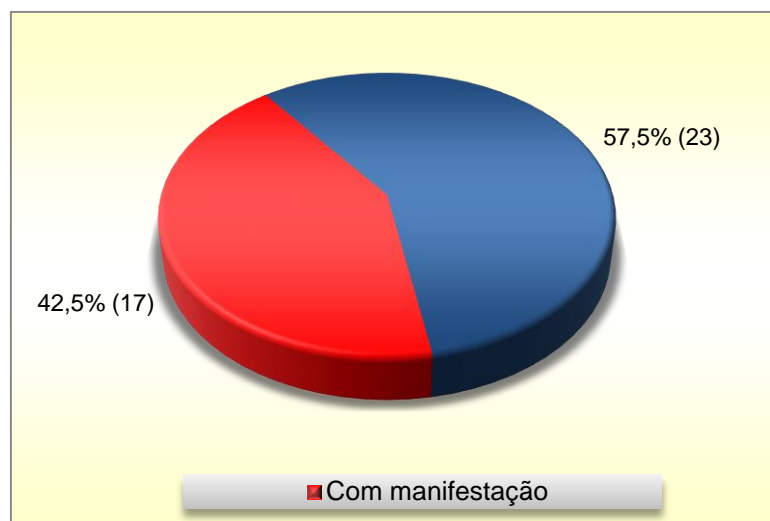


Figura 2. Distribuição segundo a frequência das manifestações renais.

Entre os casos analisados, 6 foram submetidos à biópsia, ou seja, 15% do total, conforme descrito na Tabela 8. Dentre os estudados, 83% apresentou algum tipo de glomerulonefrite. Dos que manifestaram alterações, a frequência entre as glomerulonefrites foi de 1:1:2:1 (mensangial-classe II, focal-classe III, proliferativa difusa-classe IV, membranosa-classe V, glomerulopatia esclerosante avançada – classe VI). A classe IV é considerada a forma mais grave e a mais comum correspondendo a maioria dos casos<sup>15</sup> descritos na literatura, e o que pode ser observado em nosso estudo. Já a classe VI não foi encontrada nos pacientes submetidos à biópsia.

Tabela 8. Distribuição segundo a biópsia renal e a classe glomerulonefrite.

<i>Biópsia/Classe</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
<b>Biópsia (n = 40)</b>		
Sim	6	15,0
Não	34	85,0
<b>Classe (n = 6)</b>		
I	1	16,7
II	1	16,7
III	1	16,7

IV	2	33,3
V	1	16,7

A Figura 3, representa as manifestações gerais, tanto laboratoriais quanto clínicas, mais frequentes nos pacientes lúpicos. Observa-se que de todas as manifestações analisadas, os anticorpos anti-DNA apresentaram maior frequência (62,5%). Uma característica sorológica do lúpus é a presença de vários tipos de anticorpos, sendo o anti-DNA o mais freqüente deles. Além disso, altos títulos desses anticorpos estão normalmente associados a danos renais, a nefrite lúpica<sup>23</sup>.

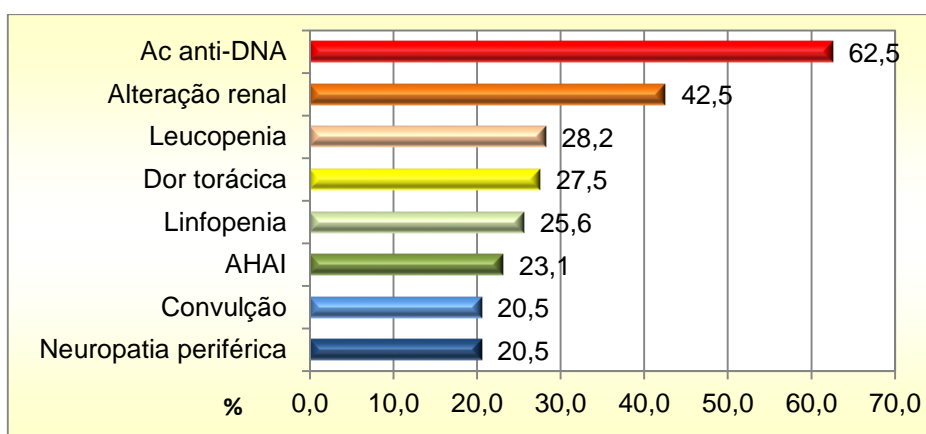


Figura 3. Distribuição segundo as manifestações mais frequentes nos casos estudados.

O SLEDAI é um escore que correlaciona as manifestações clínicas e laboratoriais com a atividade da doença<sup>15</sup>. No estudo em questão, esta variável teve uma média de 11,2. O escore oscilou entre 2 e 21. Observou-se que a maior frequência, 30% do total, correspondeu ao SLEDAI entre 04-08 e entre 12-16. (Tabela 9).

Tabela 9. Distribuição em relação a frequência e a média do SLEDAI.

<i>SLEDAI (n = 40)</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>
0 ---  04	3	7,5
04 ---  08	12	30,0
08 ---  12	9	22,5
12 ---  16	12	30,0
16 ---  20	3	7,5
• > 20	1	2,5
Média	11,2	
Amplitude	2 - 21	

Na análise de consumo de peixes, como mostrado na Tabela 10, verificou-se que a ingestão diária no grupo de casos foi de 40% e no grupo controle de 12,5%. Porém, analisando-se o não consumo diário a frequência nos casos foi de 60% se comparado com os controles que correspondeu a 87,5%, sugerindo uma relação entre o consumo de peixes e os grupos estudados ( $p = 0,065$ ). A prática de comer peixe é o mais importante preditor de exposição ao Hg na maioria das áreas da Amazônia, explicando uma parte substancial da variação total e concentração de metil-Hg em sangue e cabelo. Com base nestes bioindicadores, bem como medidas de Hg nos tecidos de peixes, muitos estudos na Amazônia têm exposição de Hg associada com o consumo de peixe. Estes estudos suportam a observação universal que a frequência no consumo de peixe constitui a fonte mais importante de exposição mundial ao Hg.<sup>25</sup>

Tabela 10. Distribuição segundo a frequência de consumo de peixe.

<i>Consumo de peixe</i>	<i>Grupos</i>				<i>Total</i>
	<i>Casos (n=10)</i>		<i>Controles (n=40)</i>		
	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>	
Diariamente	4	40	5	12,5	9

Semanal/Mensal/Raramente	6	60	35	87,5	41
Total	10	100	40	100	50

$p = 0,065$  (Teste exato de *Fisher*).

Na tabela 11, analisamos a ingestão de peixes piscívoros entre os grupos. Foi observado que nos casos o consumo foi de 70% e entre os controles de 22,5% sendo observada uma relação significativa entre a ingestão de peixes piscívoros entre os grupos ( $p = 0,007$ ). O mercúrio no cabelo é geralmente considerado como um bom indicador da exposição mercurial através do consumo de peixe carnívoro<sup>25</sup>. O consumo de diferentes espécies de peixes podem apresentar uma ampla gama de Hg acumulado pela exposição<sup>5</sup>. Lipossolubilidade de mercúrio significa que predadores mais elevados apresentam os maiores níveis de Hg, devido à bioamplificação ao longo da cadeia alimentar. Consumo de organismos aquáticos contaminados com mercúrio é a rota de exposição principal para os seres humanos<sup>14</sup>.

Logo, com esses dados podemos notar que os casos fazem um maior consumo de peixes piscívoros ou carnívoros e devido a isto, nota-se que este mesmo grupo possui taxas mais elevadas de mercúrio quando comparada aos controles, como será detalhado a seguir.

Tabela 11. Distribuição segundo a frequência de consumo de piscívoros e não piscívoros entre os grupos.

<i>Variáveis</i>	<i>Grupos</i>				<i>Total</i>	<i>p*</i>
	<i>Casos</i> ( <i>n = 10</i> )		<i>Controles</i> ( <i>n=40</i> )			
	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>	<i>f<sub>i</sub></i>	<i>%</i>		
Consumo de piscívoros						0,007
Sim	7	70	9	22,5	16	
Não	3	30	31	77,5	34	

\* Teste Exato de *Fisher*.

Valor de *p* em **negrito itálico** indica diferença estatística ao nível de 5%.

Na figura abaixo (Figura 4), ilustramos a diferença estatisticamente significativa encontrada ao nível de 5% da mediana de mercúrio (Hg) entre os grupos. Logo, podemos observar que a média de mercúrio analisada foi de 31,50 entre os casos sendo maior que 9,26 dos controles ( $p < 0,001$ ).

Podemos associar esse aumento do nível de Hg com a frequência e o consumo de peixes piscívoros expostos anteriormente. Existe uma vasta gama de exposição, com média dos níveis de Hg no cabelo acima de  $15\mu\text{g/g}$  em diversas comunidades amazônicas, situando-os entre os mais altos níveis relatados no mundo de hoje<sup>25</sup>. O Hg foi mostrado para induzir doença auto-imune em animais susceptíveis, com efeitos que incluem a superprodução de auto-anticorpos específicos e sinais fisiopatológicos do lúpus<sup>26</sup>.

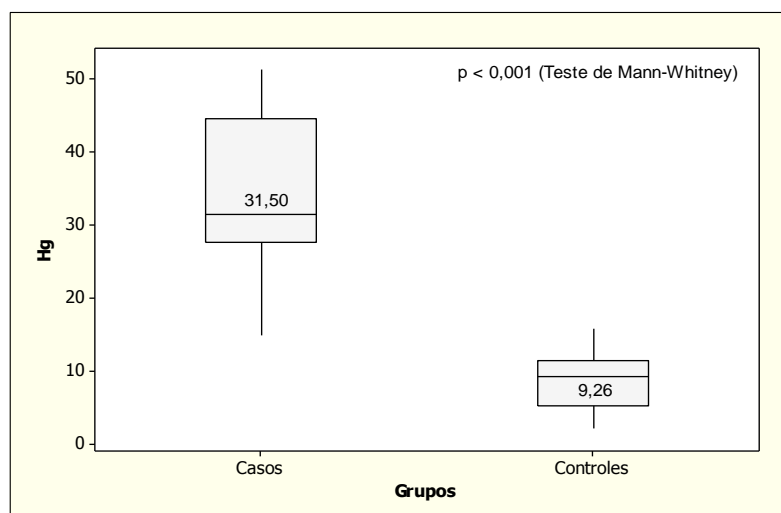


Figura 4. Distribuição segundo a mediana de mercúrio (Hg) em relação aos grupos.

Na figura 5, analisamos a relação dos níveis de mercúrio (Hg) com os valores do SLEDAI. O coeficiente de correlação obtido foi de  $r = 0,47$ . Com isso, observou-se que não foi encontrada correlação estatisticamente significativa ao nível de 5% ( $p = 0,206$ ) entre o

valor de Sledai e o mercúrio (Hg). Isto pode ser explicado pelos inúmeros fatores de risco indutores da doença não podendo considerar o Hg como um único fator determinante da gravidade da enfermidade. O Hg por si só, não pode induzir doença auto-imune ou disfunção auto-imune, assim como a gravidade da doença, exceto em circunstâncias especiais, tais como predisposição genética, como demonstrado em ratos propensos ao lúpus<sup>26</sup>.

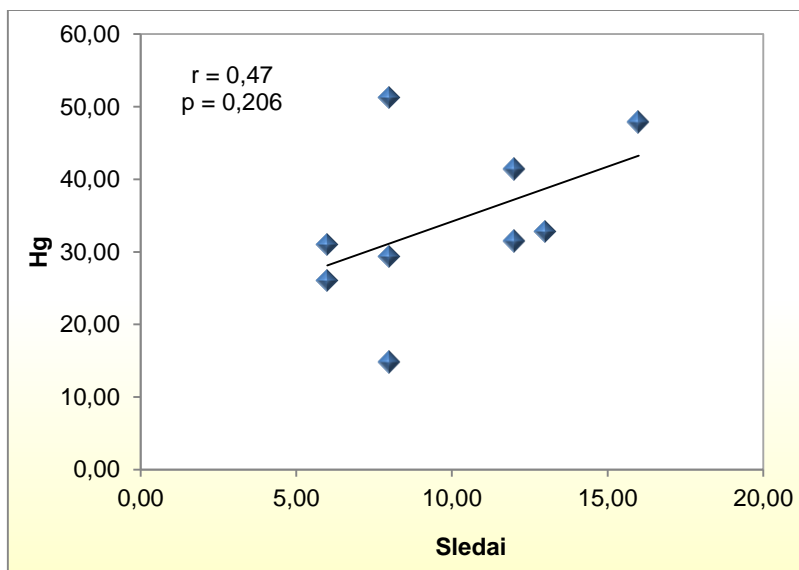


Figura 5. Correlação entre o valor de Sledai e o mercúrio (Hg) em pacientes com lúpus.

Comparando-se a mediana do mercúrio não foi observado diferença significativa do entre os critérios de classificação da doença (ACR) (Tabela 12). Os compostos de mercúrio são considerados altamente tóxicos principalmente para os efeitos sobre o sistema nervoso, rins e pele. Os efeitos auto-imunes de Hg em estirpes sensíveis incluem sinais de patologia sistêmica e órgão-específicos<sup>27</sup>. Baseado nisto, supõe-se que o Hg aja como um fator colaborador para o surgimento dessas manifestações sistêmicas, algumas delas enquadradas nos critérios de diagnóstico da doença. Porém, esta suposição não pode ser reafirmada em nosso estudo.

Tabela 12. Distribuição segundo a frequência do critério de classificação ACR dos pacientes atendidos em relação a mediana do mercúrio.

ACR	N	Mediana	d <sub>i</sub>	p*
Fotos sensibilidade				0,798
Sim	7	32,8	21,8	
Não	2	30,2	1,7	
Rash malar				0,606
Sim	6	36,4	21,8	
Não	3	31,0	3,5	
Úlcera oral				0,606
Sim	6	30,4	21,8	
Não	3	32,8	10,4	
Hematológico				0,624
Sim	4	32,2	10,0	
Não	5	31,0	15,3	
Renal				0,796
Sim	3	31,5	10,4	
Não	6	31,1	21,8	
Sorológico				0,242
Sim	2	40,4	15,1	
Não	7	31,0	15,3	
Neurológico				0,624
Sim	4	31,2	24,2	
Não	5	32,8	29,3	
Rash discóide				0,242
Sim	2	15,8	31,5	
Não	7	32,8	18,6	

\* Teste de Mann-Whitney.

Na tabela 13, avaliamos a associação da mediana do mercúrio (Hg) com as manifestações sistêmicas mais comuns da doença nos pacientes em estudo. Há evidências em seres humanos e animais que a exposição ao metilmercúrio (MeHg) pode causar efeitos adversos sobre o sistema cardiovascular em desenvolvimento e em adultos e ao avaliar efeitos

neuroológicos, notou-se um comprometimento desse sistema por valores baixos de mercúrio<sup>14</sup>. Nesta análise não obtivemos correlação ao analisar esses parâmetros. Notou-se que não houve diferença entre as medianas do Hg em relação as manifestações.

Tabela 13. Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) em pacientes em relação as manifestações da doença.

Manifestações	N	Mediana	d <sub>i</sub>	p*
Cardíacas				0,998
Dor torácica				
Sim	4	31,4	42,2	
Não	6	31,2	3,3	
<i>Neurológicas</i>				
Convulsão				0,796
Sim	3	31,5	47,9	
Não	6	31,9	12,1	
Hematológicas				
Leucopenia				0,242
Sim	2	40,4	15,1	
Não	7	31,0	15,3	
Linfopenia				0,379
Sim	2	16,4	32,8	
Não	7	31,5	18,6	

\* Teste de Mann-Whitney.

Foi observado entre o grupo de casos uma mediana de 28,1 de mercúrio para os que apresentavam hipertensão arterial sistêmica (HAS) comparado com 31,5 dos que não a apresentavam (Tabela 14). Ao analisar dois estudos realizados, encontramos duas vertentes que defendem idéias opostas dessa relação entre os dois parâmetros em questão. O primeiro estudo relatou que não havia uma tendência para um menor aumento da pressão arterial com idade entre os maiores consumidores de peixe. Por outro lado, um segundo estudo defendeu a



idéia de que existe uma relação da pressão arterial direta significativamente associado com os níveis de Hg total de cabelo<sup>25</sup>.

Neste contexto, nosso estudo entra em concordância com o primeiro estudo citado em relação ao grupo de estudo.

Tabela 14. Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) nos casos em relação a HAS.

HAS	N	Mediana	d <sub>i</sub>
Sim	2	28,1	26,6
Não	7	31,5	18,6

p = 0,393 (Teste de Mann-Whitney).

A tabela 15, ilustra a comparação da mediana do mercúrio (Hg) entre os tipos de anticorpos não apresentando diferença significativa entre elas. Porém, é observada a presença desses anticorpos nos pacientes da análise. Os anticorpos antinucleares (anti-DNA, anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, anti-La e anti-histona) são mais freqüentemente observadas nos ribeirinhos comedores de peixe aos consumidores de baixa a partir de uma área urbana<sup>25,27</sup>. Em ratos, há uma interação clara do gene-ambiente envolvidos com manifestações auto-imunes induzidas por Hg e MeHg, tanto em termos de fisiopatologia e também a auto-anticorpos específicos produzidos.<sup>23,32</sup>

Tabela 15. Distribuição segundo a mediana do mercúrio (Hg) em pacientes em relação aos tipos de anticorpos.

Sorologias	N	Mediana	d <sub>i</sub>	p*
Ac anti-DNA				0,192
Sim	8	31,2	16,7	
Não	2	41,4	19,8	
Ac anti-Sm				0,210
Sim	3	14,8	41,4	
Não	7	31,5	18,6	

Ac anti-RNP				0,117
Sim	2	44,7	6,5	
Não	8	30,2	11,8	
Ac anti-Ro				0,754
Sim	5	31,5	6,7	
Não	5	31,0	12,1	
FR positivo				0,117
Sim	2	42,1	18,5	
Não	8	30,2	16,0	

\* p = 0,242 (Teste de Mann-Whitney).

## 7 CONCLUSÃO

A contaminação de mercúrio na região amazônica tem sido foco de estudos, uma vez que se observam altos índices desse metal na população residente nesse ecossistema em associação com a frequência do consumo de peixes piscívoros. O acúmulo de metal por essa via de exposição alimentar quando associado a algum fator predisponente pode estar relacionada à indução e aceleração de doenças auto-imunes, como o Lúpus.

A análise desse estudo sugeriu uma clara relação positiva, exposição-doença, relacionando os valores aumentados desse metal e a frequência diária da ingestão de peixes piscívoros no grupo de casos. Porém, não tiveram relação com a intensidade da doença (SLEDAI) nem com os tipos de auto-anticorpos.

Com a idéia de que o mercúrio possa ser um indutor da auto-imunidade, muitos estudos tem sugerido a mudança de hábitos alimentares para o consumo preferencial das espécies de peixes menos contaminado (não piscívoros).

Logo, as pesquisas que embasam a correlação de grande complexidade entre o mercúrio e o Lúpus devem ser levadas adiante, a fim de que posteriormente possa ser elucidada a real influência do mercúrio na indução de doenças auto-imunes, como o lúpus.

## CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

	Descrição	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão de Literatura	R	R	R	R	R	R	R	R				
2	Coleta de dados – Atendimento de pcts. controles e com LES	R	R	R	R	R	R	R	R				
3	Análise Laboratorial de Amostra Sanguínea	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
4	Dosagem de Hg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
5	Elaboração da apresentação parcial			R	R								
6	Elaboração e entrega do Relatório Parcial						R						
7	Elaboração de resumo para apresentação em congresso								R				
8	Elaboração do Resumo e Relatório Final										R	R	
9	Preparação da Apresentação Final para o Congresso												X

R = Atividade já realizada

X = Atividade ainda não realizada

N = Atividade não realizada

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMORIM, M; MERGLER, D; BAHIA, MO, et al. Cytogenetic damage related to low levels of methylmercury contamination in the Brazilian Amazon. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, v. 72, n.4, p. 497-507, 2000.
2. ARANGO, H.G. *Bioestatística Teórica e Computacional*, editora Guanabara Koogan, 2001.
3. AZEVEDO, F.A. *Toxicologia do mercúrio*. Rima, São Paulo, 2003
4. BAGENSTOSE, L.M.; Salgame, P.; MONESTIER, M. *Murine Mercury-induced Autoimmunity*. Temple University School of Medicine, Philadelphia. *Immunologic Research.*, 1999
5. BOISCHIO, A.A.P; CERNICHIARI, E., Henshel, D. Avaliação de mercúrio em segmentos de cabelo dos indivíduos de uma única família residente na Bacia do Alto Madeira, Amazônia Brasileira. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 16(3):681-686, jul-set, 2000
6. CÂMARA, V.M., SILVA, A.P., GALVÃO, L.A.C. *Mercúrio e sua História*. Associação de combate aos poluentes. Disponível em: <http://www.acpo.org.br/campanhas/mercurio/historia.htm>. Acesso em 05 de Janeiro de 2010.
7. CARDOSO, PCS; LIMA, PL; BAHIA, MO, et al. Efeitos biológicos do mercúrio e seus derivados em seres humanos - uma revisão bibliográfica. *Rev. Par. de Méd.* v.15, n.4, p. 51-58, 2001.
8. CARDOSO, ACD. - Padrões histopatológicos em biópsias renais realizadas no Hospital Getúlio Vargas - Amazonas. São Paulo, 2002, 96p, Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Paulo.

9. Carvalho.M.A.P, Lanna.C.C.D, Bértolo. M.B. Reumatologia diagnóstico e tratamento. 3ª. Edição. Guanabara koogan. RJ, 2008.
10. CLARKSON, TW, MAGOS, L, MYERS, GJ. *The toxicology of mercury--current exposures and clinical manifestations*. N Engl J Med 2003; 349:173
11. DOLBEC, J., MERGLER, D., PASSOS, C.J.S., MORAIS, S.S., LEBEL, J. *Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos river, Brazilian Amazon*. *Internat Arch Occupat Environm Health* 73: 195-203., 2000
12. FADINI, PS; JARDIM, WF. Is the Negro River basin (Amazon) impacted by naturally occurring Mercury?. *The Science of the Total Environmental*, v.275, p.71-82, 2001.
13. GONÇALVES, A., GONÇALVES, N.N.S. *Exposição humana ao mercúrio na Amazônia brasileira: uma perspectiva histórica*. *Rev Panam Salud Publica* vol.16 no.6 Washington Dec. 2004
14. HACON, S; BARROCAS, P.R.G; VASCONCELOS, A.C; BARCELLOS, C. Uma revisão das pesquisas sobre contaminação por mercúrio na Amazônia com ênfase no território brasileiro. *CAD. Saúde Pública* vol.24 n Carioca de julho de 2008.
15. HYLANDER, L. D., PINTO, F. N., GUIMARÃES, J. R. D., MEILI, M., OLIVEIRA, L. J., CASTRO E SILVA, E. 2000. Fish mercury concentrations in the Alto Pantanal, Brazil: influence of season and water parameters. *Sci. Total Environ*. 261: 9-20
16. LOPES, A.C., *Tratado de Clínica Médica*, vol. 1, São Paulo: Roca, 2006.
17. LACERDA, L.D., MALM, O. Contaminação por mercúrio em Ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. *estudos avançados* 22 (63), 2008 173
18. LORA,P.S.,LAURINO,C.C.F., FREITAS, A.E., BRENOL, J.C.T., MONTECIELO, O., XAVIER, R.M. *Padrões de Imunofluorescência do Fator Antinuclear*

(FAN) em Células HEp-2 de Soros Reagentes para Anti-SSA/Ro. Rev Bras Reumatol, v. 47, n.1, p. 4-9, jan/fev, 2007.

19. MAGOS, L; MYERS, G. The toxicology of mercury – Current exposures and clinical manifestations. The New England Journal of Medicine, 2003, v.349, n.18, 1731-1737.

20. MAURICE-BOURGOIN, L., QUIROGA, I., GUYOT, J.L., MALM, O., 1999. Mercury pollution in the upper Beni River basin, Bolivia. AMBIO, Vol. 28(4): 302-306

21. Mecanismo de Toxicidade. Disponível em: [http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g1\\_mercurio/bibliog.html](http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g1_mercurio/bibliog.html). Acessado em 02 de janeiro de 2010

22. PINHEIRO, M.C.N., GUIMARÃES, G.A., NAKANISH, J., OIKAWA,T., VIEIRA, J.L., QUARESMA, M., CARDOSO, B., AMORAS, W. *Avaliação da contaminação mercurial mediante análise do teor de Hg total em amostras de cabelo em comunidades ribeirinhas do Tapajós, Pará, Brasil*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical- 33(2):181-184, mar-abr, 2000.

23. QINGA.X. P, THOMASC. M. D.B, BARRATD. F, HOGARTHE. M. P, and Puttermana.C. Pathogenic Anti-DNA Antibodies Modulate Gene Expression in Mesangial Cells: Involvement of HMGB1 in anti-DNA antibody induced renal injury. *Immunol Lett*. 2008 November 16; 121(1): 61–73. doi:10.1016/j.imlet.2008.08.007.

24. RAHMAN, A.; ISENBERG D.A., *Mechanisms of disease Systemic Lupus Erythematosus*; The new England Journal of medicine; February 28, 2008

25. ROSE, N.R., Mechanisms of autoimmunity, *Semin. Liver Dis.* **22** (2002), pp. 387–394.

26. ROWLEY, B.;MONESTIER, M., *Mechanisms of heavy metal-induced autoimmunity*; Temple University School of Medicine, Philadelphia, 14 may, 2004

27. SANTOS, E.C.O, CÂMARA, V.M, BRABO, V.M, LOUREIRO, E.C.B., JESUS, I.M., FAYAL,K., SAGICA,F. *Avaliação dos níveis de exposição ao mercúrio entre índios Pakaanóva, Amazônia, Brasil*. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 19(1):199-206, jan-fev, 2003
28. SHOMOM,M. *Study Suggests Low-Dose Mercury Accelerates Autoimmune Disease*. Living Well With Autoimmune Disease. September, 2003.
29. SILBERGELD, E.K; SILVA, I.A.; NYLAND, J.F . Mercury and autoimmunity: implications for occupational and environmental health. Department of Environmental Health Sciences, The Johns Hopkins University Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD 21205, USA, 2005.
30. SILVA-FORSBERG, MCS; FORSBERG, BR; ZEIDEMANN, VK. Mercury contamination in humans linked to river chemistry in the Amazon basin. *Ambio*, v 28, n.6, p. 519-20, 1999.
31. SOUSA, J.R., BARBOSA, A.C. *Contaminação por mercúrio e o caso da Amazônia*. Química e Sociedade. N° 12, Novembro 2000.
32. TOMIYASU, T; NAGANO, A; NORINOBU, Y, *et al*. Mercury contamination in the Yatsushiro Sea, South-western Japan: spatial variations of Mercury in sediment. *Sci Total Environ*,v.257, n.2/3, p. 121-132, aug. 2000.
33. VIA, C.S., NGUYEN, P., NICULESCU.F., PAPADIMITRIOU. J., HOOVER,D., SILBERGELD, E.K. *Low-Dose Exposure to Inorganic Mercury Accelerates Disease and Mortality in Acquired Murine Lupus*. Environmental Health Perspectives • VOLUME 111. NUMBER 10 , August 2003
34. VIEIRA, S. *Bioestatística, Tópicos Avançados* – Rio de Janeiro. 2.ed. – RJ: Elsevier, 2004.



35. WHO, World Health Organization. Elemental Mercury and Inorganic Mercury Compounds : Human Health Aspects. Concise International Chemical assessment Document 50. Geneva, 2003.

36. YALLOUZ, A.V., CALIXTO, T., HACON, S. *Semiquantitative mercury determination in fish: a tool for poisoning prevention*. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2002) 74(1): 187–191