UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

LEONARDO LA SERRA

Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos

Ribeirão Preto

2015

LEONARDO LA SERRA

Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos

Defesa de dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Investigação Biomédica

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Ferreira Roselino

Ribeirão Preto

2015

(Verso folha de rosto)

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

Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos.

FICHA CATALOGRÁFICA

La Serra, Leonardo

Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos. / Leonardo La Serra; orientadora Ana Maria Ferreira Roselino. – Ribeirão Preto, 2015.

171f.:il.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica. Área de concentração: Investigação Biomédica.

1. Pênfigos. 2. Metais pesados. 3.Bacias hidrográficas 4. Chumbo. 5.Cobre. 6.Zinco

Nome: LA SERRA, Leonardo

Título: Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos.

Dissertação de Mestrado compõe o projeto Temático FAPESP de número: 2010/51729-2.

Defesa de dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Investigação Biomédica

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof. Dr._____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr._____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr._____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha família,
Pois são meu alicerce e por sempre terem acreditado no melhor de mim.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por sempre ter me guiado, nunca me desamparado e por ter colocado no meu caminho as pessoas maravilhosas, as quais tive o prazer de conhecer e trabalhar nesse período enriquecedor da minha vida.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Ana, pela confiança que depositou em mim ao me confiar esse trabalho. Sou muito grato pela paciência que teve comigo, pelos valiosos ensinamentos, pela parceria durante esses anos de mestrado e por ser uma pessoa com um astral excepcional. Muito obrigado.

Agradeço à professora Susana do LEPA, por ter me recebido, orientado e ter disponibilizado seu laboratório quando precisei para que minhas coletas e esse projeto acontecessem.

Agradeço, em especial, à Tânia, por ter sido a pessoa responsável por me apresentar à minha orientadora e à professora Susana. Agradeço por ter me dado todo o apoio e por ter me ajudado e orientado quando tive dúvidas, mas também, agradeço pelos conselhos dados com a rispidez e carinho quase maternos.

Agradeço à CAPES por ter concedido minha bolsa e ao Emerson da CPG, pelo auxílio.

Agradeço a todo o time do laboratório de dermatologia, Alines (Lobo, Rafaela e Turatti), Natálias (Citta e de Paula), Sebastian, Ciro, Maria, Daniela e Tamíris, pelo apoio, aprendizagem e também pelas muitas risadas e bons momentos no laboratório, na coleta ou no bar. Obrigado pela amizade. Agradeço especialmente a Natália de Paula, que sempre esteve disposta a ajudar a mim e a todos os pós-graduandos no laboratório, mesmo quando não podia, sempre com sorriso no rosto e de bom coração. Obrigado por me lembrar que podemos ajudar ao próximo sem esperar nada em troca.

Agradeço a todos os amigos V.I.P.Gs do mestrado (Josi, Cris, Ti, Roberta, Lívia, Lu, Claudinha e Bruno) pela pareceria, companheirismo, pelas lágrimas, angústias e risadas compartilhadas nesse momento tenso e especial. Sem vocês essa fase não teria sido tão incrível.

Agradeço a todos do LEPA, em especial o amigo Cassio, pela amizade e ajuda, e ao amigo e parceiro Rudison.

Agradeço aos amigos Juninho, Rafa e Campos pela amizade, apoio e por entenderem minha ausência. Agradeço ao Adriano, pela paciência, por estar sempre ao meu lado e por acreditar.

Por último, mas não menos importante, agradeço à minha família, minha mãe e meu irmão, pelo amor e por sempre acreditarem em mim. Se cheguei até aqui hoje é porque vocês me apoiaram em cada passo.

EPÍGRAFE

“Aprendi que coragem não é a ausência do medo, mas o triunfo sobre ele. O homem corajoso não é aquele que não sente medo, mas aquele que vence o medo”

Nelson Mandela

RESUMO

LA SERRA, L. Relação da concentração de metais pesados em amostras de água das bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu, Sapucaí/Mirim e do aquífero Guarani com a etiopatogênese dos pênfigos. 2015. 171 f. Dissertação (Mestrado) – Área de Clínica Médica - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Pênfigos são doenças bolhosas autoimunes com produção de autoanticorpos contra proteínas de adesão dos queratinócitos. A região nordeste (NE) do estado de São Paulo (ESP) é endêmica para o pênfigo foliáceo (PF) e pênfigo vulgar (PV). Metais pesados - chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cobre (Cu) e zinco (Zn) - têm sido relacionados à autoimunidade e aos pênfigos. A possível contaminação do Aquífero Guarani e das bacias hidrográficas da região NE do ESP por metais pesados tem sido indagada. **Objetivos.** Avaliou-se: (i) cádmio (Cd), Pb, Cu, cromo (Cr), Hg, manganês (Mn) e Zn em amostras de água residencial em Ribeirão Preto (representando o Aquífero Guarani) e dos rios Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim; (ii) Pb, Cu e Zn em amostras de pacientes com PF, PV e controles; (iii) a exposição ocupacional ou por lazer às diferentes exposições aos metais pesados em pacientes e controles. **Materiais e Métodos.** A quantificação dos metais pesados em amostras de água, e de sangue total e de soro de 118 pacientes com pênfigo (56 PV; 62 PF) e de 135 controles foi realizada por Espectrofotometria de Absorção Atômica (com chama, forno de grafite e gerador de hidretos). **Resultados.** A análise do Cu (18,25 $\mu g.L^{-1}$) no rio Sapucaí/Mirim e do Hg (0,24 $\mu g.L^{-1}$) no rio Mogi-Guaçu mostrou valores acima da legislação vigente. Os resultados limnológicos caracterizaram a bacia do rio Mogi-Guaçu como impactada. As concentrações dos metais, em amostras de água de abastecimento urbano, apresentaram grande variação entre as residências. A concentração de Cu sanguíneo resultou maior no gênero feminino (111,9 µg%; 94,5 µg%). Em relação aos moradores, maiores concentrações de Zn (89,1 µg%) foram observadas na cidade de Batatais, comparada a Ribeirão Preto (76,5 µg%). Concentrações de Pb acima do valor de referência foram encontradas mais frequentemente no grupo PV em relação aos controles (31,1%; 15,7%, respectivamente). As concentrações de Zn foram menores entre PV e PF, comparados aos controles (75,4 µg%; 80,1 µg%; 83,4 µg%, respectivamente). A análise multivariada mostrou maior concentração do Pb para idosos e expostos aos metais. As variáveis idade, exposição a pesticidas, exposição ocupacional, zona rural, contato com rios e concentração de Zn foram as que mais influenciaram significativamente na incidência dos pênfigos na região endêmica. **Conclusões.** Os metais pesados nas amostras de água obedeceram à legislação vigente, exceto Cu no rio Sapucaí/Mirim e Hg no rio Mogi-Guaçu. A etiopatogênese dos pênfigos pode estar associada à presença de Pb e à deficiência de Zn em indivíduos geneticamente predispostos.

Palavras-chave: Aquífero Guarani; bacias hidrográficas; chumbo; metais pesados; pênfigos; zinco.

ABSTRACT

LA SERRA, L. Relation between the concentration of heavy metals in water samples from the basins of the rivers Pardo, Mogi Guaçu, Sapucai / Mirim and Guarani aquifer with the etiopathogenesis of pemphigus. 2015. 171 f. Thesis (MS) - Clinical Area - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Pemphigus are autoimmune bullous diseases with production of autoantibodies against keratinocyte adhesion proteins. The Northeast (NE) of São Paulo (ESP) is endemic to foliaceus (PF) and pemphigus vulgaris (PV). Heavy metals - lead (Pb), mercury (Hg), copper (Cu) and zinc (Zn) - have been related to autoimmunity and pemphigus. The possible contamination of the Guarani Aquifer and river basins ESP NE region by heavy metals has been inquired. **Objectives**. Were evaluated: (i) cadmium (Cd), Pb, Cu, chromium (Cr), mercury, manganese (Mn) and Zn in residential water samples in Ribeirão Preto (representing the Guarani Aquifer) and Pardo rivers, Mogi Guaçu and Sapucai / Mirim; (ii) Pb, Cu and Zn in samples of patients with PF, PV and controls; (iii) occupational or leisure exposure at different exposures to heavy metals in patients and controls. **Materials and methods**. The quantification of heavy metals in water samples, and whole blood and serum of 118 patients with pemphigus (PV 56; 62 PF) and 135 controls was performed by Atomic Absorption Spectrophotometry. **Results.** The analysis of Cu (0.01825 mg L-1) in the river Sapucaí / Mirim and Hg (0.00024 mg L-1) in Mogi Guaçu showed values above the legislation. Limnological results characterized the basin of the Mogi-Guaçu as impacted. The metal concentrations in urban water supply samples showed great variation between households. The blood Cu concentration resulted higher in females (111.9 μg%; 94.5 μg%). Compared to residents, higher Zn concentrations (89.1μg%%) were observed in the city of Batatais, compared to Ribeirão Preto (76.5 μg%). Pb concentrations above the reference value were found more often in PV group compared to controls (31.1%; 15.7%, respectively). Zn concentrations were lower in PV and PF, compared to controls (75.4 μg%; 80.1 μg%; 83.4 μg%, respectively). Multivariate analysis showed higher concentrations of Pb for the elderly and exposed to metals. The variables age, exposure to pesticides, occupational exposure, rural, contact rivers and concentration of Zn were the most significant influence on the incidence of pemphigus in the endemic region. **Conclusions**. Heavy metals in the water samples complied with current legislation, except Cu in the river Sapucaí / Hg at Mirim and Mogi-Guaçu. The etiopathogenesis of pemphigus may be associated with the presence of Pb and Zn deficiency in genetically predisposed individuals.

Keywords: Guarani Aquifer; watersheds; lead; heavy metals; pemphigus; zinc.

LISTA DE FIGURAS

Figura1- Compensação da desmogleína 1 e 3 no pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo..... 29

Figura 2 - Incidência anual de PF (●: linha tracejada) e de PV (▲: linha contínua) em série histórica de 21 anos..... 31

Figura 3 - Inter-relação entre uso e ocupação do solo, e focos alternadores da qualidade da água..... 37

Figura 4 - Bacias Hidrográficas do Estado de São Paulo..... 50

Figura 5 - Mapa Hidrográfico do Rio Pardo..... 52

Figura 6 - Mapa Hidrográfico do Rio Mogi-Guaçu..... 53

Figura 7 - Municípios e sub-bacias que compõem a Bacia do Sapucaí/Mirim..... 55

Figura 8 - Distribuição do aquífero Guarani na América do Sul e estados do Brasil..... 56

Figura 9 - Distribuição dos casos pênfigo foliáceo nos estados de Goiás (A), região nordeste do estado de São Paulo (B) e Paraná (C)..... 60

Figura 10 - Distribuição do Aquífero Guarani nos estados do Brasil..... 60

Figura 11 - Distribuição das 125 cidades na região nordeste do estado de São Paulo e bacias..... 63

Figura 12 - Média de chuvas mensais entre os anos de 2003 a 2013 na região de Ribeirão Preto..... 64

Figura 13 - Pontos de coleta do Rio Mogi-Guaçu..... 65

Figura 14 - Pontos de coleta do Rio Pardo..... 65

Figura 15 - Pontos de coleta do Rio Sapucaí/Mirim..... 66

Figura 16 - Pontos de coleta das residências dos pacientes com pênfigos na cidade de Ribeirão Preto, representando amostragem de água do aquífero Guarani..... 68

Figura 17 – Correlação entre as concentrações de Pb e a idade na população total da região endêmica dos pênfigos..... 95

Figura 18 - Distribuição das concentrações de chumbo em sangue total nos grupos de pacientes e controles da região endêmica..... 105

Figura 19 - Distribuição das concentrações de cobre sérico nos grupos de pacientes e controles da região endêmica..... 105

Figura 20 - Distribuição das concentrações de zinco sérico nos grupos de pacientes e controles da região endêmica..... 107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Síntese dos resultados de qualidade das águas subterrâneas para o Aquífero Guarani, segundo alguns metais pesados de interesse e o período estudado..... 57

Tabela 2 - Dados dos pacientes com coleta residencial de Ribeirão Preto (coletas realizadas entre maio e agosto de 2014)..... 67

Tabela 3 - Distribuição da casuística total de pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles da região de estudo quanto a idade e gênero..... 69

Tabela 4 – Distribuição da casuística dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo, e controles da região de estudo, quanto às cidades onde manifestaram o pênfigo..... 69

Tabela 5 - Relação da casuística com questionários preenchidos..... 70

Tabela 6 - Tempo de doença de pacientes com PV e PF no momento da coleta dos metais..... 71

Tabela 7 – Faixa etária de pacientes com PV, PF e controles no momento da coleta dos metais..... 72

Tabela 8 – Metais dosados em água, sangue total e soro, ligados à exposição ocupacional..... 73

Tabela 9 – Dados da casuística com questionário preenchido quanto às variáveis de possível exposição aos metais..... 74

Tabela 10 - Valores máximos permissíveis (V.M.P.) das concentrações dos metais pesados em $\mu g.L^{-1}$para o enquadramento das classes dos rios, e valores de referência (V.R.) para os metais no sangue..... 78

Tabela 11 – Magnitude da concentração dos metais Pb, Cu e Zn entre a casuística de pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles..... 78

Tabela 12 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Mogi-Guaçu na estação chuvosa (coleta realizada em janeiro de 2014)..... 83

Tabela 13 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Mogi-Guaçu na estação seca (coletas realizadas em junho de 2014)..... 83

Tabela 14 - Valores dos parâmetros limnológicos das amostras de água coletadas do Rio Mogi-Guaçu nas estações chuvosa e seca (coletas realizadas em janeiro e junho de 2014)..... 84

Tabela15 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Sapucaí/Mirim na época chuvosa (coleta realizada em janeiro de 2014)..... 88

Tabela16 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Sapucaí/Mirim na estação seca (coleta realizada em junho de 2014)..... 88

Tabela 17 - Valores dos parâmetros limnológicos das amostras de água coletadas do Rio Sapucaí/Mirim nas estações chuvosa e seca (coletas realizadas em janeiro e junho de 2014)..... 92

Tabela 18 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas de abastecimento residencial / Aquífero Guarani (coletas realizadas entre maio e agosto de 2014)..... 92

Tabela 19 - Valores do parâmetro limnológicos pH para as amostras de água de abastecimento (Aquífero Guarani)..... 93

Tabela 20 - Distribuição das concentrações dos metais em amostras da casuística total segundo o gênero..... 94

Tabela 21 – Distribuição das concentrações dos metais em amostras da casuística total segundo a cidade de moradia..... 96

Tabela 22 - Distribuição das concentrações de metais das amostras da casuística total, segundo a localização da moradia (zona rural ou urbana)..... 97

Tabela 23 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo a ocupação..... 98

Tabela 24 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo contato com rios..... 99

Tabela 25 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo tabagismo..... 99

Tabela 26 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo etilismo..... 100

Tabela 27 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo pesticidas..... 101

Tabela 28 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos pesticidas de ordem ocupacional..... 102

Tabela 29 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos metais pesados..... 103

Tabela 30 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos metais de origem ocupacional..... 104

Tabela 31 - Distribuição de chumbo entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica..... 105

Tabela 32 - Distribuição de cobre entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica..... 105

Tabela 33 - Distribuição de zinco entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica..... 107

Tabela 34. Distribuição dos grupos PV, PF e Controles de acordo com o gênero..... 108

Tabela 35 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo as cidades com maiores números de casos..... 109

Tabela 36 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo a localização da moradia (zona rural ou urbana)..... 109

Tabela 37 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo a exposição ocupacional aos metais..... 111

Tabela 38 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o contato com rio..... 111

Tabela 39 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o tabagismo..... 112

Tabela 40 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o etilismo..... 112

Tabela 41 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos pesticidas..... 113

Tabela 42 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos pesticidas de origem ocupacional..... 114

Tabela 43 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos metais pesados..... 115

Tabela 44 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos metais de origem ocupacional..... 115

Tabela 45 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Pb..... 116

Tabela 46 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Cu..... 117

Tabela 47 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Zn..... 118

Tabela 48 – Análise multivariada para variações de chumbo na região endêmica..... 119

Tabela 49 – Análise multivariada da concentração de chumbo em relação a exposição aos metais..... 120

Tabela 50 – Análise multivariada da concentração de zinco em relação a as variáveis cidades e grupos dos indivíduos da região endêmica..... 121

Tabela 51 - Modelo final da análise multivariada entre PF e controles em relação a exposição aos pesticidas, exposição ocupacional e zona rural ou urbana..... 122

Tabela 52 - Modelo final da análise multivariada entre PV e controles em relação à idade e concentração de Zn..... 123

Tabela 53. Modelo final da análise multivariada entre PV e PF em relação à idade, exposição ocupacional e contato com rios..... 123

LISTA DE SIGLAS

ANA	Anticorpos Antinucleares
APHA	American Public Health Association
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CETESB	Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CBH	Comitê de Bacia Hidrográfica
CIIAGRO	Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas
DAEE	Departamento de Águas e Energia Elétrica
DAERP	Departamento de Água e Esgoto de Ribeirão Preto
EAA	Espectrofotometria de Absorção Atômica
EERP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária
EPA	Environmental Protection Agency
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FS	Fogo Selvagem
FTU	Unidades de Turbidez Formaniza
GSTA-1	Glutationina S- Transferase Alfa - 1
HLA	Human Leukocyte Antigen
IAP	Índice de qualidade de água para abastecimento público
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBMP	Índices Biológicos Máximos Permitidos
IC	Intervalo de Confiança
IFN-γ	Interferon Gamma
IL - 1β	Interleucina 1 Beta
IL - 4	Interleucina 4
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IQA	Índice de Qualidade
LD	Limite de Detecção
LEPA	Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental
MHC	Major Histocompatibility Complex
MS	Ministério da Saúde
NE	Nordeste
OD	Oxigênio Dissolvido
OMS	Organização Mundial de Saúde
PF	Pênfigo Foliáceo
pH	Potencial Hidrogeniônico
PV	Pênfigo Vulgar

RPM	Rotações Por Minuto
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
SIGRH	Sistema de Informações para o Gerenciamento de Recursos Hídricos
SMG	Sapucaí-Mirim/Grande
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alfa
UGRHI	Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
VMP	Valor Máximo Permissível
VR	Valor de Referência
VS	Versus
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

ACh	Acetilcolina
Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
Co	Cobalto
Cu	Cobre
Cr	Cromo
Cr (VI)	Cromo Hexavalente
Cr (III)	Cromo Trivalente
Dsg	Desmogleína
DP	Desvio Padrão
F	Feminino
Fe	Ferro
Hg	Mercúrio
IgG	Imunoglobulina G
Km	Quilómetros
Km^2	Quilómetros quadrados
L	litro
M	Masculino
m	Metros
ml	Mililitro
Mg	Magnésio
mg	Miligrama
Mn	Manganês
n	Número amostral
Na	Sódio
ng	nanograma
nº	Número
p	Valor – p ou nível de significância
Pb	Chumbo
Th	Células T helper
Ti	Titânio
U	Urbana
Zn	Zinco
µg	Micrograma
µg%	Micrograma Por cento
µl	Microlitro
µS	Microsiemens

ºC	Graus Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

RESUMO ..... **VIII**
ABSTRACT ..... **IX**
INTRODUÇÃO **25**
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **28**
1.1. Caracterização dos pênfigos na região endêmica do estudo (nordeste do estado de São Paulo) 28
1.2. Metais pesados e pênfigos 32
1.3. Metais pesados e poluição de águas superficiais 37
1.3.1. Cádmio 40
1.3.2. Chumbo 41
1.3.3. Cobre 43
1.3.4. Cromo 44
1.3.5. Manganês 44
1.3.6. Mercúrio 46
1.3.7. Zinco 47
1.4. Parâmetros Limnológicos 47
1.5. Bacias hidrográficas da região nordestes do estado de São Paulo 49
1.5.1 Bacia do Rio Pardo 51
1.5.2 Bacia do Rio Mogi-Guaçu 52
1.5.3 Bacia do Rio Sapucaí-Mirim/Grande 54
1.5.4 Aquífero Guarani 55
2. JUSTIFICATIVA **59**
3. OBJETIVOS **61**
3.1. Objetivo geral 61

3.2. Objetivos específicos..... 61

4. MATERIAIS E MÉTODOS..... 62

4.1. Local de estudo e coleta das amostras de água..... 62

4.2. Casuística..... 68

4.3. Análise dos metais pesados..... 74

4.4. Valores normativos..... 77

4.5. Análise estatística..... 78

5. RESULTADOS..... 80

5.1. Bacia do Rio Pardo..... 81

5.2. Bacia do Rio Mogi-Guaçu..... 82

5.3. Bacia do Rio Sapucaí/Mirim..... 87

5.4. Aquífero Guarani..... 91

5.5. Prevalência dos metais entre as variáveis de exposição

na população total..... 94

5.5.1. Metais, gênero e idade..... 94

5.5.2. Metais e cidades de moradia..... 96

5.5.3. Metais e zona urbana/rural..... 96

5.5.4. Metais e ocupação..... 97

5.5.5. Metais e rios..... 98

5.5.6. Metais e tabagismo..... 99

5.5.7. Metais e etilismo..... 100

5.5.8. Metais e pesticidas..... 100

5.5.9. Metais e exposição aos pesticidas de origem ocupacional..... 101

5.5.10. Metais e a exposição aos metais pesados..... 102

5.5.11. Metais e a exposição aos metais de origem ocupacional..... 103

5.6. Prevalência de metais entre pênfigos e controles..... 104

5.6.1. Chumbo..... 104

5.6.2. Cobre..... 105

5.6.3. Zinco..... 106

5.7. Prevalência dos metais entre as variáveis de exposição entre os pênfigos e controles..... 107

5.7.1. Pênfigos e gênero..... 108

5.7.2. Pênfigos e cidades de moradia..... 108

5.7.3. Pênfigos e moradia em zona urbana/rural..... 109

5.7.4. Pênfigos e exposição ocupacional..... 110

5.7.5. Pênfigos e contato com rios..... 111

5.7.6. Pênfigos e tabagismo..... 111

5.7.7. Pênfigos e etilismo..... 112

5.7.8. Pênfigos e pesticidas..... 113

5.7.9. Pênfigos e exposição aos pesticidas de origem ocupacional..... 114

5.7.10. Pênfigos e exposição aos metais pesados..... 114

5.7.11. Pênfigos e exposição aos metais de origem ocupacional..... 115

5.8. Distribuição dos metais chumbo, cobre e zinco entre os grupos PV, PF e controles segundo os valores de referência..... 116

5.8.1. Pênfigos e chumbo de acordo com os valores de referencia..... 116

5.8.2. Pênfigos e cobre de acordo com os valores normativos..... 117

5.8.3. Pênfigos e zinco de acordo com os valores normativos..... 118

5.9. Análise Multivariada..... 118

5.9.1. Análise multivariada da prevalência de metais na casuística total..... 118

5.9.2. Prevalência de chumbo na região endêmica..... 119

5.9.3. Prevalência de zinco na região endêmica..... 120

5.9.4. Prevalência de metais entre pênfigos e controles..... 121

5.9.5. Análise multivariada entre os grupos PF e controles..... 122

5.9.6. Análise multivariada entre os grupos PV e controles..... 122

5.9.7. Análise multivariada entre os grupos PV e PF..... 123

6. DISCUSSÃO..... 125

7. CONCLUSÃO..... 156

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 157

ANEXOS..... 167

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Os pênfigos são caracterizados como doenças bolhosas autoimunes com produção de autoanticorpos da classe IgG, que reconhecem proteínas de adesão dos queratinócitos (desmogleínas - Dsg), causando acantólise com consequente formação de bolhas. Há duas formas clínicas principais de pênfigo: pênfigo foliáceo (PF) e pênfigo vulgar (PV). O PF acomete somente a pele devido à produção de anticorpos contra Dsg1, e o PV acomete pele e mucosas pela produção de anticorpos contra Dsg1 e Dsg3, respectivamente.

No estudo dos pênfigos, os iniciadores mais comumente relacionados ao aparecimento da doença estão ligados, além de fatores imunogenéticos, a certos tipos de drogas, agentes infecciosos e agentes físicos, como exposição aos raios UV, pesticidas e metais pesados, sendo assim influenciados, também, pela exposição a fatores exógenos.

Fatores exógenos desempenham importante papel na indução dos pênfigos, pois, sendo uma doença que afeta a integridade da pele, e por sua natureza genética e autoimune, tais fatores podem levar ao desequilíbrio imunológico ou mesmo afetar a integridade da pele.

Vários estudos abordam a influência de fatores exógenos como iniciadores para a manifestação dos pênfigos, como drogas, em especial drogas com grupamento tiol na composição, sais de cromo, metais pesados e micronutrientes essenciais, pesticidas, saliva de insetos e certos tipos de alimentos ricos em polifenois.

Dentro desse panorama indaga-se a importância da poluição ambiental como fonte de fatores externos. A pressão antrópica sobre o meio ambiente, mais precisamente dos rios e reservas subterrâneas, pode transformar os corpos d'água em fontes de diversos contaminantes com o potencial de agir como fatores na manifestação dos pênfigos, em especial os metais e pesticidas, visto que as reservas de água superficiais brasileiras estão em constante perigo de contaminação devido à carga de contaminantes lançados nos corpos d'água.

Ainda que microrganismos sejam capazes de degradar parte dos resíduos nos corpos d'água, por meio da autodepuração natural, quando esses mananciais estão localizados próximos a grandes centros urbanos, por exemplo, esta capacidade de autodepuração é excedida, provocando, por consequência, o aumento na carga de contaminantes nos rios e reservas subterrâneas. Muitos poluentes penetram nos rios e lagos através de descargas de fontes localizadas, como canalizações de esgotos, ou de fontes difusas, como é o caso das águas de escoamento que transportam pesticidas e fertilizantes, promovendo a deterioração da qualidade dos corpos d'água, dano ao ecossistema aquático e, possivelmente, danos à saúde de indivíduos que dependem do abastecimento de água por esses mananciais.

Salienta-se ainda que no Brasil cerca de 70% do consumo de água é destinado à agricultura, 10% ao setor industrial e 19% para uso doméstico. Além disso, houve aumento de 900 mil habitantes no estado de São Paulo no período de 2007 a 2012, fato que pode influenciar de forma negativa na qualidade das águas pela vazão maior de água consumida e geração de efluentes, mesmo considerando o incremento no que se refere ao tratamento de esgoto, chegando a 59% em 2012.

Portanto, a influência da contaminação de pacientes por fatores exógenos de relevância ambiental, como metais e pesticidas, tem ganhado maior relevância atualmente, uma vez que, na região estudada, a poluição dos corpos d'água e fontes

de abastecimento representa grande risco à saúde ambiental e humana, grande parte devido ao adensamento populacional e consequente impacto na geração de efluentes domésticos e industriais.

Diante do exposto, indaga-se sobre a possível influência dos contaminantes metais pesados na etiopatogenia dos pênfigos na região nordeste do estado de São Paulo, região endêmica no Brasil para ambos os tipos de pênfigos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PÊNFIGOS NA REGIÃO ENDÊMICA DO ESTUDO (NORDESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL)

Os pênfigos são doenças bolhosas autoimunes, caracterizados pela presença de autoanticorpos contra proteínas que conferem a adesão dos queratinócitos da pele e mucosas, causando a perda da integridade entre as células por um processo denominado acantólise. A produção de autoanticorpos da classe IgG contra as desmogleínas, proteínas da família das caderinas responsáveis pela adesão de queratinócitos, cálcio-dependentes, foi aceita por muito tempo como a única forma da manifestação da doença. Contudo, recentemente, tem-se defendido que o processo de acantólise pode, também, depender da produção de autoanticorpos para diferentes proteínas ligadas à adesão celular dos queratinócitos, como os receptores de acetilcolina, desmocolinas e placoglobinas, além da produção de anticorpos contra receptores nicotínicos da membrana celular de mitocôndrias nos queratinócitos, provocando apoptose dos queratinócitos prévia ao processo de acantólise (CHERNYAVSKY, 2015; EMING, 2014; RUOCCO, 2013).

O pênfigo vulgar (PV) afeta pele e mucosas pela produção de autoanticorpos contra desmogleína 1 (Dsg1), presente em maior quantidade no tecido queratinoso da pele, e desmogleína 3 (Dsg3), presente em maior quantidade no tecido pouco queratinizado (mucosas), formando, assim, bolhas na camada suprabasal da epiderme. Já o pênfigo foliáceo (PF) acomete exclusivamente a pele, formando bolhas

nas camadas mais superficiais da epiderme (camada granulosa) e apresenta unicamente anticorpos anti-Dsg1 (Figura 1).

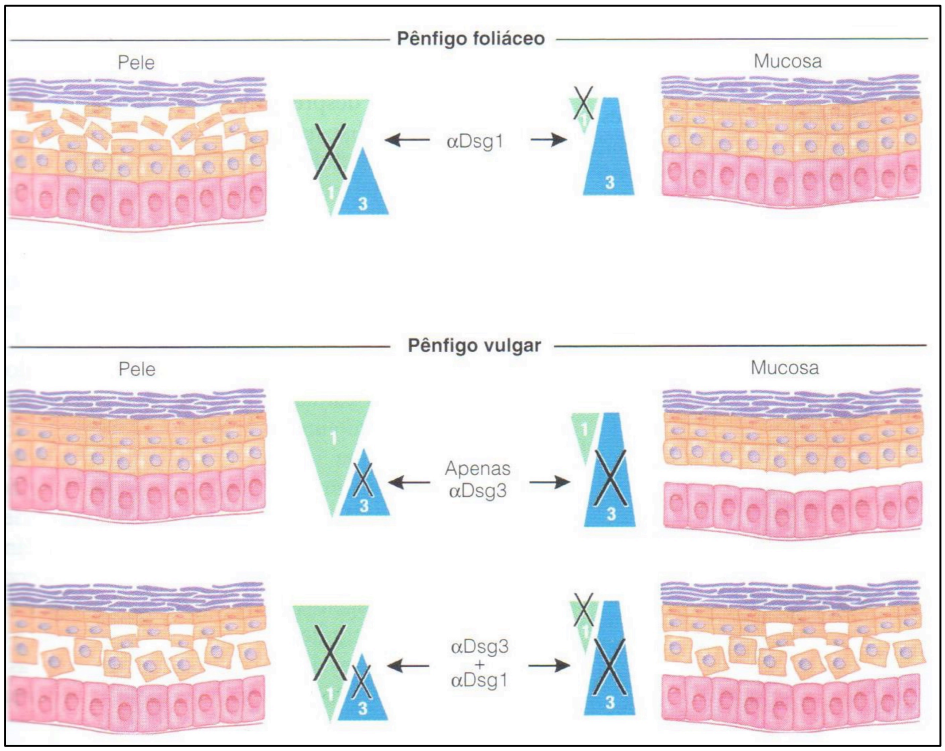


Figura 1 - Compensação da desmogleína 1 e 3 no pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo (Fonte: Wolff; Johnson, 2011)

O quadro epidemiológico clássico configura o PV acometendo principalmente idosos, tendo distribuição mundial e ocorrência de forma semelhante em ambos os gêneros, geralmente entre a quarta e sexta geração. Ainda, a maioria dos casos de PV na América do Norte, Europa e Ásia são esporádicos, tendo maior incidência entre judeus asquenazes. A incidência mundial da doença é de 1 a 5 casos por milhão de habitantes por ano, porém, essa média aumenta quando se trata de indivíduos judeus, sendo de 1,6 casos por 100 mil habitantes ao ano (RUOCCO, 2013; EMING, 2014).

Quanto ao PF, há duas formas de apresentação: uma esporádica, conhecida como pênfigo de Cazenave, com distribuição mundial, e outra endêmica, relacionada a determinadas áreas geográficas, como na América do Sul, incluindo Bolívia,

Colômbia, El Salvador e Peru, conhecida como fogo selvagem (FS). A diferença entre ambas as formas de apresentação do PF está na epidemiologia.

A característica endêmica dos pênfigos na região nordeste do estado de São Paulo está associada à distribuição geográfica e grande incidência, além da ocorrência entre a população jovem, prevalecendo sobre trabalhadores rurais e donas de casa. Desde a década de 30 tem-se observado aumento dos casos de PV em áreas endêmicas de FS, incluindo a região nordeste do estado de São Paulo, um fato importante na mudança da epidemiologia da doença na região (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2010, CHIOSSI; ROSELINO, 2001, GONÇALVES et al., 2011). A Figura 2 ilustra esse panorama.

Dados epidemiológicos ligados aos primeiros casos de pênfigo no Brasil remetem a 1891, sendo relatados somente 40 anos depois. Segundo Robledo (2012), a migração da doença pelo país seguiu o movimento da migração do ouro, ferro e alumínio, com o desmatamento e mineração. Dessa forma, saindo do litoral e adentrando a região nordeste do estado de São Paulo, como as regiões de Ribeirão Preto e Franca, além dos estados de Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. Os focos da doença seguiam as bacias de rios e tributários na região nordeste e desaparecia conforma a região se urbanizava e desenvolvia.

No ano de 1942, Vieira registrou 460 casos de FS na região nordeste do estado de São Paulo, com maiores incidências nas cidades de Ribeirão Preto e Franca, além de alta incidência na grande maioria das cidades vizinhas. O autor ainda apontou que a doença acometia principalmente indivíduos pobres da zona rural e, excepcionalmente, as áreas urbanas. No entanto, o número de casos anuais apresentou queda significativa nas décadas posteriores, passando de 1.822 casos entre 1960-1969, para 210 casos entre 1996-2011 (CHIOSSI; ROSELINO, 2001; GONÇALVES et al., 2011).

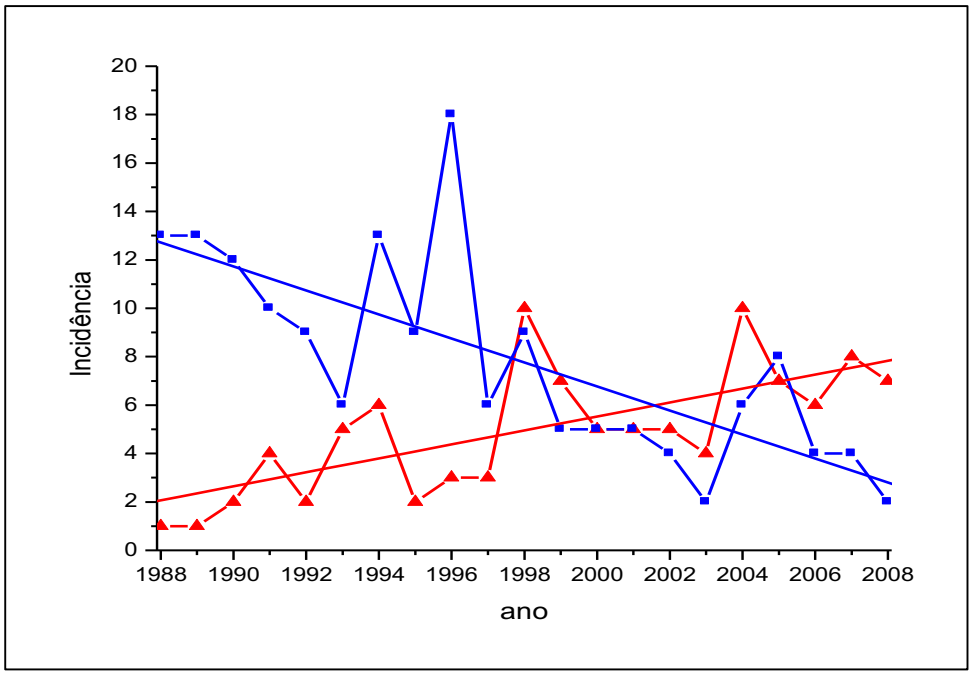


Figura 2 - Incidência anual de PF (● linha tracejada) e de PV (▲: linha contínua) em série histórica de 21 anos (Fonte: Gonçalves et al., 2011)

A patogênese dos pênfigos ainda não é totalmente esclarecida, contudo a implicação de fatores ambientais e genéticos tem sido associada à susceptibilidade aos pênfigos em indivíduos geneticamente pré-dispostos. Os fatores predisponentes genéticos têm uma base poligênica complexa, envolvendo múltiplos loci, principalmente genes *HLA* de classe II –DR e –DQ. Entretanto, embora essenciais, esses fatores não são por si só suficientes para iniciar o mecanismo de autoimunidade. Portanto, fatores exógenos (ambientais) são cruciais para o desencadeamento da doença (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2010, CHIOSSI; ROSELINO, 2001; RUOCCO et al., 2013).

Tais fatores ambientais estão ligados ao uso de certos tipos de medicamentos contendo compostos do grupo tiol e fenol (ex. penicilina e aspirina), infecções virais (provavelmente pela liberação de interferons e citocinas ligadas ao processo infeccioso), agentes físicos como queimaduras (pode expor proteínas *self* citoplasmáticas pela lesão celular por trauma) e raios ultravioletas (modificação de

material genético), além de fatores ligados ao consumo de alimentos com alto grau de compostos tiol e fenol, como alho, cebola, pimenta, pois, essas substâncias têm potencial acantolítico. Soma-se a esses fatores o contato com substâncias alergênicas, como alguns metais e pesticidas, em especial os organofosforados (BRENNER et al., 2001, RUOCCO et al., 2003, 2013, WOHL; BRENNER, 2003).

1.2. METAIS PESADOS E PÊNFIGOS

Estudos envolvendo autoimunidade têm como uma das maiores dificuldades a identificação dos possíveis fatores de indução que a permeiam. As características endêmicas do PF e PV tornam a doença um excelente sistema modelo para estudos de interações complexas entre fatores genéticos, ambientais e imunológicos (ABRÉU-VELEZ et al., 2003).

Assim como nos pênfigos, a patogênese de muitas doenças autoimunes é desconhecida, porém, fatores ambientais, como exposição aos metais pesados ou fumos de metais, têm sido associados à manifestação das doenças em indivíduos com predisposição genética. A principal preocupação, quanto à ação dos metais na ruptura da homeostase imunológica, está associada à capacidade de certos metais em modular as atividades regulatórias do sistema imunológico (MISHRA, 2009; ROBLEDO, 2012; SINGH et al., 2003).

A fonte mais comum de exposição aos metais pesados, por indivíduos não expostos ocupacionalmente, é através da alimentação. Contudo, não se deve subestimar outras formas de contaminação, como a atmosférica, através do solo contaminado, consumo de água contaminada e através da pele, como no caso de roupas com metais em sua composição (ALVES, 2009; AZEVEDO; CHASIN, 2003; BAIRD, 2002; PAOLIELLO; CHASIN, 2001; ROVIRA et al., 2015)

Metais, como mercúrio (Hg), selênio (Se), cobre (Cu) e zinco (Zn), têm sido associados à manifestação dos pênfigos, seja pela presença desses metais no organismo dos indivíduos acometidos pela doença ou pelo risco de exposição aos mesmos. Metais pesados, como o chumbo (Pb), cádmio (Cd) e Hg, têm sido associados à quebra da homeostase do sistema imune. No caso do Hg, a hipótese de associação com o pênfigo foliáceo se dá pelo envenenamento por metil mercúrio (CH_3Hg) que se ligam a radicais sulfidrila (-SH) alterando proteínas como cisteínas e aumentado expressão de IL-4 e IFN-γ. Na América Central e do Sul, relaciona-se o Hg com as evidências de que os casos relatados da doença ocorreram nas proximidades de rios, onde houve poluição por mineração de ouro e desflorestamento, acarretando contaminação por metil mercúrio dos peixes, da vida selvagem e dos humanos (ROBLEDO, 2012).

Um estudo sobre pênfigo foliáceo endêmico em El-Bagre, Colômbia (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2003), composto por 50 pacientes com PF e 50 controles, versa sobre a concentração de Hg na pele, urina, cabelos e unhas, por análise autometalográfica e espectroscopia de massa, respectivamente. O Hg foi detectado de forma similar na pele de ambos os grupos, e à microscopia eletrônica, compostos de Hg foram observados dentro e em torno das glândulas sudoríparas, assim como nas células dendríticas. Porém, concentrações mais elevadas foram detectadas na urina, cabelos e unhas do grupo de pacientes com PF. À microscopia eletrônica, observou-se material elétron-denso e fino adjacente aos desmossomos nas amostras de pele dos pacientes com PF. O Hg é comumente utilizado para amalgamar o ouro, facilitando a sua extração nas atividades de mineração. E também amalgama outros elementos, competindo com o cálcio nas proteínas cálcio-dependentes de forma alostérica. Portanto, a desmogleína, por ser cálcio-dependente, pode ser afetada na presença de Hg (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2003). Também tem sido demonstrado que o Hg pode

incitar fenômenos autoimunes em ratos e camundongos que apresentam *background* genético apropriado, promovendo produção de IL-4, modulação de resposta imunológica com padrão Th2 e em estudos envolvendo leões orais de lúpus induzido em camundongos foi demonstrado que o metal provoca incremento de infiltrado celular com reposta a MHC de classe II. Assim, os autores sugerem que metais, metaloides e outros elementos podem amalgamar e se ligar a moléculas celulares in vivo, produzindo alterações na sua estrutura molecular, que passam a ser reconhecidas pelo sistema imune como moléculas estranhas, assim ativando a cascata alternativa do complemento e outras moléculas inflamatórias (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2003; SENO, 2013).

Metais tidos como essenciais modulam as atividades das células imunocompetentes por uma variedade de mecanismos. Dependendo do tipo de metal, concentração do mesmo e sua disponibilidade biológica, além de outros fatores, podem gerar respostas imunoestimulantes ou imunossupressoras. Muitos metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde bactérias e plantas até o ser humano, porém são requeridos em baixas concentrações. Em altas concentrações, podem tornar-se tóxicos por danificar os sistemas biológicos já que apresentam características biocumulativas no organismo (AZEVEDO; CHASIN, 2003; BAIRD, 2002; CELERE et al., 2007).

Alguns metais, considerados essenciais, em pequenas quantidades têm função importante na homeostase do sistema imune, como é o Cu e o Zn. O cobre está intimamente ligado à reparação tecidual, participando da ligação entre o colágeno e elastinas, é importante constituinte de metaloenzimas, e tem papel antioxidante. Sua deficiência pode levar a danos oxidativos e à desregulação dos linfócitos T. O zinco, por sua vez, tem importante função anti-inflamatória e antioxidante; sua deficiência tem efeitos negativos em vários processos biológicos, como a cicatrização. Cerca de

20% do zinco no organismo são encontrados na pele, o que o torna um importante fator de proteção à integridade dérmica. O zinco está associado à síntese proteica e ao funcionamento dos linfócitos T, portanto, sua deficiência pode acarretar atrofia do timo e desregulação da produção de anticorpos, promove a produção exacerbada de citocinas pró inflamatórias (Il-1, IL-6 e TNF-α), além de promover o desequilíbrio entre células Th1 e Th2, com preferência pelo padrão Th2 (JAVANBAKHT, 2012; MAYWALD; RINK, 2015; YAZDANPANAH, 2011; WONG, 2015). Dessa forma, quantidades ideais de cobre e de zinco no organismo estão associadas ao bom funcionamento do sistema imune, controle de inflamações e estresse oxidativo. A deficiência desses metais pode influenciar o funcionamento do sistema imune e facilitar a manifestação de doenças autoimunes, como artrite reumatoide e lúpus eritematoso (YAZDANPANAH, 2011).

A ação do Pb no organismo humano tem sido ligada à resposta imune exacerbada culminando no aparecimento de alergias, doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico, doença de Alzheimer, esclerose múltipla e câncer (SINGH et al, 2003). Além disso, os efeitos constatados do Pb no sistema imunológico de organismos animais não humanos acarretam aumento da produção de células T helper (Th2), diminuição de células Th1 e aumento na produção de imunoglobulinas, além de interferir no metabolismo oxidativo mitocondrial, podendo levar ao estresse oxidativo (HEMDAN et al., 2007; ROWLEY; MONESTIER, 2005; SINGH et al, 2003).

Similarmente, foi demonstrado que o Pb é responsável por provocar o aumento na expressão de moléculas de histocompatibilidade (MHC) de classe II na superfície de linfócitos B em camundongos. Os mecanismos propostos ligados a esse aumento estão relacionados à capacidade do Pb em modular a resposta humoral, mesmo em baixas doses, aumentando a quantidade de cadeias β das moléculas Ia do MHC de classe II e aumentando as cadeias invariantes ligadas a moléculas Ia, promovendo

assim maior expressão de MHC na superfície celular e consequente aumento do reconhecimento dessas moléculas por linfócitos Th2. Essas interações podem levar ao aumento da produção de anticorpos pelo aumento do número de células produtoras (LAWRENCE, 1981; MCCABE, LAWRENCE, 1990, 1991; SINGH, 2003). A interação Th1 e Th2 já foi descrita na literatura relacionada ao quadro dos pênfigos. Em indivíduos saudáveis, células Th1 são prevalentes, enquanto no PF e no PV, encontram-se reduzidas. Considerando o paradigma Th1/Th2 autores demonstraram o predomínio do padrão Th2 no PF (EMING, 2014; ZEOTI et al., 2000).

Não existe na literatura estudos que relacionem diretamente o Pb à patogênese dos pênfigos, contudo esse metal está relacionado a doenças autoimunes, principalmente por provocar desequilíbrio nas populações de células Th1 e Th2. Esse desequilíbrio favorece a ação de células Th2 pela produção de IL-4 e TNF-α (envolvida no processo de acantólise), e pela diminuição da produção de INF-γ, IL-1β, citocinas do padrão Th1 (BRENNER, 2001; SINGH, 2003; DIETERT et al. 2003; MISHRA, 2009). É estabelecida a dinâmica entre os polos Th1 e Th2, com prevalência do padrão Th2 no pênfigo foliáceo (ZEOTI et al., 2000; EMING, 2014). Estudos recentes relacionam o comprometimento do metabolismo mitocondrial com o processo de apoptose celular ligado ao PV. Nesse mesmo sentido, a literatura demonstra que o Pb também pode afetar tanto a integridade da membrana mitocondrial quanto seu metabolismo, mais especificamente o metabolismo oxidativo, levando ao estresse oxidativo, processo potencialmente envolvido na apoptose celular, mediada pela mitocôndria (CHERNYAVSKY, 2015; SINGH, 2003).

Dessa forma, os efeitos imunotóxicos de metais ganham cada vez mais relevância na investigação biomédica. Assim, a abordagem desse projeto procura relacionar a imunotoxicidade dos metais ao processo autoimune do pênfigo, uma vez

que já foi destacada em estudos a interação de alguns metais com a patogênese dos pênfigos.

1.3. METAIS PESADOS E POLUIÇÃO DE ÁGUAS SUPERFICIAIS

Segundo Von Sperling (2005), a qualidade da água é resultante de fenômenos naturais e da atuação do homem. Desta forma, diz-se que a qualidade da água resulta das condições naturais intrínsecas ao corpo d'água e do uso e ocupação do solo na bacia hidrográfica. Mesmo que preservadas as condições naturais do corpo d'água ou bacia hidrográfica, a qualidade da água pode ser afetada por escoamento superficial e infiltração no solo como resultado da precipitação atmosférica. Dessa maneira a incorporação de espécies toxicas se dá pelo escoamento e infiltração dessas partículas presentes no solo. As interferências antrópicas variam desde despejos domésticos e industriais, tidos como interferências concentradas, bem como despejos dispersos ou difusos, como é o caso dos pesticidas. Dessa forma, a ocupação do solo tem implicação direta na ocupação do solo. A Figura 3 mostra as possíveis interações.

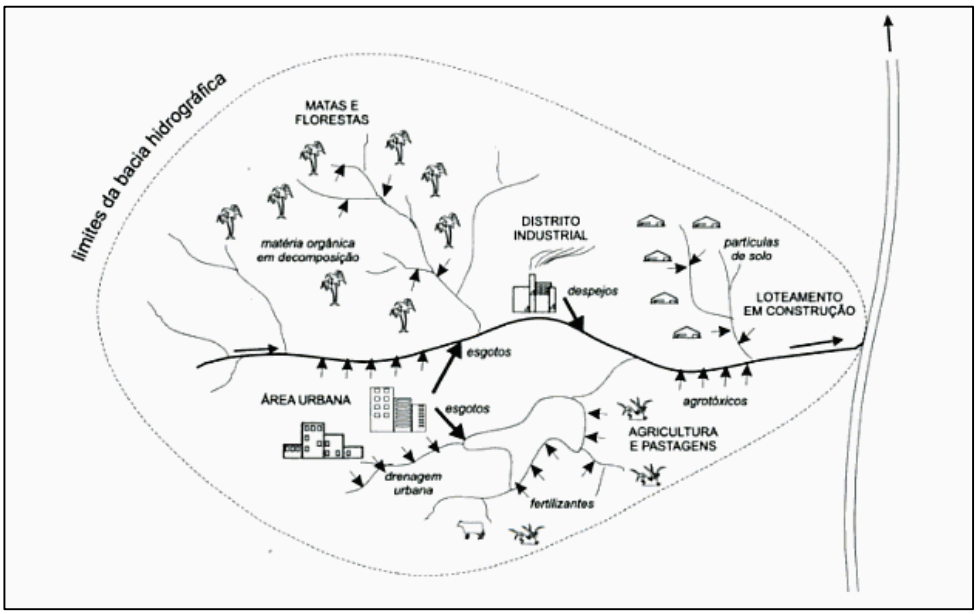


Figura 3 - Inter-relação entre uso e ocupação do solo e focos alternadores da qualidade da água (Fonte: VON SPERLING, 2005).

Uma gama crescente de substâncias toxicas advindas da interação antrópica com os corpos d'água é denominada elementos traços ou metais pesados, e tem ganhado cada vez mais importância no estudo sobre saúde ambiental. Entender sobre sua toxicidade é de grande valia para a compreensão da sua interação com o meio ambiente e o ser humano.

A toxicidade de uma substância química depende das características da exposição e do seu comportamento no meio ambiente e no sistema biológico. Além das propriedades físico-químicas da substância, deve-se considerar a magnitude, a duração e a frequência da exposição, as vias de introdução e a susceptibilidade dos organismos afetados, estando esta última diretamente interligada aos processos (eco)toxicinéticos e (eco)toxicodinâmicos (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

O termo metal pesado tem sido empregado regularmente para tratar de alguns elementos presentes em baixas concentrações no meio ambiente (usualmente < 0,1%). Pela reduzida concentração em meios ambientais, são frequentemente conhecidos como metais traço ou elementos-traço. Alguns elementos-traço, como magnésio (Mg), ferro (Fe), Cu, Zn, entre outros, são essenciais aos seres vivos. Outros elementos, como Hg, Pb, Cd, Cr, As entre outros, não têm função biológica conhecida e são considerados tóxicos aos organismos animais e vegetais (BAIRD, 2002; ESTEVES, 1998). Além disso, os metais diferenciam-se dos compostos orgânicos tóxicos, por serem absolutamente não-degradáveis, de maneira que podem se acumular no meio ambiente (BAIRD, 2002).

As fontes de contaminação do ambiente aquático por metais pesados são representadas pelo intemperismo das rochas e pela erosão dos solos ricos nesses materiais. Paralelamente a essas, as fontes recentemente descritas são: os efluentes industriais e domésticos, lixiviação de aterros, resíduos de mineração, processamento

de produtos minerais, resíduos de curtume, além de alguns pesticidas e fertilizantes (ESTEVES, 1998).

Os contaminantes presentes nas águas superficiais podem encontrar-se em solução ou em suspensão. O material em suspensão pode ser encontrado na forma de partículas ou em gotículas (como óleo), e os contaminantes podem estar dissolvidos ou adsorvidos a essas gotículas ou partículas sólidas, e, consequentemente, essas formas podem ser transportadas a longas distâncias pela água (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Ademais, metais retidos no solo, absorvidos por plantas e incorporados às cadeias tróficas, podem volatizar para a atmosfera ou ainda mover-se para águas superficiais ou subterrâneas. Características do meio, como pH, potencial de oxirredução da água, presença de cátions competidores (Ca^{+2}, Mn^{+2}, por exemplo) e concentração de ligantes orgânicos, aos quais o metal pode se complexar ou se adsorver, influenciam na disponibilidade química desses elementos. Portanto, quanto maior a disponibilidade, maior o potencial tóxico (ALVES, 2009; ESTEVES, 1998; MUÑOZ, 2002).

Por serem mais susceptíveis, os ecossistemas aquáticos têm merecido maior atenção, pois recebem direta e indiretamente poluentes provenientes de despejos industriais e domésticos. Como tais poluentes são conservativos, a biota aquática pode estar sujeita à toxicidade por metais e outros poluentes por longos períodos de tempo (MASUTTI, 2004).

Em resposta à necessidade de se controlar os níveis de substâncias poluentes em corpos d'água superficiais, no Brasil utiliza-se a resolução n° 357 do CONAMA (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos níveis de metais pesados e outros poluentes em corpos de águas

superficiais, bem como estabelecem as condições e padrões de potabilidade devido à sua toxicidade e persistência na natureza.

Concentrações de metais dissolvidos na coluna d'água têm propensão a sofrer variações no decorrer do tempo e em diferentes pontos de amostragem, em razão das muitas variáveis envolvidas na sua dinâmica, como varrições de pH e condições de oxirredução, temperatura, variações sazonais de fluxo d'água, além das descargas doméstica e industrial. Independentemente dessas variáveis, a determinação de metais é uma ferramenta útil na avaliação do grau de contaminação de um determinado ecossistema (ALVES, 2009; AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Os efeitos tóxicos dos metais pesados ao meio ambiente são bastante conhecidos. Do ponto de vista bioquímico, um possível mecanismo da ação tóxica deriva da forte afinidade dos cátions de metais pelo enxofre, grupos sulfidrilas (-SH), que ocorrem comumente nas enzimas que controlam a velocidade de reações metabólicas de importância crítica no corpo humano (BAIRD, 2002).

Metais como chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cromo (Cr), cádmio (Cd), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) são os mais estudados devido a sua influência na saúde ambiental, bem como na saúde humana, como possíveis imunomodularodes. A seguir, são apresentadas breves descrições desses metais.

1.3.1. Cádmio

O cádmio encontra-se no mesmo subgrupo do zinco e mercúrio, sendo bastante similar ao primeiro. Poluição ambiental por Cd ocorre frequentemente em áreas adjacentes a fundições de chumbo, zinco e cobre, fertilizantes de fosfato que contenham cádmio, lodo de esgoto e água de irrigação. A liberação desse elemento se dá também pela combustão do carvão, na galvanoplastia, revestimento de metais

e plásticos. É encontrado também na produção de ligas, pilhas recarregáveis, soldas, pigmentos entre outros. O Cd é um dos principais contaminantes ambientais, considerado altamente tóxico para organismos aquáticos mesmo em baixas quantidades, porém, em baixas concentrações, representa importante nutriente para plantas (AZEVEDO; CHASIN, 2003; BAIRD, 2002).

A poluição do sistema aquático por Cd pode ocorrer por fatores: intemperismo, erosão do solo, resíduos de aterros, uso de lodos de esgoto, indústrias de manipulação de Cd e fundição de Zn, e fertilizantes na agricultura. Quando proveniente de efluentes industriais, o Cd pode ser rapidamente adsorvido ao material particulado. Em águas superficiais e subterrâneas, pode ocorrer como íon hidratado ou complexado com outras substâncias orgânicas ou inorgânicas, enquanto sua forma solúvel se mobiliza no corpo d'água (ALVES, 2009; SILVA, 2002).

A água potável pode ser contaminada por Cd devido à presença do metal como impureza no zinco de tubulações galvanizadas, soldas e acessórios metálicos. Pode se bioacumular em plantas, invertebrados, peixes e mamíferos (CETESB, 2011).

O Cd no organismo pode substituir o Zn em reações, desativando certos complexos enzimáticos. Danos neurológicos, disfunção renal, aberrações cromossômicas, câncer e outras doenças mutagênicas têm sido associadas à contaminação por Cd (MUÑOZ, 2002).

1.3.2. Chumbo

O chumbo é um contaminante ambiental de toxicidade largamente conhecida, direcionada a diferentes tecidos, como rins, cérebro, pulmões, fígado e sistema imune (RODNEY, 2003). O uso extensivo desse metal nos tempos modernos (sistemas de distribuição de água, aditivos para gasolina e pintura, aplicações em eletrônicos, etc.)

causou o aumento muito difundido da exposição de Pb pela população ao redor do mundo, principalmente no século XX (LIPPMAN et al., 2009). Grande proporção do Pb presente no meio ambiente, em muitas partes do mundo, teve origem na emissão veicular, e ocorreu principalmente na forma inorgânica (BAIRD, 2002). Durante muito tempo foi estudado o uso do chumbo tetraetila, adicionado à gasolina em 1922, para melhorar a octanagem. No entanto, vários países se uniram para erradicar progressivamente a adição desse metal à gasolina, substituindo-o por outros componentes, como o álcool, no caso do Brasil, devido à crescente preocupação com seus efeitos tóxicos ao ser humano. Na combustão da gasolina, o Pb era lançado no ar, e, devido a sua característica lipossolúvel, era rapidamente absorvido pelos pulmões, pele e trato digestório. Em decorrência da retirada do Pb como aditivo da gasolina, tem-se verificado a diminuição da contaminação ambiental e humana pelo metal.

Na exposição ocupacional, as pessoas estão ligadas diretamente à fonte de emissão do Pb, e geralmente a intoxicação se dá pelas vias respiratórias. Cerca de 90% do Pb absorvido pelo organismo se localiza nas hemácias, permanecendo até 36 dias antes de ser eliminado na urina e fezes. Os sinais e sintomas podem levar anos para se manifestarem, devido à deposição do Pb nos ossos (CAMARGO; MANHAS, 2010, SINGH et. al, 2003).

A absorção do Pb varia com a faixa etária e composição da dieta do indivíduo. Sua toxicidade é proporcional à quantidade presente nos tecidos moles, e não à quantidade que se encontra no sangue ou ossos (BAIRD, 2002). Crianças expostas ao Pb têm absorção até 50%, enquanto em adultos essa porcentagem cai para 10-20%; e a absorção gastrointestinal é aumentada quando o indivíduo apresenta deficiência de cálcio, ferro e zinco, e quadro de jejum.

Sua deposição na água é de origem atmosférica ou da lixiviação do solo, de fontes naturais ou antropogênicas. Variações de pH, presença de sais e agentes complexantes orgânicos ditam a dissociação do Pb entre o sedimento e a fase aquosa.

Existem vários relatos na literatura sobre o efeito do Pb na quebra da homeostase do sistema imunológico, podendo tanto causar a depleção da resposta imunitária quanto a exacerbação da resposta imune, podendo gerar quadros alérgicos e o aparecimento de doenças autoimunes (SINGH et al, 2003).

1.3.3. Cobre

O cobre, comumente utilizado como fungicida na agricultura e como pigmento para a fabricação de tintas, está frequentemente presente em efluentes industriais e domésticos (MASUTTI, 2004).

A poluição do meio ambiente pode ocorrer por resíduos industriais, nas minas de refinaria de Cu, na fabricação de latão, em curtumes e preservativos de madeira, por resíduos agrícolas, no uso excessivo de fertilizantes contendo Cu, no esterco de porco e por resíduos residenciais, como o lodo de esgoto (SANTOS, 2005).

O cobre é considerado elemento essencial em pequenas quantidades, agindo na ativação de mais de 30 proteínas, ligado a ceruloplasmina (90% do cobre plasmático) que participa da manutenção e transporte do ferro e fracamente ligado à albumina (HENRY, 1999). Contudo, em altas concentrações, tem sido associado a sintomas gastrointestinais, como diarreia, dor abdominal, náusea e vômitos. Por ter capacidade de participar na cadeia transportadora de elétrons, o cobre se torna um gerador de radicais livres que o torna deletério às células.

A maior parte do metal liberado em água encontra-se como material particulado, sendo precipitado ou adsorvido à matéria orgânica, ferro hidratado, óxidos de manganês, depositado em sedimentos ou colunas d'água (ALVES, 2009).

1.3.4. Cromo

Presente na natureza em duas formas mais comuns, a trivalente Cr(III) e a hexavalente Cr(VI), apresentam propriedades químicas diferentes, sendo o Cr(VI) sua forma mais tóxica. O Cr(III) é considerado micronutriente ligado ao metabolismo da glicose. As principais emissões de Cr em águas superficiais ocorrem nos processos de finalização metálica, como cromagem e galvanoplastia, e também no tratamento de água industrial. Cerca de 40% do metal estão disponíveis na forma Cr(VI) de origem antropogênica.

A maioria dos compostos solúveis de Cr em água de superfície pode estar presente como Cr(VI), podendo ser reduzido a Cr(III) por matérias orgânicas presentes na água e, eventualmente, se depositar em sedimentos (ALVES, 2009). A forma hexavalente é muito corrosiva e causa úlcera no septo nasal e na pele, além de induzir reações de hipersensibilidade cutânea em seres humanos. Seus compostos são considerados cancerígenos para os seres humanos (CETESB, 2011, MASUTTI, 2004, MUÑOZ, 2002).

1.3.5. Manganês

O Mn é um mineral essencial, participa de várias atividades fisiológicas do organismo, no processo de óxido-redução, e compondo várias enzimas (AZEVEDO; CHASIN, 2003; MUÑOZ, 2002).

Trata-se de um metal usado na fabricação de ligas metálicas, pilhas, vidros, indústria química, de couro, têxtil e como fertilizante. Sua forma em permanganato é utilizada como branqueador, oxidante e no tratamento de doenças de pele. Já, sua forma orgânica é utilizada como fungicida e inibidores de fumaça (CETESB, 2011).

O Mn é considerado nutriente essencial em pequenas quantidades, principalmente nos processos reprodutivos, na manutenção da estrutura óssea e sistema nervoso. Trabalhadores expostos cronicamente a aerossóis que apresentavam grande quantidade do metal apresentaram náuseas, tosse, cefaleia, fadiga muscular, perda do apetite, insônia e inflamação nos pulmões; sua contaminação pode levar a efeitos neurológicos e neuropsiquiátricos, como alucinações e instabilidade emocional (CETESB, 2011). Na água, o Mn ocorre na forma dissolvida e suspensa, que variam conforme o pH e potencial redox. A água subterrânea anaeróbica frequentemente contém níveis elevados de Mn dissolvido. Já em rios, o Mn é transportado adsorvido a partículas dos sedimentos (CETESB, 2011).

Em estudos de impacto ambiental na região de Ribeirão Preto, foram constatados níveis elevados, segundo os valores máximos legalmente estabelecidos, de Mn no solo, chorume de aterro sanitário e no rio Pardo (ALVES et al., 2014, MUÑOZ, 2002)

O Mn está envolvido nas funções de vários sistemas - imunológico, reprodução, digestão, crescimento ósseo, regulação de glicose sanguínea e energia celular -, e ainda na defesa do organismo a radicais livres, porém, se absorvido em excesso pode ser tóxico. Sua contaminação tem sido associada a deficiências neurológicas, transtornos comportamentais e doenças neuropsiquiátricas (AZEVEDO; CHASIN, 2003; MUÑOZ, 2002).

1.3.6. Mercúrio

O mercúrio pode ser encontrado nas formas inorgânica, ionizada e ligado ao radical metil (CH3), formando o metil mercúrio, sendo que nessa forma é altamente tóxico e reage com vários compostos, incluindo os aminoácidos como as cisteínas.

O metal Hg, como outros minerais metaloides, está presente em muitos produtos, como conservantes de tintas, alguns produtos farmacêuticos, fertilizantes, pesticidas e herbicidas empregados nas atividades rurais. O Hg ainda pode ser lixiviado das rochas e solos introduzindo-se nos sistemas aquáticos por processos naturais, alguns deles acelerados pela atividade humana (BAIRD, 2002). Nos corpos d'água, a disponibilidade do Hg depende de fatores morfológicos e químicos. Além disso, a presença de outros compostos, como carbono orgânico, ferro, argila, fósforo e enxofre em sedimentos, está correlacionada com sua distribuição no ecossistema aquático, além de outros fatores, como variações do pH e a presença de agentes complexantes, que também determinam o grau de adsorção do Hg no corpo d'água ou sedimento (ALVES, 2009).

O Hg foi associado, recentemente, à desregulação de proteínas pré e pró inflamatórias, ligadas à proteção do organismo do estresse oxidativo (GSTA-1) e consequentemente ligada à exacerbação de processos autoimunes (MOTTS et al., 2014).

Nesse sentido, SILBERGELD et al. (2005), considerando que o Hg, além de neurotóxico também pudesse ser imunotóxico, dosaram-no em trabalhadores de minas de ouro na região da Amazônia, considerando a presença ou antecedente de malária. Os resultados revelaram aumento significante da presença de anticorpo antinuclear (ANA) entre esses trabalhadores, cuja interação foi positiva com o Hg. Assim, sugerem o Hg como modelo de imunotoxicidade, como cofator de doença

autoimune. Ainda, em trabalhadores de minas na Amazônia, GARDNER et al. (2010) relatam que mineradores de ouro na região amazônica expostos ao Hg apresentam maior prevalência de anticorpos antinúcleo e antinucleares comparados aos mineradores de diamantes e de esmeraldas, não expostos ao Hg. Também, aqueles expostos ao Hg apresentam altas concentrações de IL-1β, TNF-α e IFN-γ.

1.3.7. Zinco

O zinco de origem industrial, tanto urbano como agrícola, é encontrado usualmente na natureza na forma de sulfetos, ou associado ao sulfeto de outros metais, principalmente de Pb, Cd, Cu e Fe. É utilizado na metalurgia, produtos químicos, remédios, inseticidas, cosméticos, fertilizantes e indústrias gráficas. Para o homem, é elemento essencial e necessário ao metabolismo de carboidratos, na divisão e crescimento celular, e participa da regulação do sistema imune. No corpo humano, o Zn pode se acumular no fígado, pâncreas e próstata, está presente no suco pancreático e no líquido seminal (SILVA, 2002).

Por possuírem propriedades químicas semelhantes - Zn e Cd -, por interagirem nos processos cinéticos do organismo, a absorção de um favorece a do outro. Contudo o Cd é conhecido como um antimetabólito do Zn.

Na água, a dinâmica do zinco se detém à distribuição pelo sedimento sobre ferro e óxidos de manganês, argila mineral e materiais orgânicos (ALVES, 2009).

1.4. PARÂMETROS LIMNOLÓGICOS

A avaliação dos parâmetros limnológicos em recursos hídricos tem o intuito de avaliar a qualidade da água e identificar diferenças, sendo considerada ferramenta

importante para a proteção do meio ambiente e da saúde pública. Essa avaliação dos corpos de superfície pode refletir a carga de poluição e a pressão antrópica sobre os sistemas de águas superficiais (ESTEVES, 1998).

O pH pode influenciar o equilíbrio de diversos processos químicos que ocorrem naturalmente ou os processos de tratamento de água. Pode ainda influenciar ecossistemas aquáticos naturais devido aos seus efeitos sobre a fisiologia de diversas espécies, além de contribuir indiretamente com a precipitação de elementos químicos tóxicos, como metais pesados, podendo exercer efeitos sobre a solubilidade de nutrientes. Em um sistema aquático, o pH é um importante indicador da qualidade e da dimensão da poluição na bacia hidrográfica, de forma que, em águas não poluídas, é comumente encontrado um pH entre 6,5 e 9 (ESTEVES, 1998; CETESB, 2009).

A temperatura desempenha papel crucial no meio aquático, condicionando as influências de uma série de variáveis físico-químicas. Em geral, à medida que a temperatura aumenta, de 0 a 30°C, viscosidade, tensão superficial, compressibilidade, calor específico, constante de ionização e calor latente de vaporização diminuem, enquanto a condutividade térmica e a pressão de vapor aumentam.

O oxigênio dissolvido é um elemento essencial ao metabolismo dos seres aquáticos aeróbicos. Em águas correntes, sob circunstâncias normais, o conteúdo de oxigênio é alto e varia ao longo do rio, devido a alterações em suas características ambientais e em consequência das condições climáticas. Baixos valores podem estar associados à grande quantidade de matéria orgânica na água, que pode levar à eutrofização do córrego. A concentração do oxigênio na água varia com a sua temperatura, bem como a solubilidade desse gás depende ainda da pressão atmosférica e da salinidade da água (ALVES, 2009; CETESB, 2009).

A condutividade é a expressão numérica da capacidade da água de conduzir a corrente elétrica (CETESB, 2009). Seus valores, expressos em micro Siemens por

centímetro (µS/cm), variam em função da concentração e dos tipos de íons presentes na coluna d'água, e da temperatura. Além disso, a condutividade está diretamente relacionada às mudanças no fluxo de água, à quantidade de sólidos dissolvidos e à condição da qualidade da água. Segundo a CETESB (2009), a condutividade acima de 100 µS/cm geralmente indica ambientes impactados.

A turbidez corresponde ao grau de atenuação da intensidade sofrida por um feixe de luz ao atravessar um corpo d'água. Essa propriedade da água é devido à presença de sólidos em suspensão, como partículas inorgânicas (areia, silte, argila) e detritos orgânicos, como bactérias e algas. Esses materiais podem atingir a água mediante processos naturais de erosão e escoamento superficial, ou por efluentes domésticos e industriais que são lançados no corpo hídrico. A elevação da turbidez leva à redução da taxa fotossintética de algas e vegetais enraizados submersos, influenciando na produtividade das comunidades biológicas aquáticas. O uso doméstico, industrial e recreacional da água também podem ser afetados pela elevada turbidez (CETESB, 2009).

1.5. BACIAS HIDROGRÁFICAS DA REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO E AQUÍFERO GUARANI

Bacia hidrográfica é considerada o conjunto de terras drenadas por um rio principal, seus afluentes e subafluentes. Tecnicamente, a ideia de bacia hidrográfica está associada à noção da existência de nascentes, divisores de águas e características dos cursos de água, principais e secundários, denominados afluentes e subafluentes. Uma bacia hidrográfica evidencia a hierarquização dos rios, ou seja, a organização natural por ordem de menor volume para os mais caudalosos, que vai das partes mais altas para as mais baixas. No intuito de gerenciar a água de forma descentralizada,

integrada e com a participação da sociedade, os comitês de bacias hidrográficas foram criados pela lei que instituiu a política estadual de recursos hídricos (7.663/91) (REDE DAS ÁGUAS, 2001). Antes da sua criação, o gerenciamento da água era feito de forma isolada por municípios e Estado. As informações estavam dispersas em órgãos técnicos ligados ao assunto e os dados não eram compatíveis. Era muito difícil obter acesso a informações concretas. Isso dificultava o planejamento sobre captação, abastecimento, distribuição, despejo e tratamento da água que consumimos e acarretava a realização de megaobras, concebidas de forma isolada, muitas vezes com desperdício de dinheiro público. A falta de políticas públicas integradas e eficientes para o manejo dos recursos naturais provocou a degradação de muitos rios. Com a criação dos comitês, o estado de São Paulo foi dividido em 22 unidades de gerenciamento (Figura 4), de acordo com as bacias hidrográficas e afinidades geopolíticas. Cada uma dessas partes passou a se chamar Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) (REDE DAS ÁGUAS, 2001).

Figura 4 - Bacias Hidrográficas do Estado de São Paulo (Fonte: CBH-Grande)

1.5.1. Bacia do Rio Pardo

A Bacia Hidrográfica do Rio Pardo situa-se na região sudeste do Brasil, abrangendo pequena área do Planalto Sul de Minas Gerais e a porção nordeste do Estado de São Paulo. O Rio Pardo tem suas nascentes no Planalto Sul de Minas Gerais e dirige-se para o Rio Grande acompanhando a inclinação do relevo (Figura 5). Embora tenha origem em Minas Gerais, 84% do seu curso desenvolvem-se no Estado de São Paulo, percorrendo cerca de 260 km no estado. Seu maior afluente é o Rio Mogi-Guaçu, que também nasce em território mineiro (IPT, 2011).

A economia na extensão da bacia do Rio Pardo é baseada na agropecuária, indústria, comércio e serviços consolidados na região de Ribeirão Preto. Com a agropecuária ocupando 75% do território, destacam-se as culturas de cana-de-açúcar e laranja, além das pastagens, que ocupam aproximadamente 22% da área da bacia. Existem áreas de culturas irrigadas como cebola, batata e milho, que têm expressiva importância econômica e no consumo de água (CBH-PARDO, 2011).

Ainda levando em consideração os dados do CBH-Pardo (2011), tanto no âmbito dos setores rurais como industriais, houve ampliação não somente na área destinada ao plantio e à pecuária, mas também no crescimento do número de indústrias na região da bacia. Essas ampliações levam ao aumento do uso dos recursos hídricos, além do possível aumento da poluição da bacia pelos insumos industriais, de pecuária agricultura, tendo a cidade de Ribeirão Preto e seus arredores como regiões de maior interesse no estudo de impacto na bacia.

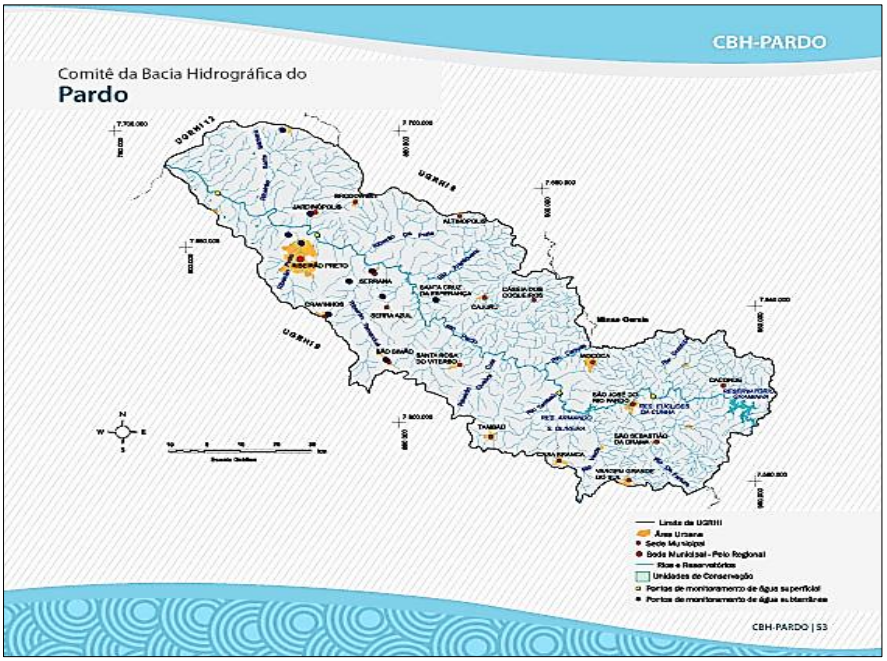


Figura 5 - Mapa Hidrográfico do Rio Pardo (Fonte: CBH-Pardo)

1.5.2. Bacia do Rio Mogi-Guaçu

O rio Mogi-Guaçu, que em tupi guarani significa Cobra Grande, tem suas nascentes localizadas no Morro do Curvado, no município mineiro de Bom Repouso-MG, no planalto cristalino, com altitude média de 1.650m. No estado de Minas Gerias o rio percorre 95,5km, e cerca de 377,5km no estado de São Paulo. Ao final dos 473 km de extensão total percorrido, o rio Mogi-Guaçu deságua no Rio Pardo, a uma altitude de 490m, no município de Pontal, compreendendo 14.653km² de área de drenagem e (CETESB, 2011).

No estado de São Paulo essa bacia hidrográfica apresenta 39 municípios e atinge uma população de 1.466.062 habitantes (CBH-MOGI-2014). O trecho paulista da Bacia do Rio Mogi-Guaçu localiza-se na região nordeste do estado e percorre cerca de 380 km em terras paulistas (Figura 6).

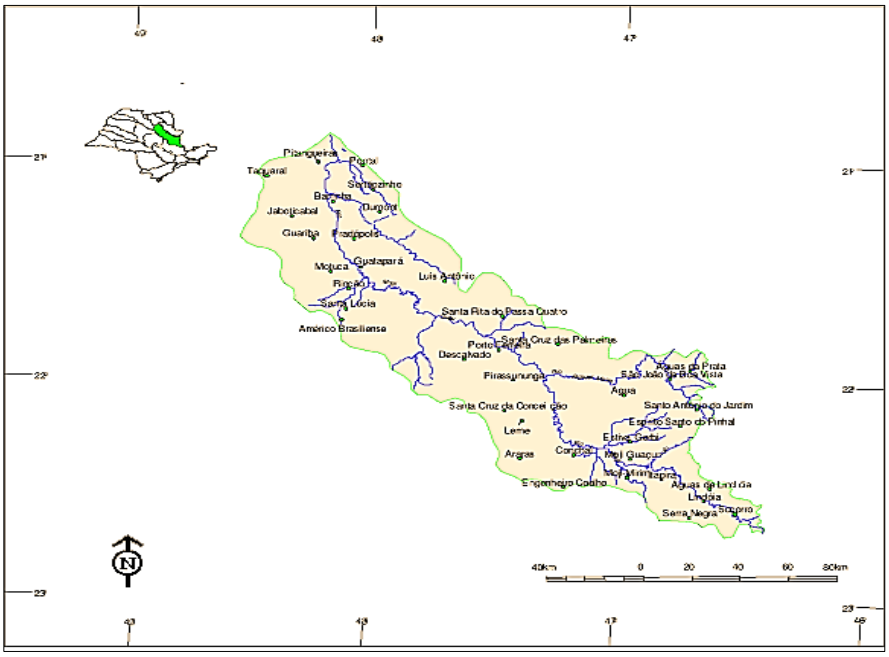


Figura 6 - Mapa Hidrográfico do Rio Mogi-Guaçu (Fonte: CBH-MOGI)

De acordo com Silva (2002), a bacia do Mogi-Guaçu no território paulista apresenta a maior diversidade de uso e ocupação do solo, além de maior porcentagem de urbanização e atividades industriais, se comparados com a porção mineira. A atividade agrícola mais expressiva é a de cana-de-açúcar especialmente na região de Ribeirão Preto até Barretos, além de café e da cultura de laranja (CBH-MOGI-2014).

As atividades exercidas ao longo do rio Mogi-Guaçu têm maior demanda por água superficial, com 84% do total demandado, cabendo apenas 16% de uso de demanda subterrânea. Quanto aos diferentes tipos de uso, faz-se destaque para o uso rural (principalmente irrigação) com 45,5% do total demandado, e o expressivo uso industrial com 38,8% da demanda total, o que definitivamente comprova o caráter industrial da bacia do rio Mogi-Guaçu, conforme já apontado no Plano Estadual de Recursos Hídricos (CBH-MOGI-2014).

1.5.3. Rio Sapucaí-Mirim/Grande

A Bacia Hidrográfica dos rios Sapucaí-Mirim/Grande localiza-se no Nordeste do Estado de São Paulo, nasce em Minas Gerais e deságua no Rio Pardo (Figura 7). A bacia tem Franca como principal cidade de interesse, abriga 48% da população total e tem 6% do território da bacia, destacando-se como uma área crítica de impacto aos recursos hídricos superficiais, na captação para abastecimento e no lançamento de efluentes. A região de Franca, bem como as demais regiões da bacia, tem sofrido as consequências do crescimento do agronegócio, principalmente o cultivo da cana-de-açúcar, impactando diretamente a riqueza dos municípios, apresentando repercussão maior nos municípios menores. A indústria calçadista de Franca destaca-se como uma das maiores do país, com grande produção para exportação. Distingue-se também a indústria alimentícia, principalmente de laticínios, além do crescente número de loteamentos. Na agricultura predomina os cultivos da braquiária (pastagem), cana-de-açúcar e soja. A cidade de Franca também se destaca por ser polo industrial da região, com 80% de representatividade da bacia (CBH-SMG, 2011).

Atrelada a esse crescimento, tanto agrário quanto industrial, existe a preocupação do comitê de bacias em manter adequados os níveis de qualidade de água, elaborando estratégias que previnam grande impacto nos recursos hídricos da região. O índice de qualidade das águas da bacia do Sapucaí-Mirim/Grande é considerado “Bom”, no entanto, o crescimento industrial da região que caracteriza a bacia como em industrialização, visa o constante monitoramento. Desta forma, o controle sobre a descarga de efluentes doméstico e industriais no manancial hídrico tem como consequência a saúde da população em crescimento da bacia.

Figura 7 - Municípios e sub-bacias que compõem a Bacia do Sapucaí/Mirim (Fonte: CBH – SMG).

1.5.4. Aquífero Guarani

O Aquífero Guarani é o maior manancial de água doce subterrânea transfronteiriço do mundo, estendendo-se desde a Bacia Sedimentar do Paraná até a Bacia do Chaco Paraná, com extensão total, preliminarmente definida, da ordem de 1,2 milhão de km². Ele pode fornecer até 43 trilhões de m3 de água por ano, o suficiente para abastecer uma população de 500 milhões de habitantes. Sua maior ocorrência se dá em território brasileiro (2/3 da área total), abrangendo os Estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 8).

Além de conter a maior parte das reservas subterrâneas, o Brasil também conta com muitas áreas de recarga, o que lhe confere uma posição estratégica.

Figura 8 - Distribuição do aquífero Guarani na América do Sul e estados do Brasil (Fonte: CETESB)

Uma grande preocupação, nos dias de hoje, em relação à água subterrânea, é a sua contaminação, pois mesmo o solo tendo a capacidade de imobilização de grande parte das impurezas, essa capacidade é limitada.

A contaminação da água subterrânea se assemelha à forma de contaminação das águas superficiais, podendo ter várias origens, principalmente por atividades domésticas (matéria orgânica e microrganismos patogênicos), industriais (componentes químicos, metais e elementos radioativos) e agrícolas (fertilizantes e defensivos agrícolas), podendo ainda as atividades mineradoras, exploração de petróleo e outras possíveis formas de contaminação afetar essas reservas (CONCEIÇÃO. 2009).

Estudos desenvolvidos ao longo de cinco anos (1995-1999) pelo Projeto “Ribeirão”, em área de afloramento do Aquífero Guarani, revelaram a presença de agrotóxicos como tebutiuron, hexazinone e ametrina em níveis crescentes de um ano para o outro na água subterrânea. Todavia, os níveis encontrados estão ainda abaixo daqueles considerados críticos pelo Ministério da Saúde do Brasil, Organização Mundial de Saúde e pela EPA (Environmental Protection Agency- EUA) para os

padrões de potabilidade. Compilando a síntese dos resultados do monitoramento da CETESB (2007 e 2009), pode-se constatar, no que se refere aos íons metais Pb, Cr e Hg, uma variabilidade da sua concentração, sempre dentro dos limites considerados permitidos (Tabela 1).

Tabela 1 - Síntese dos resultados de qualidade das águas subterrâneas para o Aquífero Guarani, segundo alguns metais pesados de interesse e o período estudado (Fonte: CETESB).

Parâmetro	Valor Máximo Permitido VMP* (mg/L)	2007 - 2009
Chumbo Total	0,01	< 0,002
Cromo Total	0,05	0,002
Mercúrio Total	0,001	< 0,0001***
Cobre	2	0,06
Zinco	1,05**	0,26

* - VMP – Valor Orientado pela Portaria 518/04 do Ministério da Sa

** - Valor Orientado pela CONAMA 420/2009

*** - Valores entre os anos de 2001 a 2003

Uma camada de rocha basáltica protege o aquífero das contaminações do solo, contudo, em estudos feitos ao longo de quatro anos (1999 – 2003) pelo EMBRAPA, foram apontados níveis de agrotóxicos próximos aos do limite de risco para a saúde humana na região de Ribeirão Preto (SP) e em outras quatro áreas: nas nascentes do rio Araguaia, no limite setentrional do aquífero, na região de Lajes (SC), em Alegrete (RS) e no interior do Paraná. Nessas regiões, o risco de contaminação é grande porque o aquífero não é protegido pela rocha basáltica (GOMES, 2006).

Foi verificada também uma tendência no aumento dos teores de nitrato na água subterrânea no mesmo período de quatro anos. Como os solos dessas áreas normalmente possuem alta permeabilidade, a aplicação anual e cumulativa de

produtos, sejam agrotóxicos, sejam fertilizantes, que contêm moléculas ou elementos de alta mobilidade, aumenta sensivelmente o risco de contaminação do Aquífero Guarani (GOMES, SPADOTTO, FILIZOLA, 2004).

Em outro estudo no ano de 2009, foi constatada a elevação dos níveis de íons fosfato em 29 dos 31 poços de abastecimento na região urbana de Ribeirão Preto, níveis maiores que os permitidos pela Resolução CONAMA de 2005 para corpos d'água de classe 2, classificação do aquífero. A presença desse íon em concentração elevada nas águas subterrâneas se deve à associação desse elemento a fontes antrópicas, esgoto sanitário, atividade agrícola e industrial (CONCEIÇÃO, 2009). Dados mais recentes referentes ao relatório das águas subterrâneas feito pela CETESB (2012) indicaram a presença dos metais alumínio, chumbo, zinco, manganês e arsênico em concentrações acima do estipulado pela legislação em diversos pontos de coleta, que abrange quase a totalidade da área do aquífero no estado de São Paulo. Esses dados confirmam a vulnerabilidade do aquífero a agentes poluidores e possível contaminação de suas reservas em certas extensões.

JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

A literatura brasileira compreende numerosos relatos de casuísticas de pênfigo foliáceo, o qual é endêmico em alguns estados do país, principalmente na região nordeste do estado de São Paulo (Figura 9). Fazendo-se a comparação com o mapa do aquífero Guarani (Figura 10), constata-se que coincidentemente, ou não, existe uma superposição de ambos nos estados onde o pênfigo foliáceo é prevalente no Brasil. Acrescenta-se que existem estudos importantes sobre pênfigo foliáceo em região indígena do estado do Mato Grosso (EATON et al., 1998). Diante da hipótese de que metais pesados estariam implicados na patogênese dos pênfigos na região nordeste do estado de São Paulo e pela vulnerabilidade das bacias hidrográficas e do aquífero Guarani a uma grande gama de poluentes, houve o interesse de se investigar possível relação de nexo dos metais com o aquífero Guarani, as Bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim, principais fontes de abastecimento de água na região endêmica de ambos os pênfigos.

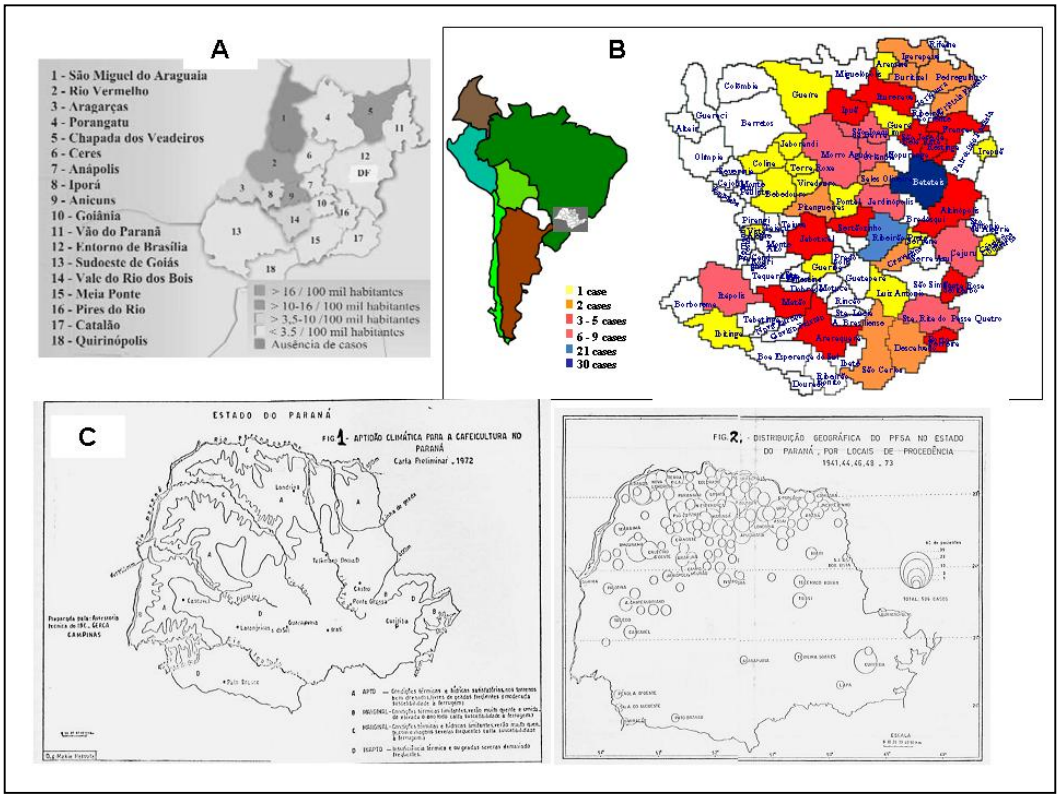


Figura 9 - Distribuição dos casos pênfigo foliáceo nos estados de Goiás (A), região nordeste do estado de São Paulo (B) e Paraná (C).

Figura 10 - Distribuição do Aquífero Guarani nos estados do Brasil (Fonte: CETESB)

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Determinar a concentração de metais pesados em amostras de água provenientes do Sistema Aquífero Guarani, do rio Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim e sua relação com a quantificação de metais em amostras de pacientes com pênfigo e controles.

3.2. Objetivos específicos

I. Verificar se os níveis de metais pesados estão de acordo com a legislação federal para águas superficiais e águas para abastecimento humano (Resolução CONAMA nº357/05 e Portaria 2914/11 do Ministério da Saúde).
II. Verificar e correlacionar os parâmetros limnológicos ao longo das bacias estudadas entre si e com os metais dosados.
III. Verificar se os pacientes e controles apresentam exposição aos metais pesados, como profissão ou lazer.
IV. Quantificar metais pesados em amostras de pacientes com pênfigo foliáceo e pênfigo vulgar, e de controles.
V. Verificar se os metais dosados em amostras biológicas se enquadram nos valores de referência adotados pela Organização Mundial de Saúde e para a cidade de Ribeirão Preto.
VI. Relacionar os resultados da quantificação dos metais pesados nas amostras de água com as amostras da casuística de pênfigos e controles da região endêmica.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto corresponde ao Subprojeto VI do projeto temático “RELAÇÃO DOS FATORES IMUNOGENÉTICOS E AMBIENTAIS NA ETIOPATOGÊNESE DOS PÊNFIGOS EM AMOSTRAS BRASILEIRAS”, sob o nº 2010/51729-2. O projeto temático e o TCLE foram aprovados pelo CEP, sob nº. 423/2011 (Anexo A). Todos os pacientes declararam estar cientes e assinaram o TCLE (Anexo B).

4.1. Local de estudo e coleta das amostras de água

A área de estudo compreende a região nordeste do estado de São Paulo, considerada área endêmica para o PF e PV, abrangendo as três grandes bacias hidrográficas da região - Bacia do Rio Pardo, Bacia do Rio Mogi-Guaçu e Bacia do Rio Sapucaí/Mirim (Figura 11).

A coleta das amostras de água foi orientada pela Profa. Dra. Susana Segura Muñoz, Professora Associada da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, USP.

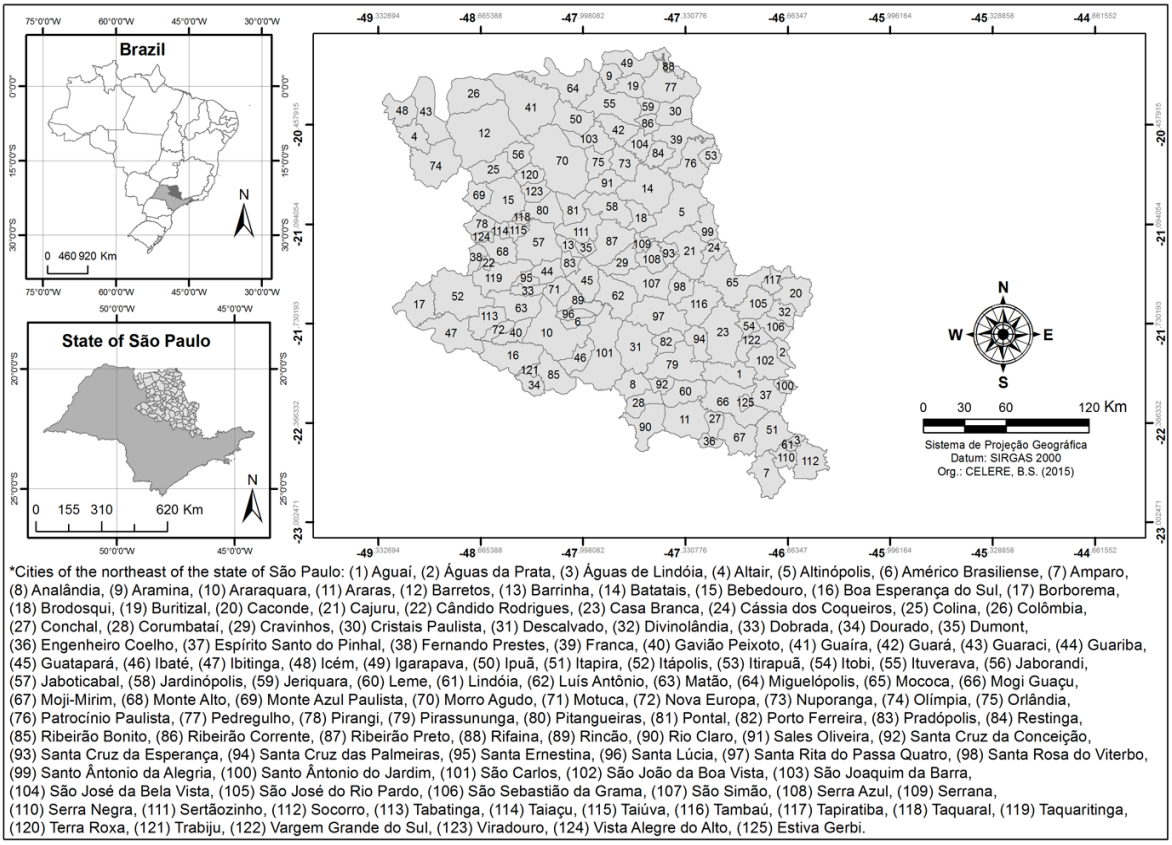


Figura 11 - Distribuição das 125 cidades na região nordeste do estado de São Paulo e bacias (Fonte: CELERE, TURATTI 2015)

Local de coleta das amostras de água dos rios

A coleta das amostras de água foi delineada a fim de abranger as épocas seca e chuvosa na região (Figura 12). Inicialmente foi feita uma coleta na época chuvosa (janeiro de 2014), e outra na época seca (junho de 2014) para os Rios Mogi-Guaçu e Rio Sapucaí/Mirim (6 pontos ao longo do Rio Mogi-Guaçu e 4 pontos ao longo do Rio Sapucaí/Mirim), levando em conta a extensão de cada rio. Vale ressaltar que as coletas realizadas em janeiro de 2014 sofreram influência das precipitações de dezembro de 2013. Os resultados para as dosagens de metais do Rio Pardo foram baseados em estudos preliminares nesta bacia, cedidos da tese intitulada

"*Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde humana e análise multivariada"* (Alves, 2014).

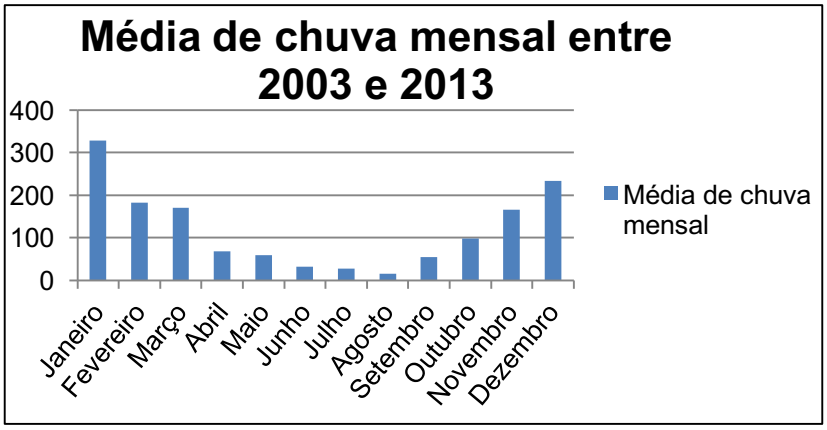


Figura 12 - Média de chuvas mensais entre os anos de 2003 a 2013 na região de Ribeirão Preto (CIIAGRO, 2014).

Os pontos de coleta foram selecionados levando-se em consideração a melhor representatividade de cada bacia, seguindo critérios de distribuição uniforme ao longo das mesmas, no intuito de que cada ponto representasse de forma fidedigna as reais condições do corpo d'água. A escolha dos pontos de coleta ainda levou em consideração a incidência de pacientes com pênfigo ao longo das bacias, coletando, quando possível, próximo a centros urbanos, onde a concentração de pessoas é maior.

Os pontos de coleta do Rio Pardo, Rio Mogi-Guaçu e Rio Sapucaí/Mirim são apresentados nas Figuras 13-15.

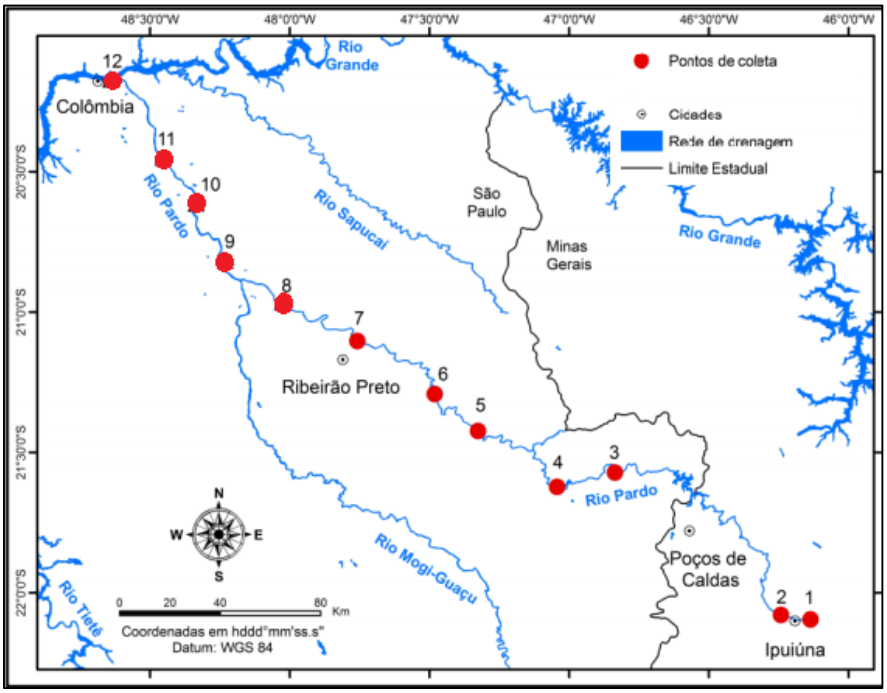


Figura 13 - Pontos de coleta do Rio Pardo (fonte: ALVES et al., 2014)

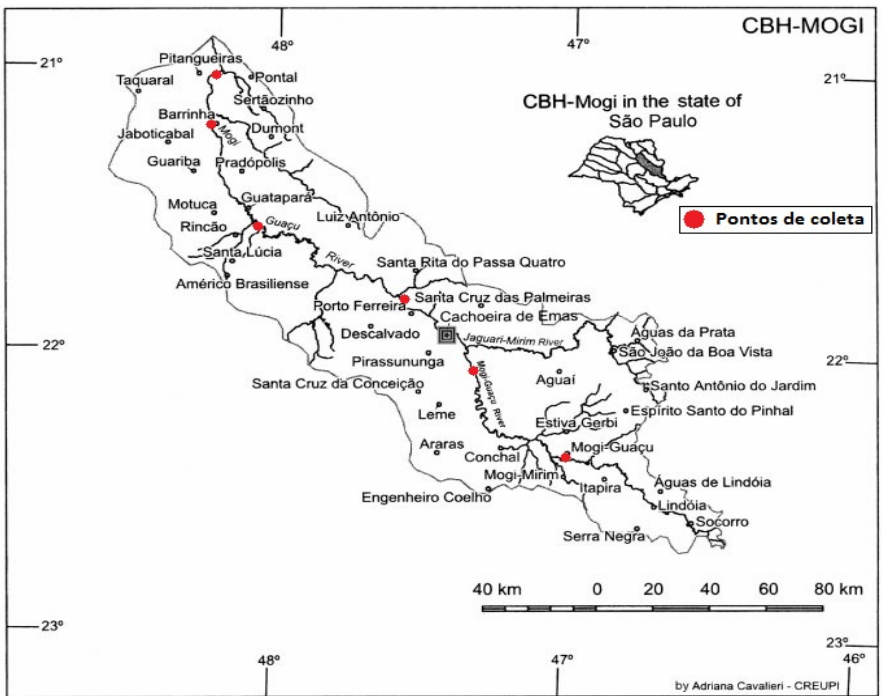


Figura 14 - Pontos de coleta do Rio Mogi-Guaçu (fonte: CBH-Mogi)

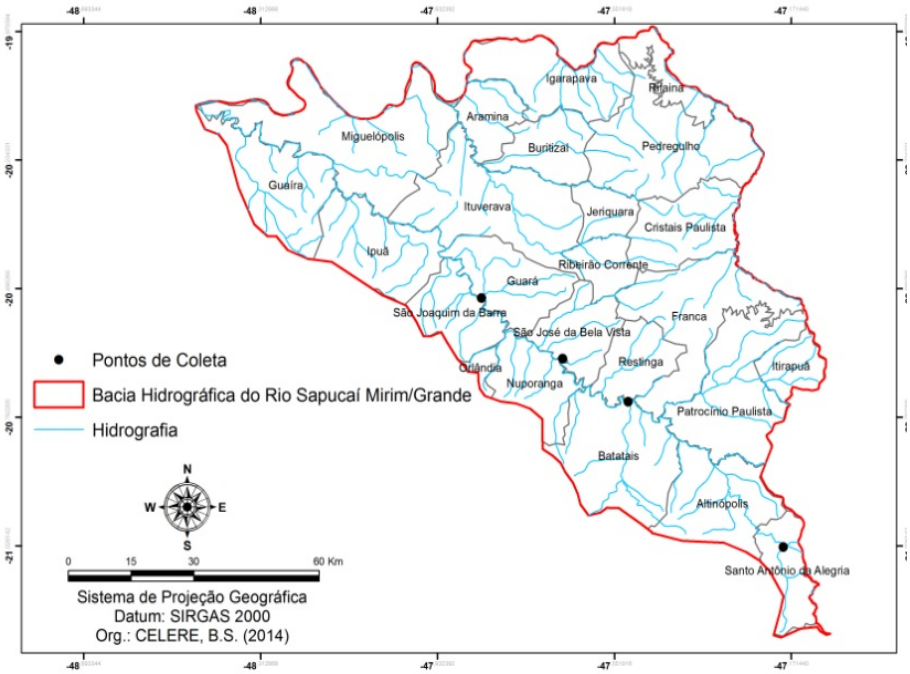


Figura 15 - Pontos de coleta do Rio Sapucaí/Mirim (fonte: CELERE, 2014)

Coleta de água do Aquífero Guarani – coleta de água de abastecimento residencial

Para as coletas de água proveniente do Aquífero Guarani seguiram-se estratégias distintas. Optou-se por realizar as coletas de amostras de água da rede de distribuição das residências de 18 pacientes com pênfigos, moradores na cidade de Ribeirão Preto, como forma de avaliar a qualidade da água de abastecimento provinda do Aquífero Guarani, que abastece em totalidade a cidade.

O critério de inclusão dos 18 pacientes se baseou na localização da moradia, tendo sido selecionados pacientes que alegaram ainda viver na mesma residência onde a doença se manifestou pela primeira vez. Essas informações foram coletadas da “Planilha de Dermatoses Bolhosas” do Laboratório do Setor de Dermatologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Essa planilha é alimentada periodicamente com os dados colhidos dos prontuários médicos dos pacientes.

Foram realizadas 6 visitas, quando houve a oportunidade de conversar com 16/18 pacientes, obtendo-se informações pertinentes à doença apresentada (Tabela 2; Figura 16).

Tabela 2 – Dados dos pacientes com coleta residencial de Ribeirão Preto (coletas realizadas entre maio e agosto de 2014).

Amostra de Água	Ano de nasc.	Sexo	Cor	Idade no início do pênfigo	Diagnóstico do Paciente	Ano do início do Pênfigo	Data de coleta	Observações clínicas na coleta	Urbano (U)/Rural (R)
1	1960	M	Branco	51	PV	2011	23/05/14	SEM LESÕES - ÚLTIMA PULSOTERAPIA EM 05/2014	U
2	1964	F	Branco	33	PF	1997	23/05/14	SEM LESÕES A 13 ANOS	U
3	1937	F	Branco	64	PV	2001	23/05/14	SEM LESÕES E NÃO ESTÁ EM TRATAMENTO	U
4	1948	F	Branco	61	PV	2009	27/06/14	SEM LESÕES	U
5	1950	F	Branco	60	PV	2010	27/06/14	SEM LESÕES E EM TRATAMENTO DESDE 2011	U
6	1965	M	Branco	43	PV	2008	27/06/14	INICIO DE NOVAS LESÕES APÓS 1 ANO E MEIO EM REMISSÃO	U
7	1958	F	Pardo	41	PV	1999	27/06/14	SEM LESÕES E SEM TRATAMENTO	U
8	1945	M	Branco	41	PF	1986	27/06/14	SEM LESÕES A 20 ANOS E RELATOU APARECIMENTO DE CANCER DE PELE NESSE PERÍODO	U
9	1996	M	Branco	15	PF	2011	10/07/14	SEM LESÕES E EM TRATAMENTO	U
10	1954	F	Branco	56	PV	2010	10/07/14	SEM LESÕES E EM TRATAMENTO	U
11	1938	F	Branco	72	PV	2010	11/07/14	INTERROMPEU TRATAMENTO EM 12/2013 - SURGIMENTO DE FERIDAS NA BOCA	U
12	1952	M	Branco	58	PV	2011	11/07/14	SEM LESÕES E EM TRATAMENTO	U
13	1952	M	Branco	60	PV	2012	16/07/14	SEM LESÕES E NO FINAL DO TRATAMENTO	U
14	1965	F	Branco	44	PV	2009	16/07/14	SEM LESÕES DESDE 08/2013	U
15	1968	M	Branco	44	PV	2012	16/07/14	SEM LESÕES E EM TRATAMENTO	R
16	1952	F	Branco	60	PF	2012	16/07/14	RELATOU LESÃO NO ROSTO; EM TRATAMENTO	U
17*	1958	M	Branco	50	PV	2008	04/08/14	PACIENTE NÃO ENCONTRADO EM CASA PARA COLETA NAS DATAS DO AGENDAMENTO	U
18*	1988	M	Branco	8	PF	1998	05/08/14	PACIENTE NÃO ENCONTRADO EM CASA PARA COLETA NAS DATAS DO AGENDAMENTO	U

PV = pênfigo vulgar; PF= Pênfigo foliáceo; M= masculino; F= feminino

* Sangue total e soro não coletados, paciente não encontrado em casa para coleta nas datas do agendamento.

As coletas foram agendadas levando em consideração as datas e horários de maior conveniência para o paciente. A coleta de água para consumo foi feita na torneira de entrada da casa ou cozinha que recebesse água diretamente do abastecimento público, evitando, assim, coletar água dos reservatórios domésticos (caixa d'água).

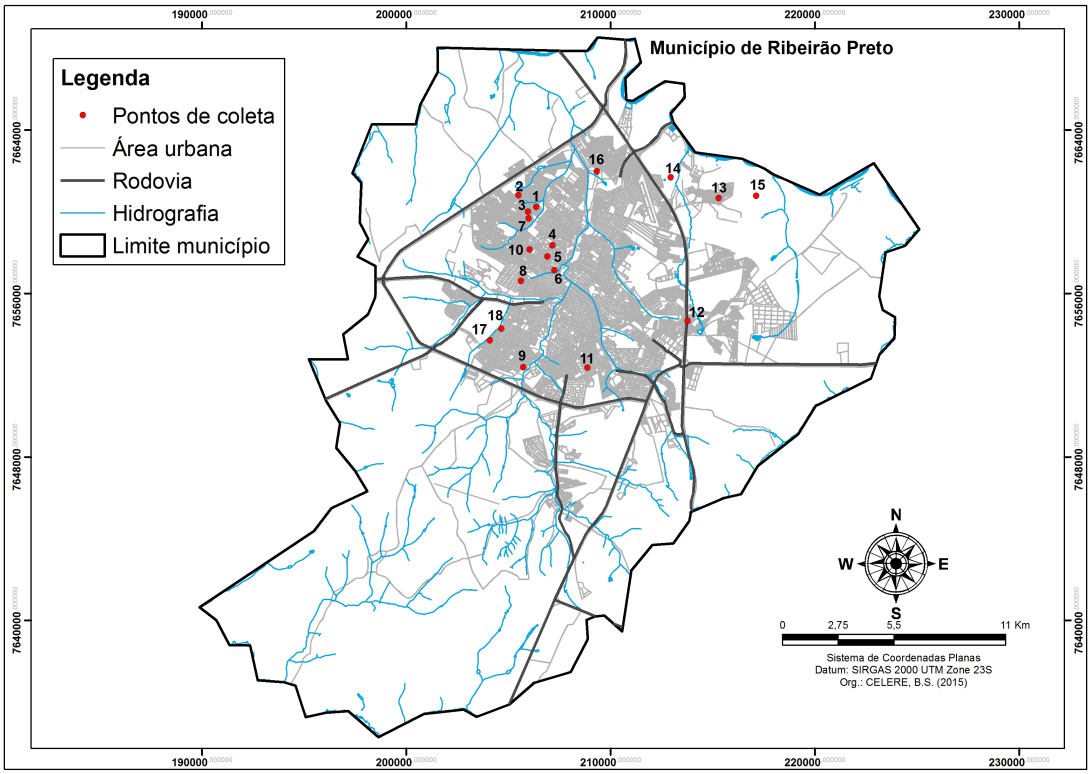


Figura 16 - Pontos de coleta das residências dos pacientes com pênfigos na cidade de Ribeirão Preto, representando amostragem de água do aquífero Guarani. Os números no mapa correspondem aos números da Tabela 2 (fonte: CELERE, 2014)

4.2 Casuística

A casuística do presente estudo foi composta por 253 indivíduos com pelo menos um dos metais dosados em amostra de sangue - chumbo, cobre e/ou zinco -, sendo 56 pacientes com PV, 62 pacientes com PF e 135 controles. Os controles foram constituídos por familiares e vizinhos dos pacientes, sendo 85 controles de pacientes com PV e 60, de pacientes com PF (Tabela 3).

Em relação à idade média dos pacientes diagnosticados com PV, PF e controles, no momento da coleta, foi evidenciada diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$), caracterizando o grupo PV com maior idade em relação aos pacientes com PF

(52,8 anos e 42,8 anos, respectivamente; p= 0,004). A mesma diferença se repete para PV e controles (p = 0,004) (52,8 anos e 42,4, respectivamente).

Quanto ao gênero nota-se a prevalência do gênero feminino para todos os grupos, embora não significante, tendo o grupo PV 64,3% de pacientes do gênero feminino, o grupo PF com 58,1% e o grupo controle com 62,2% (p = 0,77).

Tabela 3 - Distribuição da casuística dos pacientes com pênfigo vulgar e foliáceo, e controles da região de estudo, quanto à idade e gênero

Grupos		PV	PF	Controles	*p*
Idade	Média ± DP	52,8 ± 15,4	42,8 ± 17,1	42,4 ± 16,7*	< 0,0001
Sexo (%)	Masculino	20 (35,7)	26 (41,9)	51 (37,8)	0,77
	Feminino	36 (64,3)	36 (58,1)	84 (62,2)	
Total		56 (100)	62 (100)	135 (100)	253

PV= pênfigo vulgar, PF= Pênfigo foliaceo, DP= desvio padrão, *= baseado em n de 131

Distribuição espacial da manifestação do pênfigo

A análise para os dados de moradia contemplou pacientes que residiam na região nordeste do estado de São Paulo, na manifestação do pênfigo (Tabela 4). Para a distribuição das cidades levou-se em consideração as cidades com maior número de casos de pênfigo, por isso o destaque para as cidades de Ribeirão Preto, Franca, Batatais e São Carlos.

Tabela 4 – Distribuição da casuística dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo, e controles da região de estudo, quanto às cidades onde manifestaram o pênfigo.

GRUPOS	CIDADE					
	Ribeirão Preto	Franca	Batatais	São Carlos	Demais Cidades	Total
PV	15	7	2	4	28	56
	26,80%	12,50%	3,60%	7,10%	50,0%	100%
PF	11	8	6	4	33	62
	17,70%	12,90%	9,70%	6,50%	53,20%	100%
Controles	37	20	14	15	49	135
	27,40%	14,80%	10,40%	11,10%	36,30%	100%
Total	63	35	22	23	110	253
	24,90%	13,80%	8,70%	9,10%	43,50%	100%

PV= pênfigo vulgar; PF= pênfigo foliáceo

Dados demográficos da casuística estudada

Com base nos dados coletados de pacientes e controles, por meio de análise de prontuários e questionários aplicados no momento da coleta da amostra, foi traçado o perfil demográfico e epidemiológico para os indivíduos que tiveram metais dosados no sangue, provenientes da região de estudo. A distribuição demográfica da casuística está ilustrada na Tabela 3 para pênfigo vulgar (PV), pênfigo foliáceo (PF) e controles.

No entanto, o número de indivíduos que responderam o questionário e/ou possuíam informações em prontuários (n = 231) foi menor que o número de pacientes com amostras de sangue coletados para os metais (n = 253). Portanto, os resultados apresentados a seguir se referem aos indivíduos que responderam os questionários (Tabela 5).

Tabela 5. Relação da casuística com questionários preenchidos.

	Grupos		Total
Base de dados	**Pacientes**	**Controles**	
Questionários/Prontuários*	110	121	231
Sem questionários/Prontuários	8	14	22
Total	118	135	253

*= prontuários de controles com registro no sistema do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto

Tempo de doença na data de coleta da amostra para dosagem de metais

Foram coletados dados referentes ao tempo de doença dos pacientes com PV e PF no momento da coleta (Tabela 6). Em relação ao tempo de doença, foi evidenciada diferença estatística entre os grupos PV e PF (p = 0,01), caracterizando o grupo PV com maior número de indivíduos com maior tempo de doença entre o período de 1 -

5 anos de doença (62,5%) em relação aos pacientes com PF no mesmo período (38,7%) (p = 0,001).

No período maior que 10 anos de doença o grupo PF apresentou maior número de indivíduos em relação ao grupo PV (32,3% e 8,9%, respectivamente) (p = 0,05).

Tabela 6 – Tempo de doença de pacientes com PV e PF no momento da coleta dos metais.

	Tempo de doença (anos)				Total n (%)	*p*
Grupos	**< 1 n (%)**	**1 – 5 n (%)**	**6 – 10 n (%)**	**> 10 n (%)**		
PV n (%)	5 (8,9)	35 (62,5)	11 (19,6)	5 (8,9)	56 (100)	
PF n (%)	5 (8,1)	24 (38,7)	13 (21,0)	20 (32,3)	62 (100)	0,01
Total n (%)	10 (8,5)	59 (50)	24 (20,3)	25 (21,2)	118 (100)	

PV= pênfigo vulgar; PF= pênfigo foliáceo

Faixa etária de pacientes com PV, PF e controles no momento da coleta dos metais.

Foram coletados dados referentes à faixa etária dos pacientes com PV, PF e dos controles no momento da coleta (Tabela 7). Em relação à faixa etária foi evidenciada diferença estatística para a faixa etária com indivíduos com idade superior a 60 anos, entre os grupos PV, PF e controles (p < 0,001), caracterizando o grupo PV com maior número de indivíduos com idade superior a 60 em relação ao grupo PF (39,3 e 17,7%, respectivamente; p= 0,03) e em relação aos controles (39,3% e 14,5%, respectivamente; p=0,02). Na faixa etária de indivíduos até 10 anos o grupo controle apresentou maior número de indivíduos em relação ao grupo PV (12,2% e 1,8%, respectivamente; p = 0,05).

Tabela 7 – Faixa etária de pacientes com PV, PF e controles no momento da coleta dos metais.

Grupos	Faixa etária (anos) 0 - 20 n (%)	21 - 40 n (%)	41 - 60 n (%)	> 60 n (%)	Total n (%)	*p*
PV n (%)	1 (1,8)	11 (19,6)	22 (39,3)	22 (39,3)	56 (100)	< 0,001
PF n (%)	8 (12,9)	21 (33,9)	22 (35,5)	11 (17,7)	62 (100)	
Controles n (%)	16 (12,2)	43 (32,8)	53 (40,5)	19 (14,5)	131 (100)	
Total n (%)	25 (10,0)	75 (30,1)	97 (39,0)	52 (20,9)	249 (100)	

PV= pênfigo vulgar; PF= pênfigo foliáceo

Aplicação de questionário para obtenção de dados relacionados à exposição aos metais

Os questionários foram aplicados no momento da coleta de sangue ou no retorno às consultas ambulatoriais, e também nas visitas residenciais para a coleta de água (Anexo C). A aplicação dos questionários contou com a participação dos pós-graduandos do presente projeto temático, que foram instruídos sobre como efetuar o questionário, uma vez que esse possuía informações pertinentes a todos os projetos inseridos no projeto temático.

As informações contemplaram variáveis de possível exposição aos metais pesados, como a exposição ocupacional, definidas as profissões: trabalhador rural, construção civil, trabalhadores da indústria do calçado, carpinteiros, funileiros, pintor, pedreiro, frentista de posto de gasolina, tratorista e jardineiros, e não ocupacional (dona de casa, estudante, inativos, aposentados), além de considerar variáveis como etilismo, tabagismo, contato com rios, exposição aos metais e pesticidas que não de forma ocupacional. A variável exposição aos metais levou em consideração a exposição aos metais de ordem ocupacional e de ordem não ocupacional, que, para o presente projeto, se referiu a: moradias próximas a áreas industriais, pintura

residencial recente, manutenção de automóvel próprio e contato direto com lâmpadas fluorescentes quebradas, ou seja, exposições agudas, geralmente não crônicas, descritas pelos indivíduos.

A exposição ocupacional contemplou as profissões mencionadas por apresentam possível risco ocupacional a diversos metais, seja no processo de curtimento, pigmentação do couro e fabricação do solado (indústria calçadista), aplicação de pesticidas e fertilizantes (jardineiro, trabalhador rural e tratorista), no tratamento e impermeabilização da madeira (carpinteiro) ou no manuseio e exposição a vapores de combustíveis (frentista) (Tabela 8).

O hábito de fumar, ingestão de bebidas alcoólicas, contato com rios ou lagos, moradia em zona rural ou urbana e a exposição aos metais ou pesticidas de origem ocupacional ou não, foram outras variáveis levadas em consideração na aplicação do questionário (Tabela 9).

Tabela 8 – Metais dosados em água, sangue total e soro, relacionados à exposição ocupacional

Ocupação	Metais de possível exposição *	Referência
Carpinteiro	Cr, Cu, Zn	AZEVEDO, 2003; FERREIRA DA SILVA, 2010; MACHADO et al., 2011; PRUDENT, et al., 1996
Construtor civil	Pb, Mn, Cr, Zn	
Funileiro	Cd, Pb, Mn, Cr, Zn	
Frentista de posto de gasolina	Cu, Cr, Mn, Zn	
Jardineiro	Cu, Cr, Mn,Hg, Zn	
Pintor	Cd, Pb, Cu, Hg, Zn	
Trabalhador da indústria do calçado	Pb, Cu, Cr e Zn	
Trabalhador rural	Cu, Cr, Mn,Hg, Zn	
Tratorista	Cu, Cr, Mn,Hg, Zn	

* Abrangendo os metais que contemplaram o presente estudo

Tabela 9 – Dados da casuística com questionário preenchido quanto às variáveis de possível exposição aos metais.

VARIÁVEIS DE POSSÍVEL EXPOSIÇÃO A METAIS	GRUPOS						Total n (%)
	PV		PF		CONTROLES		
	Sim n (%)	Não n (%)	Sim n (%)	Não n (%)	Sim n (%)	Não n (%)	
PESTICIDAS	19 (8,2)	33 (14,3)	22 (9,5)	36 (15,6)	24 (10,4)	97 (42,0)	231 (100)
PESTICIDAS (OCUPACIONAL)	6 (15,0)	5 (12,5)	8 (20,0)	3 (7,5)	7 (17,5)	11 (27,5)	40 (100)
METAIS	9 (4,0)	42 (18,7)	12 (5,3)	41 (18,2)	10 (4,4)	111 (49,3)	225 (100)
METAIS (OCUPACIONAL)	4 (25)	0	3 (18,8)	3 (18,8)	5 (31,1)	1 (6,3)	16 (100)
RIOS	22 (9,5)	30 (13,0)	38 (16,5)	20 (8,7)	58 (25,1)	63 (27,3)	231 (100)
TABAGISMO	5 (2,2)	48 (20,8)	13 (5,6)	45 (19,5)	19 (8,2)	101 (43,7)	231 (100)
ETILISMO	9 (3,9)	44 (19,0)	14 (6,1)	45 (19,5)	31 (13,4)	88 (38,1)	231 (100)
OCUPACIONAL	16 (6,9)	40 (17,3)	24 (10,4)	38 (16,5)	20 (8,7)	93 (40,3)	231 (100)
ZONA RURAL	4 (1,7)	51 (21,1)	10 (4,1)	49 (20,2)	4 (1,7)	124 (51,2)	242 (100)

PV = pênfigo vulgar; PF = pênfigo foliaceo;

4.3. Análise dos metais pesados

Amostras de água

As estratégias e coordenação das coletas de amostras de água e o material para as coletas foram disponibilizados pelo Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA) da EERP-USP, sob coordenação da Profa. Susana Segura Muñoz. As coletas ainda contaram com o auxílio dos pós-graduandos do mesmo laboratório.

As leituras dos parâmetros limnológicos foram realizadas no momento da coleta (*in situ*). Os materiais utilizados foram: pHmetro da marca PH-TEK e modelo pH100, termômetro digital da marca MINIPA, turbidímetro portátil da marca HANNA® *instruments* e modelo HI 93703, condutivímetro portátil da marca LT lutron e modelo CD – 4303, aparelho medidor de oxigênio dissolvido da marca LT lutron e modelo D0 – 5510.

Os materiais utilizados para a coleta da amostra consistiram em tubos de polietileno de 50 ml previamente submergidos em ácido nítrico 30%, por 24 horas,

para a eliminação de metais interferentes, e posteriormente enxaguados em água Mili-Q.

Para a coleta de amostra de água superficial, um balde de polietileno era lançado no leito do rio, depois de previamente ambientado com água do próprio rio, e posteriormente eram preenchidos os tubos de polietileno, imediatamente em seguida eram dosados os parâmetros limnológicos.

Para a coleta de amostras de água residencial, os tubos de polietileno foram preenchidos após o escoamento de água da torneira por no mínimo três minutos, minimizando assim obter a água estagnada na tubulação. As amostras foram fixadas com ácido nítrico de alta pureza (65% Suprapur-Merck, Germany) para que o pH < 2,00 fosse mantido, e acondicionadas a -18ºC até a dosagem (APHA, 2005)

Amostras de sangue

Foram coletados 2 tubos de sangue periférico de cada paciente ou controle, 5 ml em tubo contendo heparina para a dosagem de Pb, e 10 ml em tubo com ativador de coágulo para extração de soro para a dosagens de Cu e Zn.

Para a dosagem de Pb, foram transferidos ~1,2ml de sangue total para tubo de congelamento, eram acrescentados 100µl de Triton X-100 (para lise das hemácias) e mantidos acondicionados a -20ºC até a dosagem. Para a dosagem de Cu e Zn, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 10 minutos, eram transferidos 1,2 ml do soro para tubo de congelamento e mantidos acondicionados em freezer até o momento da dosagem.

Dosagem dos metais

A dosagem dos metais foi realizada no Setor de Metais do Laboratório de Pediatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto;

responsabilizando-se pelos laudos e análises: Tânia Maria Beltramini Trevilato, Especialista em Metais, Departamento de Puericultura e Pediatria, FMRP-USP. Foram realizadas dosagens de: chumbo, cadmio, cromo, manganês, mercúrio, cobre e zinco nas amostras de água coletadas dos rios e das residências dos pacientes; enquanto os metais chumbo, cobre e zinco foram dosados nas amostras de sangue total e soro dos pacientes e controles.

Os metais Pb, Cr, Cu, Cd e Mn foram dosados por Espectrofotometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite Zeeman 640Z (VARIAN). O Hg foi dosado por Espectrofotometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos no EAA 200 com VGA77 (VARIAN). O Zn foi dosado por Espectrofotometria de Absorção Atômica com Chama (VARIAN).

A metodologia analítica é baseada no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* – 20th ed. Os limites de detecção dos métodos utilizados para a análise dos metais pesados nas amostras de água dos rios são:

- 0,1 $\mu g.L^{-1}$ para Cr, Pb e Zn
- 0,07 $\mu g.L^{-1}$ para Mn
- 0,01 $\mu g.L^{-1}$ para Cd e Hg
- 0,5 $\mu g.L^{-1}$ para Cu

Para a calibração, preparou-se uma solução-padrão para cada metal em concentrações específicas, a partir de uma solução-estoque de cada metal, cuja concentração foi de 1000 $mg.L^{-1}$. As concentrações dos padrões utilizados para cada um dos metais nas suas respectivas curvas de calibração seguem abaixo:

- Pb – 100,0 $\mu g.L^{-1}$; 200,0 $\mu g.L^{-1}$; 300,0 $\mu g.L^{-1}$; 400,0 $\mu g.L^{-1}$
- Cu – 12,5 $\mu g.L^{-1}$; 25 $\mu g.L^{-1}$; 37,5 $\mu g.L^{-1}$
- Cr – 5,0 $\mu g.L^{-1}$; 10,0 $\mu g.L^{-1}$; 20,0 $\mu g.L^{-1}$

- Mn – 2,5 $\mu g.L^{-1}$; 5,0 $\mu g.L^{-1}$; 7,5 $\mu g.L^{-1}$
- Hg – 5,0 $\mu g.L^{-1}$; 10,0 $\mu g.L^{-1}$; 15,0 $\mu g.L^{-1}$
- Zn – 500,0 $\mu g.L^{-1}$; 1000,0 $\mu g.L^{-1}$; 2000 $\mu g.L^{-1}$

Para a validação dos métodos, foram utilizados padrões certificantes de água potável (PW) e não potável (NW) (PW 517; PW 545; PW 577; NW 556; NW 567; NW 572), procedentes do Instituto Quality Control Technologies Pty Ltd., Queensland, Austrália. Para os controles de metais sanguíneos, o Chumbo é certificado pelo IAL PEP Pbs (Programa de Ensaio de Proficiência para o Chumbo em sangue do IAL Instituo Adolfo Lutz) de São Paulo. O Zinco e Cobre tem validação com um material certificante BCR (Community Bureau of Reference of the European Commission) adquirido no período das dosagens.

4.4. Valores normativos

Para a análise dos padrões de concentração de metais em amostras de águas superficiais foram adotados os padrões de qualidade estabelecidos pela Resolução N° 357/2005 da CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Essa resolução estabelece os valores máximos de componentes orgânicos e inorgânicos para todas as classes de águas superficiais.

Para a análise da concentração sérica dos metais foram levados em consideração os valores de referência estipulados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 1995) e Santos (2007), o valor de referência para Pb utilizado para a região de Ribeirão Preto de acordo com Camargo e Manhas (2010), como dispostos na Tabela 10. Todas referências empregam em sua metodologia o uso da Espectrofotometria de Absorção Atômica para as análises de metais.

Tabela 10. Valores máximos permissíveis (V.M.P.) das concentrações dos metais pesados em µg.L^{-1} para o enquadramento das classes dos rios, e valores de referência (V.R.) para os metais no sangue.

Metais	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
V.M.P µg.L $^{-1}$ (CONAMA - 357/2005-	1,00	10,00	9,00	50,00	100,00	0,20	180,00
V.M.P µg.L $^{-1}$ (Portaria 2914/2011)	5,00	10,00	2000,00	50,0	100,00	1,0	5000,00
Limites de detecção	0,01	0,2	0,1	5,0	0,07	0,01	1,0
V.R. V.M.P (µg%)		10 - 40 (5,0*)	70 - 140				50 - 120

V.R.= valor de referência, *= V.R. para região de Ribeirão Preto

A análise de metais séricos e em sangue total levou em consideração a magnitude das concentrações dos metais quanto à distribuição de pacientes com PV, PF e controles em relação aos valores normais para os metais Pb, Cu e Zn (Tabela 11).

Tabela 11 – Magnitude da concentração dos metais Pb, Cu e Zn nas casuísticas de pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles.

MAGNITUDE DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS	GRUPOS						Total n (%)
	PV		PF		CONTROLES		
	Sim n (%)	Não n (%)	Sim n (%)	Não n (%)	Sim n (%)	Não n (%)	
Pb > VR	18 (7,3)	38 (15,4)	14 (5,7)	47 (19,0)	19 (7,7)	111 (44,9)	247 (100)
Cu > VR	2 (1,3)	29 (18,7)	2 (1,3)	26 (16,8)	7 (4,5)	89 (57,4)	155 (100)
Cu < VR	1 (0,7)	29 (19,6)	1 (0,7)	26 (17,6)	2 (1,4)	89 (60,0)	148 (100)
Zn > VR	0	30 (19,1)	0	29 (18,5)	4 (2,5)	94 (59,9)	157 (100)
Zn < VR	2 (1,3)	30 (19,1)	1 (0,6)	29 (18,5)	1 (0,6)	94 (59,9)	157 (100)

VR = Valor de referência; PV = pênfigo vulgar; PF = pênfigo foliaceo; Pb > VR = chumbo maior que valor de referência 5µg%, Cu>/< = cobre maior/menor que valor de referência 70-140µg% ; Zn>/< = zinco maior/menor que valor de referência= 50-120µg%;

4.5. Análise estatística

Para a análise estatística dos metais dosados em amostras de água e em material biológico foi utilizado o software SPSS Statistic Base 22.0, adotando-se a

probabilidade significante menor ou igual a 0,05. Os dados que apresentaram distribuição normal (paramétricos) foram submetidos ao teste t de Student ou one-way ANOVA para verificar se houveram diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,5$) entre os grupos de dados. Já, para os dados que não apresentaram distribuição normal (não paramétricos) foram aplicados os testes de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis. O Graphpad Prism 6 foi utilizado para geração de gráficos.

Para efeito de cálculo dos metais dosados em águas pelos programas estatísticos, os valores encontrados abaixo do limite de detecção (LD) foram substituídos por valores correspondentes à metade do limite de detecção (LD/2) de cada metal, evitando assim o uso do valor “0,0”.

A correlação dos dados, quando normalmente distribuídos, foram analisados pelo teste de Pearson, e, quando não normais, foram analisados pelo teste de Spearman.

As análises de associação levaram em consideração as informações fornecidas por pacientes e controles, contidas nos questionários, os dados foram analisados utilizando o teste do X^2 ou exato de X^2.

A análise multivariada utilizada para a prevalência de Pb foi a de covariância multivariada de efeitos principais dos metais. Para Zn foi utilizada a análise de variância multivariada. Para a análise multivariada da prevalência dos mesmos metais entre os grupos (PV, PF e controles), foi utilizada a regressão logística binária multivariada.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos na avaliação dos metais pesados Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais dos rios Mogi-Guaçu, Pardo, Sapucaí/Mirim e de amostras de água de abastecimento provenientes do Aquífero Guarani, além dos resultados da avaliação dos parâmetros limnológicos pH, oxigênio dissolvido, condutividade, turbidez e temperatura.

Os resultados referentes aos metais foram avaliados segundo os limites estipulados pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para águas superficiais e pela Portaria 2914/2011 para água potável. Para os resultados dos metais Pb em sangue total, Cu e Zn sérico, os resultados foram avaliados segundo o estipulado pela OMS (WHO, 1995), Santos (2007) e valores locais. Estão dispostos na Tabela 2, os valores permissíveis para os metais e os limites de detecção para o método utilizado para a leitura de metais. A Resolução CONAMA nº 357/2005 estabelece a classificação dos corpos de água e as diretrizes ambientais para o enquadramento em função dos usos atuais e futuros, bem como as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Dessa forma, as águas doces são estabelecidas em cinco classes: classe especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4 (BRASIL, 2005). O Decreto Estadual n º 10.755/1977 dispõe sobre o enquadramento dos corpos de água do Estado de São Paulo. Segundo o decreto, todos os corpos hídricos do Estado pertencem à classe 2, exceto aqueles que estiverem classificados em outra classe.

Águas enquadradas na classe 2, segundo a Resolução CONAMA Nº357/05, são destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;

à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA n° 274, de 2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e à aquicultura e à atividade de pesca.

Ainda nesta seção, são apresentados os resultados das concentrações dos metais na casuística estudada, e a associação com possíveis fatores de exposição aos metais pesados.

O enquadramento dos valores de referência para os metais no sangue total (Pb) foi baseado na Norma Regulamentadora nº 7, a qual estabelece os Índices Biológicos Máximos Permitidos (IBMP) para chumbo no sangue na população, e o trabalho de Camargo e Manhas (2010), que consistiu em um levantamento de dados internos (Sistema LIS do próprio setor) de pacientes do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, entre 1988 e 2009, provenientes de diferentes clínicas. Estre trabalho propôs um novo valor de referência utilizado para a região de Ribeirão Preto. Para a análise da concentração de metais séricos (Cu e Zn) foram levados em consideração os valores de referência estipulados pela OMS (WHO, 1995) e Santos (2007).

5.1. Bacia do Rio Pardo

Os resultados das concentrações dos metais Cd, Cu, Cr, Hg, Mn, Pb e Zn, assim como os resultados limnológicos encontrados para as amostras de água coletadas do rio Pardo podem ser visualizados no Anexo D e E, respectivamente. Esses resultados foram copiados das referências “Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes

patogênicos na Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde humana e análise multivariada" (ALVES et al., 2014), em concordância com os autores.

5.2. Bacia do Rio Mogi-Guaçu

Concentrações dos metais Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb e Zn

Os resultados das concentrações dos metais Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb e Zn nas amostras de água coletadas nos 6 pontos do Rio Mogi-Guaçu - nas estações chuvosa e seca - são apresentados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente.

As concentrações dos metais Cd, Pb, Cu, Cr e Zn nas amostras de águas do Rio Mogi-Guaçu se encontram abaixo dos valores máximos permissíveis pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para águas de classe 2, para ambas as estações seca e chuvosa.

As concentrações de Hg excederam os valores máximos permitidos para ambas as estações: nos pontos 2 e 4 de coleta na estação chuvosa (0,59 $\mu g.L^{-1}$ e 0,00052 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente), e nos pontos 3, 4 e 5 (0,26 $\mu g.L^{-1}$, 0,46 $\mu g.L^{-1}$ e 0,65 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente) na estação seca.

Embora os valores das concentrações dos metais estejam dentro das especificações, os valores de Cd, Cu, Mn e Zn mostraram diferença estatística significante ($p < 0,05$) ao serem comparadas as estações chuvosa e seca, sendo os valores de Cu, Mn e Zn maiores na estação chuvosa, e de Cd, na estação seca.

Tabela 12 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Mogi-Guaçu na estação chuvosa (coleta realizada em janeiro de 2014).

Pontos de coleta	Metais ($\mu g.L^{-1}$)						
	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
1	0,05	0,23	0,78	1,00	70,42	0,12	11,10
2	$6.0 . 10^{-7}$	0,31	0,87	1,10	65,55	**0,59**	10,30
3	0,02	0,43	4,00	0,70	84,57	**0,20**	11,30
4	<LD	0,79	1,56	8,00	69,88	**0,52**	13,00
5	<LD	0,53	1,59	0,60	45,18	<LD	10,40
6	<LD	1,11	7,03	1,90	86,43	<LD	20,20
Media	$1.5 . 10^{-3}$	0,57	2,64	2,22	70,34	**0,24**	12,72
DP	0,02	0,33	2,45	2,87	14,95	0,26	3,79
Mediana	0,01	0,48	1,58	1,05	70,15	0,16	11,20
Máxima	0,05	1,11	7,03	8,00	86,43	0,59	20,20
Mínima	0,00	0,23	0,78	0,60	45,18	0,12	10,30
V.M.P	**1,00**	**10,00**	**9,00**	**50,00**	**100,00**	**0,20**	**180,00**

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

Tabela 13 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Mogi-Guaçu na estação seca (coleta realizada em junho de 2014).

Pontos de coleta	Metais ($\mu g.L^{-1}$)						
	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
1	0,14	1,10	<LD	0,65	33,63	<LD	5,10
2	0,12	0,40	<LD	0,71	20,05	<LD	5,74
3	0,17	0,51	0,04	0,93	4,44	**0,26**	5,62
4	0,17	0,46	0,61	0,85	8,06	**0,46**	5,74
5	0,12	0,64	0,82	0,73	6,62	**0,65**	5,41
6	0,16	0,64	0,38	1,79	13,87	<LD	4,99
Media	0,15	0,63	0,39	0,94	14,45	0,23	5,43
DP	0,02	0,25	0,28	0,43	10,97	0,28	0,33
Mediana	0,15	0,58	0,32	0,79	10,97	0,13	5,52
Máxima	0,17	1,10	0,82	1,79	33,63	0,65	5,74
Mínima	0,12	0,40	0,04	0,65	4,44	0,26	4,99
V.M.P	**1,00**	**10,00**	**9,00**	**50,00**	**100,00**	**0,20**	**180,00**

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

Resultados Limnológicos

Na Tabela14 são apresentados os resultados das medidas dos parâmetros limnológicos, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade e turbidez,

para os 6 pontos de coleta de amostras de água do Rio Mogi-Guaçu, nas estações chuvosa e seca.

Tabela 14 - Valores dos parâmetros limnológicos das amostras de água coletadas do Rio Mogi-Guaçu nas estações chuvosa e seca (coletas realizadas em janeiro e junho de 2014)

Pontos de coleta	pH		Temperatura (°C)		Oxigênio Dissolvido ($mg.L^{-1}$)		Condutividade (µS)		Turbidez (FTU)	
	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca
1	7,0	6,5	26,1	19,5	**4,2**	7,0	81,1	98,2	41,8	7,0
2	7,2	6,8	28,1	20,8	5,4	7,7	**118,2**	**145,8**	18,5	2,3
3	6,9	6,5	29,0	21,1	5,8	7,6	**109,6**	**144,7**	29,4	4,4
4	7,7	6,2	27,9	21,4	7,4	9,0	**106,5**	**117,8**	29,5	23,2
5	7,5	**5,8**	28,2	21,3	**4,2**	8,9	90,5	**104,6**	22,2	12,8
6	7,3	**5,5**	28,5	21,8	8,4	8,7	86,2	**100,5**	43,6	16,9
Média	7,3	6,2	28,0	21,0	5,9	8,2	98,7	122,7	30,8	11,1
DP	0,3	0,5	1,0	0,8	1,7	0,8	14,8	21,6	10,2	8,0
Máxima	7,7	6,8	29,0	21,8	8,4	9,0	118,2	145,8	43,6	23,2
Mínima	6,9	5,5	26,1	19,5	4,2	7,0	81,1	100,5	18,5	2,3
V.M.P	**6,0 - 9,0**		**NA**		**>5 $mg.L^{-1}$**		**<100 µS**		**<100 FTU**	

V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão, NA= não se aplica

Valores de pH

Os valores de pH variaram de 6,9 a 7,7 com média de 7,3 na estação chuvosa, e de 5,5 a 6,8 com média de 6,2 na estação seca. Esses valores se encontram dentro dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 357/2005 para os corpos de águas doces superficiais pertencentes às classes 1, 2 e 3. A Resolução estabelece variação de pH de 6,0 a 9,0 (BRASIL, 2005). Contudo, os valores dos pontos 5 e 6 para a estação seca apresentam valores abaixo dos limites estipulados.

Ao comparar os valores de pH de acordo com as estações de coleta, foram encontradas diferenças estatísticas entre as coletas ($p = 0,001$), e apresentaram correlação negativa ($r = -0,841$) com temperatura ($p = 0,03$) e turbidez ($r = -0,812$; $p = 0,05$), ambas na estação seca. Não houve correlação estatisticamente significativa para a época chuvosa.

Valores de Temperatura

Os valores de temperatura variaram de 26,1°C a 29,0 °C com média de 28,0 °C na estação chuvosa; e de 19,5 °C a 21,8 °C, com média de 21,0 °C na estação seca.

Ao comparar os valores de temperatura de acordo com as estações de coleta, foram evidenciadas diferenças estatísticas significantes (p = 0,002) entre os grupos, com maiores valores de temperatura para a estação chuvosa.

Os valores de temperatura apresentaram correlação negativa (r = -0,841) e significativa (p=0,03) com os valores de pH na estação seca.

Valores de Oxigênio Dissolvido

Os valores de oxigênio dissolvido variaram de 4,2 mg.L-1 a 8,4 mg.L-1, com média de 5,9 mg.L-1 na estação chuvosa, e de 7,0 mg.L-1 a 9,0 mg.L-1, com média de 8,2 mg.L-1 na estação seca. Os valores dos pontos 1 e 5 de coletas na estação chuvosa foram considerados abaixo do limite estabelecido pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos de água doces superficiais de classe 2, com limite estabelecido de 5 mg.L-1.

Ao comparar os valores de oxigênio dissolvido de acordo com as estações de coleta, foram evidenciadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos (p = 0,01), com maiores valores para a estação seca e sem correlação com os demais parâmetros analisados.

Valores de Condutividade

Os valores de condutividade variaram entre 81,1 µS e 118,2 µS, com média de 98,7 µS na estação chuvosa, e de 100,5 µS a 145,8 µS, com média de 122,7 µS na estação seca. A Resolução CONAMA nº 357/2005 não estabelece valores limites para o parâmetro, contudo a CETESB (2011) considera que valores de condutividade acima de 100 µS caracterizam ambientes impactados. O ponto de coleta 2 apresentou valores acima de 100 µS em ambas as estações, 118,2 µS para a estação chuvosa e 145,8 µS para a estação seca, assim como os pontos 3 (109,6 µS e 144,7 µS, respectivamente) e 4 (106,5 µS e 117,8 µS, respectivamente). Os pontos 5 e 6 apresentaram valores acima de 100 µS somente na estação seca (104,6 µS e 100,5 µS, respectivamente).

Ao compararmos os valores de condutividade de acordo com as estações de coleta, não foram evidenciadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p = 0,09$). Não houve correlação estatisticamente significante com os demais parâmetros estudados.

Valores de Turbidez

Os valores de turbidez variaram entre 18,5 FTU e 43,6 FTU, com média de 30,8 FTU na estação chuvosa, e 2,3 FTU e 23,2 FTU, com média de 11,1 FTU na estação seca. Esses resultados encontram-se dentro do limite estabelecido pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos d'água de classe 2, estipulado como < 100 FTU.

Ao compararmos os valores de turbidez, de acordo com as estações de coleta, foram evidenciadas diferenças estatísticas significantes ($p = 0,004$), com valores

maiores na estação chuvosa. A correlação foi negativa (r= -0,81) e significativa (p = 0,05) entre os valores de turbidez e de pH.

5.3. Bacia do Rio Sapucaí/Mirim

Concentrações dos metais Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb e Zn

Os resultados para a concentração dos metais Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zinco nos 4 pontos da Bacia do Rio Sapucaí/Mirim nas estações chuvosa e seca são apresentados na Tabela 15 e 16, respectivamente.

O metal Hg apresentou valores de concentração abaixo do limite de detecção (<LD), para ambas as estações

As concentrações dos metais Cd, Pb, Cr e Zn, nas águas do Rio Sapucaí/Mirim se encontram abaixo dos valores máximos permissíveis pela legislação para águas de classe 2, para ambas as estações seca e chuvosa.

As concentrações de Cu excederam os valores máximos permitidos para os pontos 1, 2 e 3 na estação chuvosa (39,0 $\mu g.L^{-1}$, 18,0 $\mu g.L^{-1}$ e 10,0 $\mu g.L^{-1}$ respectivamente). O mesmo para o Mn no ponto 2 da estação chuvosa (366,55 $\mu g.L^{-1}$).

O metal Cd apresentou diferença estatisticamente significante ($p < 0,03$) quando comparado entre as épocas de coleta. Apresentando maior concentração na estação seca.

Tabela 15 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Sapucaí/Mirim na estação chuvosa (coleta realizada em janeiro de 2014).

Pontos de coleta	Metais ($\mu g.L^{-1}$)						
	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
1	0,06	0,55	**39,00**	1,07	33,14	<LD	1,25
2	<LD	0,85	**18,00**	2,13	366,55	<LD	23,20
3	<LD	0,59	**10,00**	0,40	48,65	<LD	5,17
4	0,04	0,45	6,00	0,22	21,57	<LD	2,94
Média	0,03	0,61	**18,25**	0,95	**117,48**	0,00	8,14
DP	0,03	0,17	14,71	0,87	166,42	0,00	10,17
Mediana	0,02	0,57	14,00	0,73	40,90	0,00	4,06
Máxima	0,06	0,85	39,00	2,13	366,55	0,00	23,20
Mínima	0,04	0,45	6,00	0,22	21,57	0,00	1,25
V.M.P	**1,00**	**10,00**	**9,00**	**50,00**	**100,00**	**0,20**	**180,00**

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

Tabela 16 - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficiais do Rio Sapucaí/Mirim na estação seca (coleta realizada em janeiro de 2014).

Pontos de coleta	Metais ($\mu g.L^{-1}$)						
	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
1	0,77	0,11	<LD	1,56	5,02	<LD	2,52
2	0,17	0,14	1,37	2,96	12,97	<LD	18,90
3	0,17	0,42	3,25	1,32	25,38	<LD	3,18
4	0,13	0,76	<LD	0,31	5,37	<LD	2,19
Média	0,31	0,36	1,28	1,54	12,19	0,00	6,70
DP	0,31	0,30	1,42	1,09	9,53	0,00	8,15
Mediana	0,17	0,28	0,81	1,44	9,17	0,00	2,85
Máxima	0,77	0,76	3,25	2,96	25,38	0,00	18,90
Mínima	0,13	0,11	1,37	0,31	5,02	0,00	2,19
V.M.P	**1,00**	**10,00**	**9,00**	**50,00**	**100,00**	**0,20**	**180,00**

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

Resultados Limnológicos

Na Tabela 17 são apresentados os resultados das medidas dos parâmetros limnológicos como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade e turbidez,

para os 4 pontos de coleta de amostras de água do Rio Sapucaí/Mirim, nas estações chuvosa e seca.

Tabela 17 - Valores dos parâmetros limnológicos das amostras de água coletadas do Rio Sapucaí/Mirim nas estações chuvosa e seca (coletas realizadas em janeiro e junho de 2014)

Pontos de coleta	pH		Temperatura (°C)		Oxigênio Dissolvido ($mg.L^{-1}$)		Condutividade (µS)		Turbidez (FTU)	
	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca
1	7,1	6,8	26,3	20,0	8,0	9,0	70,4	75,5	19,7	3,7
2	7,5	6,6	26,2	19,6	10,3	9,8	54,7	78,8	87,0	6,4
3	6,8	6,8	25,5	19,0	8,1	9,1	40,9	40,0	22,3	34,1
4	6,5	6,4	25,5	18,3	8,0	9,6	38,5	33,3	4,2	0,4
Média	7,0	6,7	25,9	19,2	8,6	9,4	51,1	56,9	33,3	11,2
DP	0,4	0,2	0,4	0,7	1,1	0,4	14,7	23,6	36,7	15,5
Máxima	7,5	6,8	26,3	20,0	10,3	9,8	70,4	78,8	87,0	34,1
Mínima	6,5	6,4	25,5	18,3	8,0	9,0	38,5	33,3	4,2	0,4

V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão, NA= não se aplica

Valores de pH

Os valores obtidos de pH variaram entre 6,5 e 7,5, com média de 7,0, na estação chuvosa e de 6,4 a 6,8, com média de 6,7, na estação seca. Esses resultados estão dentro do limite estipulado pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos d'água de classe 2. A faixa de variação admite valores de 6 a 9.

Ao compararmos os resultados de pH com a estação de coleta, não foi constatada diferença significante entre os grupos ($p = 0,21$) e não houve correlação com os demais parâmetros analisados.

Valores de Temperatura

Os valores de temperatura obtidos variaram entre 25,5°C e 26,3°C, com média de 25,9°C na estação chuvosa e de 18,3°C e 20,0°C, com média de 19,2°C, na estação seca.

A comparação dos valores de temperatura de acordo com a estação de coleta revelou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,03$), com maiores médias para a estação chuvosa e não houve correlação com os demais parâmetros analisados.

Valores de Oxigênio Dissolvido

Os valores obtidos para oxigênio dissolvido variaram entre 8,0 $mg.L^{-1}$ e 10,3 $mg.L^{-1}$, com média de 8,6 $mg.L^{-1}$, na estação chuvosa e de 9,0 $mg.L^{-1}$ e 9,8 $mg.L^{-1}$, com média de 9,4 $mg.L^{-1}$ na estação seca. Esses resultados estão dentro do limite estipulado pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos d'água de classe 2, estipulado como > 5 $mg.L^{-1}$.

As comparações dos valores obtidos de acordo com a estação de coleta, não evidenciaram diferença estatística significante ($p = 0,24$) e não houve correlação com os demais parâmetros analisados.

Valores de Condutividade

Os valores de condutividade obtidos variaram entre 38,5 µS e 70,4 µS, com média de 51,1 µS, na estação chuvosa e de 33,3 µS e 78,8 µS, com média de 56,9 µS, na estação seca. A CETESB assume que valores de condutividade acima de 100

µS, indicam região impactada por agentes poluidores. Dessa forma esses resultados encontram-se dentro desse valor estipulado pela CETESB.

Não foi verificada diferença estatística entre os valores de condutividade de acordo com a estação de coleta (p = 0,69) e não houve correlação com os demais parâmetros analisados.

Valores de Turbidez

Os valores obtidos para turbidez variaram entre 4,2 FTU e 87,0 FTU, com média de 33,3 FTU na estação chuvosa e de 0,4 FTU e 34,1 FTU, com média de 11,2 FTU na estação seca. Esses valores se encontram dento do limite estipulado pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos d'água de classe 2, sendo o limite de < 100 FTU. Ao compararmos os valores de turbidez de acordo com a estação de coleta, não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas (p = 0,31) e não houve correlação com os demais parâmetros analisados.

5.4. Aquífero Guarani

Valores de Metais

A análise das amostras de água de abastecimento foi feita como forma de se avaliar indiretamente a água de origem subterrânea, que abastece por completo a cidade de Ribeirão Preto, proveniente do Aquífero Guarani. Devido à sua origem de poços profundos, o DAERP (Departamento de Águas e de Energia de Ribeirão Preto), responsável pela água de abastecimento de Ribeirão Preto, somente faz a adição de

cloro e flúor à água (DAERP, 2014). Dessa forma, é possível inferir que a água que chega às residências mantém fielmente as características da água do aquífero.

Os resultados das concentrações dos metais Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas 18 residências onde foram coletadas as amostras de água estão apresentados na Tabela18.

Os valores das concentrações dos metais em cada ponto de coleta se encontram dentro do limite permissível para potabilidade conformo a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (MS).

Tabela 18. - Concentrações de metais, Cd, Cu, Pb, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas de abastecimento residencial / Aquífero Guarani (coletas realizadas entre maio e agosto de 2014)

Pontos de coleta	Metais ($\mu g.L^{-1}$)						
	Cd	Pb	Cu	Cr	Mn	Hg	Zn
1	0,72	0,15	1,76	2,45	0,03	0,26	29,20
2	0,52	0,32	2,91	2,01	1,15	0,58	51,10
3	<LD	0,48	3,04	2,97	0,42	0,66	11,20
4	<LD	1,59	12,25	2,81	1,65	1,03	6,48
5	<LD	1,88	5,26	1,35	9,57	0,16	6,95
6	<LD	0,86	5,36	1,72	0,20	0,58	4,57
7	<LD	0,01	1,92	1,53	0,55	<LD	27,50
8	<LD	0,41	1,76	1,96	0,19	0,46	10,40
9	<LD	2,19	20,76	1,89	0,57	<LD	17,50
10	<LD	0,45	5,13	1,31	0,47	<LD	11,50
11	<LD	0,33	14,62	1,50	0,24	<LD	15,00
12	<LD	0,83	11,98	1,29	0,45	<LD	4,75
13	<LD	0,95	31,76	1,86	0,23	0,47	7,80
14	<LD	0,88	15,64	1,84	0,18	0,28	<LD
15	<LD	0,89	3,02	9,29	0,08	<LD	<LD
16	<LD	0,46	7,77	4,00	0,45	<LD	<LD
17	0,08	0,01	0,57	2,47	0,19	<LD	37,40
18	0,11	0,27	<LD	0,99	0,24	<LD	43,30
Média	0,08	0,72	8,10	2,40	0,94	0,28	15,82
DP	0,20	0,62	8,37	1,87	2,19	0,31	15,49
Mediana	0,01	0,47	5,20	1,88	0,33	0,21	10,80
Máxima	0,72	2,19	31,76	9,29	9,57	1,03	51,10
Mínima	0,11	0,01	0,57	0,99	0,03	0,16	4,57
V.M.P	**5,0**	**10,0**	**2000,0**	**50,0**	**100,0**	**1,0**	**5000,0**

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

Os resultados de pH nas amostras de água para cada coleta residencial estão descritos na Tabela19.

A portaria do MS 2914/2011 recomenda que o valor do pH do sistema de distribuição seja mantido na faixa de 6,0 a 9,5. A média do valor de pH nos pontos de coleta foi de 5,9, variando de 5,0 a 6,7.

Os pontos 1, 2, 3, 6, 7, 13, 14, 15 e 16 apresentaram valores de pH abaixo do estipulado pela legislação.

Entre os metais analisados, somente o Cr apresentou correlação negativa significativa com o pH das amostras (r = -0,488; p = 0,04).

Tabela 19. Valores do parâmetro limnológicos pH para as amostras de água coleta de água de abastecimento (Aquífero Guarani).

Pontos de coleta	pH
1	5,6
2	5,5
3	5,7
4	6,1
5	6,3
6	5,8
7	5,7
8	6,0
9	6,5
10	6,4
11	6,7
12	6,4
13	5,3
14	5,3
15	5,0
16	5,3
17	6,4
18	6,0
Média	5,9
DP	0,5
Mediana	5,9
Máxima	6,7
Mínima	5,0

D.P.= Desvio Padrão

5.5. Prevalência dos metais segundo as variáveis de exposição na população total

Inicialmente, para a avaliação da prevalência de metais na região de estudo, os resultados foram analisados para a população total de indivíduos, não discriminando pacientes ou controles, no intuito de compreender como a população em questão se comportou em relação às variáveis analisadas de exposição aos metais, tais como: distribuição dos metais Pb, Cu e Zn em relação às variáveis gênero, zona rural ou urbana, cidade de origem, contato com rios, exposição aos metais e pesticidas, tabagismo, etilismo e exposição ocupacional aos metais.

Os dados foram colhidos dos questionários aplicados aos pacientes e controles, na intenção de elucidar os possíveis fatores de exposição aos metais pesados que pudessem estar relacionados à etiopatogênese dos pênfigos.

5.5.1. Metais, gênero e idade

A Tabela 20 ilustra a distribuição das concentrações dos metais Pb, Cu e Zn de acordo com o gênero da população estudada.

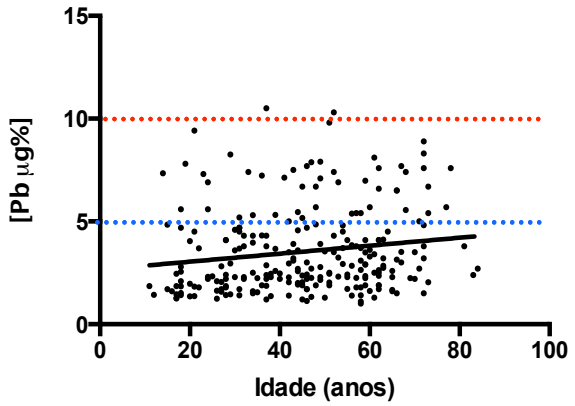
Tabela 20 – Distribuição das concentrações dos metais em amostras da casuística total segundo o gênero.

	Gênero		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Masculino n (%)	Feminino n (%)		
Pb	3,8 ± 2,1 94 (38,1)	3,4 ± 2,0 153 (61,9)	247 (100)	0,18
Cu	94,5 ± 16,9 61 (38,4)	111,9 ± 24,7 98 (61,6)	159 (100)	< 0,001
Zn	82,4 ± 14,8 62 (38,5)	80,8 ± 17,3 99 (61,5)	161 (100)	0,55

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

A distribuição dos valores de Pb em relação ao gênero não apresentou diferença significativa entre os grupos (p = 0,18), sendo que os indivíduos do gênero masculino apresentaram maiores valores de Pb comparados ao gênero feminino (3,8 µg%; 3,4 µg%, respectivamente). O mesmo ocorreu para os valores de Zn entre os gêneros não apresentou diferença significativa (p = 0,55). O oposto aconteceu com o metal Cu, sendo que os indivíduos do gênero feminino apresentaram maiores concentrações de Cu comparados ao gênero masculino (111,9 µg%; 94,5 µg%, respectivamente) (p < 0,001).

Com relação à idade e aos valores dos metais foi evidenciada correlação significativa (p=0,01) e positiva, porém fraca (r= 0,20) para o metal Pb (Figura 17). Os demais metais não apresentaram correlação significativa.



Linha hachurada azul: valor de referência máximo de normalidade praticado em Ribeirão Preto, 5 µg% (Camargo; Manhas 2010). Linha hachurada vermelho : valor de referência segundo OMS. Linha em negrito: regressão linear.

Figura 17 – Correlação entre as concentrações de Pb e a idade na população total da região endêmica dos pênfigos.

5.5.2. Metais e cidades de moradia

Foi feita a comparação quanto à distribuição dos valores de metais segundo as cidades com maior número de indivíduos. A Tabela 21 ilustra essa distribuição.

Tabela 21 – Distribuição das concentrações dos metais em amostras da casuística total segundo a cidade de moradia

	Cidade					Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Batatais n (%)	Franca n (%)	Ribeirão Preto n (%)	São Carlos n (%)	Demais cidade n (%)		
Pb	2,7 ± 1,5	4,3 ± 2,4	3,4 ± 1,8	3,7 ± 2,1	3,6 ± 2,1		0,08
	22 (8,2)	35 (13,1)	63 (23,6)	20 (7,5)	107 (40,1)	267 (100)	
Cu	96,1 ± 22,6	102,9 ± 10,1	106,1 ± 20,3	112,8 ± 39,4	106,2 ± 25,3		0,42
	17 (10,7)	15 (9,4)	51 (32,1)	10 (6,3)	66 (41,5)	159 (100)	
Zn	89,1 ± 13,9	80,3 ± 15,3	76,5 ± 15,2	82,6 ± 22,2	83,3 ± 16,4		0,05
	17 (10,6)	15 (9,3)	51 (31,7)	10 (6,2)	68 (42,2)	161 (100)	

o padrão; n= número de indivíduos

A distribuição dos valores dos metais Pb e Cu nas cidades de Batatais, Franca, Ribeirão Preto, São Carlos e nas demais cidades da região endêmica não evidenciou diferença estatisticamente significante (p = 0,08; p = 0,42, respectivamente).

Em contraposição, a distribuição dos valores de Zn entre as cidades evidenciou diferença significativa, sendo que os valores de Zn em Batatais (89,1 µg%) resultaram em maiores concentrações quando comparados aos de Ribeirão Preto (76,5 µg%) (p = 0,05).

5.5.3. Metais e zona urbana/rural

Foi levada em consideração a localidade da moradia dos indivíduos no momento da manifestação da doença, e dos controles no momento das coletas de

sangue, sendo caracterizados em zona rural ou urbana. Os resultados estão ilustrados na Tabela 22.

Tabela 22 - Distribuição das concentrações de metais das amostras da casuística total, segundo a localização da moradia (zona rural ou urbana).

	Zona		Total	*p*
Média ± DP (µg%)	Rural n (%)	Urbana n (%)	n (%)	
Pb	4,0 ± 2,5	3,5 ± 2,0		0,3
	17 (7,2)	219 (92,8)	236 (100)	
Cu	94,3 ± 21,6	105,5 ± 24,0		0,17
	9 (5,9)	144 (94,1)	153 (100)	
Zn	85,2 ± 22,6	81,4 ± 16,0		0,51
	9 (5,8)	146 (94,8)	154 (100)	

o padrão; n= número de indivíduos

Embora, maior número de indivíduos resida em centros urbanos em relação à zona rural, não foram evidenciadas diferenças estatísticas para Pb (p = 0,3), Cu (p = 0,17) ou Zn (p = 0,51).

5.5.4. Metais e ocupação

Foi levada em consideração a ocupação dos indivíduos no momento da coleta da amostra para os controles, e na ocasião da manifestação da doença para os pacientes. Foram caracterizados como exposição ocupacional: trabalhador rural, construtor civil, trabalhadores da indústria do calçado, carpinteiros, funileiros, pintor, pedreiro, frentista de posto de gasolina, tratorista e jardineiros. A exposição não ocupacional foi identificada para: donas de casa, estudantes, inativos e aposentados. Os resultados estão ilustrados na Tabela 23.

A distribuição dos valores dos metais em relação à exposição ocupacional apresentou diferenças significativas (p=0,05) para o Pb, sendo os valores para os grupos de indivíduos expostos ocupacionalmente maior (3,9 µg%) que os não expostos (3,3 µg%). Cerca de 25% (15/59) dos indivíduos expostos ocupacionalmente apresentam Pb acima do VR, contra apenas 17% dos indivíduos não expostos.

Tabela 23 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo a ocupação.

	Exposição ocupacional a metais		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,9 ± 2,2	3,3 ± 2,0		0,05
	59 (26,0)	168 (74,0)	227 (100)	
Cu	100,5 ± 20,0	106,2 ± 25,1		0,17
	32 (21,3)	118 (78,7)	150 (100)	
Zn	80,5 ± 15,9	81,4 ± 16,2		0,76
	33 (21,7)	119 (78,3)	152 (100)	

o padrão; n= número de indivíduos

5.5.5. Metais e contato com rios

Foi levada em consideração o contato que os pacientes tiveram com rios ou lagos no período antecedendo a manifestação dos pênfigos, enquanto para os controles foi questionado quanto ao contato no momento da coleta ou anterior à mesma. Os resultados estão ilustrados na Tabela 24.

A distribuição dos valores de metais Pb, Cu e Zn para os indivíduos que tiveram contato ou não com rios não evidenciou diferença estatística (p = 0,79; p = 0,94 e p = 0,54, respectivamente.

Tabela 24 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo o contato com rios

	Contato com Rios		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,6 ± 2,0	3,5 ± 2,1		0,79
	115 (50,9)	111 (49,1)	226 (100)	
Cu	105,1 ± 24,6	105,3 ± 24,6		0,94
	76 (51,4)	72 (48,6)	148 (100)	
Zn	82,2 ± 12,1	80,6 ± 19,4		0,54
	78 (52,0)	72 (48,0)	150 (100)	

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

5.5.6. Metais e tabagismo

Foi levado em consideração se pacientes e controles eram tabagistas no período da manifestação dos pênfigos ou anterior a esse, enquanto controles foram questionados quanto ao hábito de fumar no momento da coleta ou anterior a mesma. Os resultados dos metais quanto à distribuição de indivíduos tabagistas e não tabagistas estão ilustrados na Tabela 25. A distribuição dos valores de Pb, Cu e Zn metais para indivíduos tabagistas e não tabagistas não identificou diferença estatística significativa (p = 0,75; p = 0,29 e p = 0,53; respectivamente).

Tabela 25 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo tabagismo.

	Tabagismo		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,6 ± 2,1	3,5 ± 2,1		0,75
	36 (15,9)	190 (84,1)	226 (100)	
Cu	100,8 ± 20,8	106,2 ± 24,9		0,29
	27 (18,2)	121 (81,8)	148 (100)	
Zn	79,8 ± 12,1	81,9 ± 16,6		0,53
	27 (18)	123 (82)	150 (100)	

o padrão; n= número de indivíduos;

5.5.7. Metais e etilismo

Levou-se em consideração se os pacientes eram etilistas no período da manifestação do pênfigo ou anteriormente, enquanto aos controles foi questionado quanto ao hábito de beber no momento da coleta ou anteriormente a mesma. Os resultados dos valores dos metais quanto à distribuição de indivíduos etilistas e não etilistas estão ilustrados na Tabela 26.

A distribuição dos valores dos metais Pb, Cu e Zn para indivíduos etilistas e não etilistas não apresentou evidências de diferença estatística significativa (p = 0,33; p = 0,48 e p = 0,37; respectivamente).

Tabela 26 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo etilismo.

	Etilismo		Total	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,3 ± 1,8 52 (23,0)	3,6 ± 2,1 174 (77,0)	226 (100)	0,33
Cu	102,7 ± 22,8 42 (28,4)	105,9 ± 24,9 106 (71,6)	148 (100)	0,48
Zn	79,6 ± 15,9 43 (28,7)	82,2 ± 16,0 107 (71,3)	150 (100)	0,37

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

5.5.8. Metais e pesticidas

Levando em consideração que as principais atividades desenvolvidas dentre as três bacias estudadas estão intimamente ligadas ao setor agrícola, avaliou-se a distribuição dos valores dos metais Pb, Cu e Zn nos grupos de pacientes e controles em relação à exposição prévia aos pesticidas ou no momento da manifestação da

doença (pacientes) ou coleta de sangue (controles). Os resultados estão ilustrados na Tabela 27.

A distribuição dos valores dos metais Pb, Cu e Zn entre os grupos de indivíduos que tiveram contato ou não com pesticidas não foi evidenciada diferença significativa (p = 0,36; p = 0,89 e p = 0,85; respectivamente).

Tabela 27 – Distribuição das concentrações de metais nas amostras da casuística total, segundo pesticidas.

	Contato com pesticidas		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,7 ± 2,1	3,5 ± 2,1		0,36
	64 (28,3)	162 (71,7)	226 (100)	
Cu	105,7 ± 21,8	105,0 ± 25,2		0,89
	38 (25,7)	110 (74,3)	148 (100)	
Zn	80,9 ± 22,4	81,6 ± 13,3		0,85
	38 (25,3)	112 (74,7)	150 (100)	

o padrão; n= número de indivíduos

5.5.9. Metais e exposição aos pesticidas de origem ocupacional

Quando considerada a variável exposição aos pesticidas, surgiu o interesse em subdividi-lo no intuito de distinguir se essa exposição foi de origem ocupacional, como descrito anteriormente ou não ocupacional, como uso de pesticidas ou fertilizantes de domésticos para jardinagem ou animais domésticos, ou ainda se o paciente residia próximo às áreas de plantio. Os resultados estão ilustrados na Tabela 28.

A distribuição dos valores de metais Pb, Cu e Zn para o grupo que teve exposição aos pesticidas de origem ocupacional e o grupo que a exposição a pesticida

não foi ocupacional não apresentou evidências de diferença estatística significativa (p = 0,42; p = 0,61 e p = 0,07; respectivamente).

Tabela 28 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos pesticidas de ordem ocupacional.

	Contato Ocupacional com Pesticidas		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	2,7 ± 1,5	3,1 ± 1,8		0,42
	21 (54,8)	18 (45,2)	39 (100)	
Cu	104,6 ± 23,9	108,3 ± 19,5		0,61
	18 (48,6)	19 (51,4)	37 (100)	
Zn	84,5 ± 20,6	77,2 ± 24,5		0,07
	18 (48,6)	19 (51,4)	37 (100)	

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

5.5.10. Metais e a exposição aos metais pesados

Levando em consideração que os comitês de bacias hidrográficas (CBH), definiram as bacias do Rio Pardo, Rio Sapucaí/Mirim e Rio Mogi-Guaçu como bacias em industrialização, houve o interesse em analisar a distribuição dos indivíduos da região endêmica com relação à exposição aos metais pesados. Os resultados estão ilustrados na Tabela 29. A distribuição dos valores dos metais em relação à exposição ocupacional apresentou diferenças significativas (p=0,03) para o Pb, sendo os valores para os grupos de indivíduos expostos aos metais maior (4,2 µg%) que os não expostos (3,3 µg%).

Tabela 29 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos metais pesados.

	Contato com Metais		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	4,2 ± 2,3	3,3 ± 1,9		0,03
	29 (13,2)	191 (86,8)	220 (100)	
Cu	112,6 ± 30,7	104,3 ± 23,4		0,20
	16 (10,8)	132 (89,2)	148 (100)	
Zn	77,7 ± 12,6	81,9 ± 16,3		0,30
	16 (10,7)	132 (89,3)	150 (100)	

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

5.5.11. Metais e exposição aos metais de origem ocupacional

Assim como com a variável exposição aos pesticidas, quando considerada a variável exposição aos metais surgiu o interesse em subdividi-la no intuito de distinguir se essa exposição foi de origem ocupacional. Os resultados estão ilustrados na Tabela 30.

A distribuição dos valores dos metais Pb e Cu entre os indivíduos que tiveram ou não exposição aos metais de origem ocupacional da região endêmica não evidenciou diferença estatisticamente significante (p = 0,50; p = 0,19, respectivamente).

Em contraposição, a distribuição dos valores de Zn entre os indivíduos evidenciou diferença significativa (p = 0,04), sendo que os valores de Zn entre os indivíduos que tiverem contato ocupacional aos metais (81,5 µg%) tiveram resultados maiores quando comparados aos indivíduos que não tiveram contato ocupacional (64,9 µg%).

Tabela 30 – Distribuição de chumbo, cobre e zinco na população da região endêmica em relação à exposição aos metais de origem ocupacional.

	Contato Ocupacional com Metais		Total n (%)	*p*
Média ± DP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)		
Pb	3,1 ± 1,9	1,9 ± 0,3		0,5
	10 (71,4)	4 (28,6)	14 (100)	
Cu	115,4 ± 28,9	95,4 ± 32,1		0,19
	11 (73,3)	4 (26,7)	15 (100)	
Zn	81,5 ± 11,4	64,9 ± 8,9		0,04
	11 (73,3)	4 (26,7)	15 (100)	

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

5.6. Prevalência de metais entre pênfigos e controles

Foram analisadas as distribuições dos metais Pb, Cu e Zn entre pacientes com PV, PF e controles da região nordeste (NE) do estado de São Paulo, na tentativa de identificar a prevalência de concentrações entre os grupos. Os resultados estão dispostos nas Tabelas 29-31.

5.6.1. Chumbo

A Tabela 31 ilustra a distribuição de Pb para os pacientes de PV, PF e seus controles.

Tabela 31 – Distribuição de chumbo entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica.

	Grupos			Total	p
Média ± DP (µg%) n	PV	PF	CONTROLES		
Pb	4,1 ± 2,3 56	3,7 ± 2,2 61	3,3 ± 1,9 130	247	0,05

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliaceo, n= número de indivíduos, DP= desvio padrão

Os valores de Pb apresentaram diferença significativa entre os grupos (p = 0,05), segundo o teste de Bonferroni, o grupo PV apresentou maiores valores de Pb em relação ao grupo controle (4,1 µg%, 3,3 µg%, respectivamente) (0,05). (Figura 18).

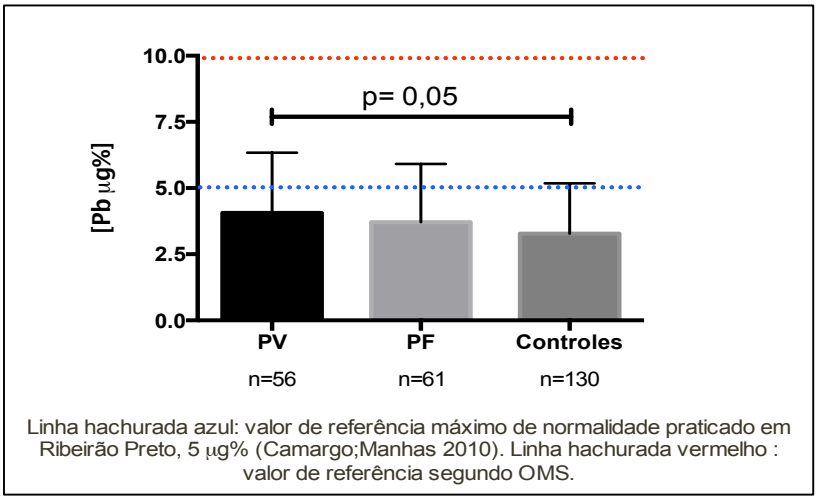


Figura 18 – Distribuição das concentrações de chumbo em sangue total nos grupos de pacientes e controles da região endêmica.

5.6.2. Cobre

A Tabela 32 ilustra a distribuição de Cu para os pacientes de PV, PF e seus controles da região de estudo.

Tabela 32 – Distribuição de cobre entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica.

Média ± DP (µg%) n	Grupos			Total	p
	PV	PF	CONTROLES		
Cu	104,2 ± 19,5	103,5 ± 21,0	106,0 ± 25,6		0,85
	32	29	98	159	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliaceo, n= número de indivíduos, DP= desvio padrão

Embora os valores das concentrações de Cu tenham sido maiores para o grupo controle, não foi evidenciada diferença estatística significante entre os grupos (p = 0,89) (Figura 19).

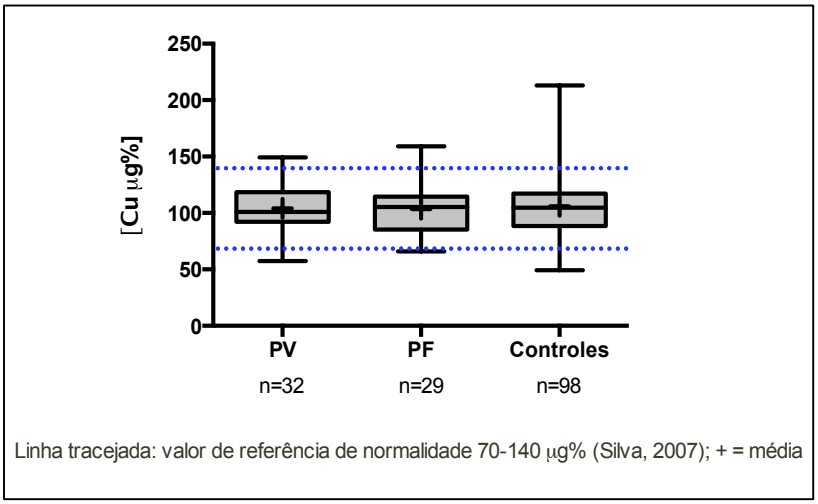


Figura 19 – Distribuição das concentrações de cobre sérico nos grupos de pacientes e controles da região endêmica.

5.6.3. Zinco

A Tabela 33 ilustra a distribuição de Zn para os pacientes de PV, PF e seus controles da região de estudo.

Tabela 33 – Distribuição de zinco entre pacientes com pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles na região endêmica.

Média ± DP (µg%) n	Grupos			Total	p
	PV	PF	CONTROLES		
Zn	75,6 ± 12,8	79,7 ± 16,3	83,9 ± 16,9		0,04
	32	30	99	161	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliaceo, n= número de indivíduos, DP= desvio padrão

A distribuição dos valores das concentrações de Zn entre os grupos evidenciou diferença estatística (p = 0,04) e o teste de Bonferroni definiu a diferença estatística entre os grupos PV e controles (75,6 µg%, 83,9 µg%, respectivamente) (p = 0,03). A Figura 20 ilustra a distribuição das concentrações por grupos.

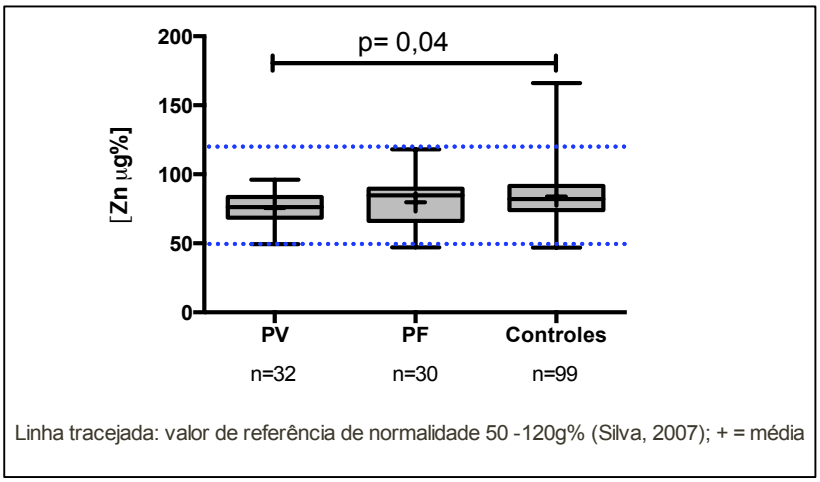


Figura 20 – Distribuição das concentrações de zinco sérico nos grupos de pacientes e controles da região endêmica.

5.7. Análise da prevalência de metais entre os grupos pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e controles.

Com a análise dos questionários foram elaborados perfis de exposição aos metais pela população de pacientes com PV e PF da região endêmica para pênfigos

no Brasil, bem como os controles, tidos com indivíduos saudáveis da região endêmica. As análises de associação entre as variáveis estão ilustradas nas Tabelas de 32-45.

5.7.1. Pênfigos e gênero

A Tabela 34 ilustra a distribuição dos grupos de PV, PF e controles de acordo com os gêneros masculino e feminino.

Tabela 34. Distribuição dos grupos PV, PF e Controles de acordo com o gênero.

	Gênero		Total n (%)	*p*
Grupos	**Masculino n (%)**	**Feminino n (%)**		
PV	20 (35,7)	36 (64,3)	56 (100)	0,77
PF	26 (41,9)	36 (58,1)	62 (100)	
Controles	51 (37,8)	84 (62,2)	135 (100)	
Total	97 (38,3)	156 (61,7)	253 (100)	

DP= desvio padrão; n= número de indivíduos

A relação entre gênero e grupos não mostrou diferença estatística significativa (p = 0,77).

5.7.2. Pênfigos e cidades de moradia

A Tabela 35 ilustra a distribuição dos grupos PV, PF e controles de acordo com as cidades com maior número de casos de pênfigos.

Tabela 35 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo as cidades com maiores números de casos.

GRUPOS	CIDADE					Total n (%)	*p*
	Ribeirão Preto n (%)	Franca n (%)	Batatais n (%)	São Carlos n (%)	Demais Cidades n (%)		
PV	15 26,80%	7 12,50%	2 3,60%	4 7,10%	28 50,0%	56 100%	0,35
PF	11 17,70%	8 12,90%	6 9,70%	4 6,50%	33 53,20%	62 100%	
Controles	37 27,40%	20 14,80%	14 10,40%	15 11,10%	49 36,30%	135 100%	
Total	63 24,90%	35 13,80%	22 8,70%	23 9,10%	110 43,50%	253 100%	

PV= pênfigo vulgar; PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos PV, PF e controles não evidenciou diferença estatística significativa em relação às cidades com maior número de casos (p = 0,35).

5.7.3. Pênfigos e moradia em zona urbana/rural

Foi levada em consideração a localidade da moradia dos pacientes no momento da manifestação da doença, e dos controles no momento das coletas de sangue, sendo caracterizados em zona rural ou urbana. Os resultados estão ilustrados na Tabela 36.

Tabela 36 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo a localização da moradia (zona rural ou urbana).

Grupos	Zona		Total n (%)	*p*
	Urbana n (%)	Rural n (%)		
PV	51 (92,7)	4 (7,3)	55 (100)	0,003
PF	49 (83,1)	10 (16,9)	59 (100)	
Controles	124 (96,9)	4 (3,1)	128 (100)	
Total	224 (92,6)	18 (7,4)	242 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

Foram evidenciadas diferenças estatísticas entre os grupos, com maior número de indivíduos residentes em centros urbanos em relação à zona rural (p = 0,003). A diferença estatística entre os grupos com maior percentual de pacientes com PF residentes em zona rural em relação aos controles (16,9%, 3,1 µg%, respectivamente) (p = 0,002).

5.7.4. Pênfigos e exposição ocupacional

A distribuição dos grupos PV, PF e controles levou em consideração a exposição ocupacional e está ilustrada na Tabela 37.

Tabela 37 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo a exposição ocupacional aos metais

	Exposição Ocupacional a Metais		Total n (%)	*p*
Grupos	**Sim n (%)**	**Não n (%)**		
PV	16 (28,6)	40 (71,4)	56 (100)	0,009
PF	24 (38,7)	38 (61,3)	62 (100)	
Controles	20 (17,7)	93 (82,3)	113 (100)	
Total	60 (26,0)	171 (74,0)	231 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos evidenciou diferença estatística significativa (p < 0,009) em relação a exposição ocupacional aos metais. O percentual de exposição ocupacional é significante superior no grupo PF em relação ao grupo controle (38,7% e 17,7% p= 0,006).

5.7.5. Pênfigos e contato com rios

Foi levada em consideração o contato que os pacientes tiveram com rios ou lagos no período antecedendo a manifestação dos pênfigos, enquanto para os controles foi questionado quanto ao contato no momento da coleta ou anterior à mesma. Os resultados estão ilustrados na Tabela 38.

Tabela 38 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o contato com rio

Grupos	Contato com Rios		Total n (%)	*p*
	Sim n (%)	Não n (%)		
PV	22 (42,3)	30 (57,7)	52 (100)	0,03
PF	38 (65,5)	20 (34,5)	58 (100)	
Controles	58 (47,9)	63 (52,1)	121 (100	
Total	118 (51,1)	113 (48,9)	231 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos evidenciou diferença estatisticamente significativa em relação ao contato com rios (p = 0,03) A diferença percentual é superior para o grupo PF em relação aos grupos PV (65,5% e 42,3%, p= 0,01) e controles (65,5% e 47,9%, p= 0,05).

5.7.6. Pênfigos e tabagismo

Foi avaliada a distribuição dos grupos PV, PF e controles quanto ao tabagismo no período da manifestação da doença ou anterior a esse, enquanto os controles

foram questionados quanto ao tabagismo no momento da coleta ou anterior a esse. A Tabela 39 ilustra essa distribuição.

Tabela 39 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o tabagismo.

Grupos	Tabagismo		Total n (%)	*p*
	Sim n (%)	Não n (%)		
PV	5 (9,4)	48 (90,6)	53 (100)	
PF	13 (22,4)	45 (77,6)	58 (100)	0,18
Controles	19 (15,8)	101 (84,2)	120 (100)	
Total	37 (16,0)	194 (84,0)	231 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos PV, PF e controles entre tabagistas e não tabagistas não identificou diferença estatística significativa (p = 0,18).

5.7.7. Pênfigos e etilismo

Foram analisadas as diferenças entre os grupos PV, PF e controles que consumiam bebidas alcoólicas prévia ou durante a manifestação da doença para pacientes e na época da coleta para controles. A Tabela 40 apresenta essa distribuição.

Tabela 40 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo o etilismo

Grupos	Etilismo		Total n (%)	*p*
	Sim n (%)	Não n (%)		
PV	9 (17,0)	44 (83,0)	53 (100)	
PF	14 (23,7)	45 (76,3)	59 (100)	0,43
Controles	31 (26,1)	88 (73,9)	119 (100)	
Total	54 (100)	177 (76,6)	231 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos em relação aos etilistas e não etilistas não apresentou evidências de diferença estatisticamente significativa (p = 0,43).

5.7.8. Pênfigos e pesticidas

A distribuição dos grupos quanto exposição aos pesticidas, fossem eles de uso agrícola, jardinagem ou controle de parasitas domésticos, foi analisada como forma de avaliar se havia diferença entre os grupos. A Tabela 41 ilustra essa distribuição.

Tabela 41 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos pesticidas.

	Exposição a Pesticidas		Total n (%)	*p*
Grupos	**Sim n (%)**	**Não n (%)**		
PV	19 (36,5)	33 (63,5)	52 (100)	0,01
PF	22 (37,9)	36 (62,1)	58 (100)	
Controles	24 (19,8)	97 (80,2)	121 (100)	
Total	65 (28,1)	166 (71,9)	231 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos evidenciou diferença estatística em relação a indivíduos exposição ou não à pesticidas (p = 0,01). O percentual de exposição é significante superior no grupo PV em relação aos controles (36,5% e 19,8%, p= 0,03), o mesmo para os grupos PF e controles (37,9% e 19,8%, p= 0,05).

5.7.9. Pênfigos e exposição aos pesticidas de origem ocupacional

Foram subdivididos os casos em que a exposição aos pesticidas foi de origem ocupacional ou não, no intuito de verificar diferenças entre os grupos. A Tabela 42 ilustra essa distribuição.

Tabela 42 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos pesticidas de origem ocupacional.

	Exposição Ocupacional a Pesticidas		Total n (%)	*p*
Grupos	**Sim n (%)**	**Não n (%)**		
PV	6 (54,5)	5 (45,5)	11 (100)	0,21
PF	8 (72,7)	3 (27,3)	11 (100)	
Controles	7 (38,9)	11 (61,1)	18 (100)	
Total	21 (52,5)	19 (47,5)	40 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos não evidenciou diferença estatística significativa em relação ao contato ocupacional ou não aos pesticidas (p = 0,21).

5.7.10. Pênfigos e exposição à metais pesados

Foram analisadas as distribuições entre os grupos quanto a exposição aos metais pesados. A Tabela 43 ilustra essas distribuições.

Tabela 43 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos metais.

Grupos	Exposição a Metais		Total n (%)	*p*
	Sim n (%)	Não n (%)		
PV	9 (17,6)	42 (82,4)	51 (100)	0,03
PF	12 (22,6)	41 (77,4)	53 (100)	
Controles	10 (8,3)	111 (91,7)	121 (100)	
Total	31 (13,8)	194 (86,2)	225 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos segundo a exposição ou não aos metais, evidenciou diferença estatística significativa (p = 0,03) O percentual de exposição aos metais é superior no grupo PF em relação aos controles (22,6% e 8,3%, p = 0,03).

5.7.11. Pênfigos e exposição aos metais de origem ocupacional

Foram subdivididos os casos em que a exposição aos metais foi de origem ocupacional ou não, no intuito de verificar diferenças entre os grupos. A Tabela 44 ilustra essa distribuição.

Tabela 44 - Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo à exposição aos metais de origem ocupacional.

Grupos	Exposição Ocupacional a Metais		Total n (%)	*p*
	Sim n (%)	Não n (%)		
PV	4 (100)	0	4 (100)	0,36
PF	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100)	
Controles	5 (83,3)	1 (16,7)	6 (100)	
Total	12 (75,0)	4 (25,0)	16 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo

A distribuição dos grupos não evidenciou diferença estatística significativa em relação a exposição aos metais de origem ocupacional ou não (p = 0,36).

5.8. Distribuição dos metais chumbo, cobre e zinco entre os grupos PV, PF e controles segundo os valores de referencia.

Foram analisadas as distribuições dos metais Pb, Cu e Zn entre os pacientes com pênfigos e controles, visando identificar diferenças entre os grupos quanto aos valores fora da faixa de normalidade para cada metal.

5.8.1. Pênfigos e chumbo de acordo com os valores normativos

Foram analisadas as distribuições das concentrações de chumbo em relação aos valores de referência praticados localmente na região de Ribeirão Preto (5µg%) entre os grupos. A Tabela 45 ilustra essa distribuição.

Tabela 45 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Pb.

	Concentração de Pb		Total n (%)	*p*
Grupos	**Acima de VR n (%)**	**Abaixo de VR n (%)**		
PV	18 (32,1)	38 (67,9)	56 (100)	0,02
PF	14 (23,0)	47 (77,0)	61 (100)	
Controles	19 (14,6)	111 (85,4)	130 (100)	
Total	51 (20,6)	196 (79,4)	247 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo, VR= valor de referência (5µg%)

A distribuição dos grupos evidenciou diferença estatística significativa entre os valores das concentrações de Pb em relação ao valor de referência (VR) (p=0,02) A diferença percentual foi superior para valores acima do VR para o grupo PV em relação ao grupo controle (32,1% e 14,6%, p = 0,02).

5.8.2 Pênfigos e cobre de acordo com os valores normativos

Foram analisadas as distribuições das concentrações de cobre entre os grupos em relação aos valores de referência (70 – 140µg%). A Tabela 46 ilustra essa distribuição.

Tabela 46 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Cu.

	Concentração de Cu			Total n (%)	*p*
Grupos	**Acima de VR n (%)**	**De acordo com VR n (%)**	**Abaixo de VR n (%)**		
PV	2 (6,3)	29 (90,6)	1 (3,1)	32 (100)	
PF	2 (6,9)	26 (89,7)	1 (3,4)	29 (100)	0,99
Controles	7 (7,1)	89 (90,8)	2 (2,0)	98 (100)	
Total	11 (6,9)	144 (90,6)	4 (2,5)	159 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo, VR= valor de referência (70 - 140µg%)

A distribuição dos grupos em relação aos valores de referência de Cu, não evidenciou diferença estatística significativa (p = 0,99).

5.8.3. Pênfigos e zinco de acordo com os valores normativos

Foram analisadas as distribuições das concentrações de zinco entre os grupos em relação aos valores de referência (50 – 120µg%). A Tabela 47 ilustra essa distribuição.

Tabela 47 – Distribuição dos grupos PV, PF e Controles segundo os valores de referência de Zn.

Grupos	Concentração de Zn			Total n (%)	*p*
	Acima de VR n (%)	De acordo com VR n (%)	Abaixo de VR n (%)		
PV	0	30 (93,8)	2 (6,2)	32 (100)	
PF	0	29 (96,7)	1 (3,3)	30 (100)	0,26
Controles	4 (4,0)	94 (94,9)	1 (0,1)	99 (100)	
Total	4 (2,5)	153 (95,0)	4 (2,5)	161 (100)	

PV= pênfigo vulgar, PF= pênfigo foliáceo, VR= valor de referência (50 - 120µg%)

A distribuição dos grupos em relação aos valores de referencia de Zn, não evidenciou diferença estatística significativa (p = 0,26).

5.9. Análise Multivariada

A análise multivariada permite analisar simultaneamente múltiplas variáveis no intuito de predizer o grau de relacionamento entre elas e estipular a relevância entre as variáveis mais significantes para o objetivo da investigação. Nesse sentido foram analisadas as variáveis que influenciaram de forma significativa a concentração dos metais Pb, Cu e Zn na população da região endêmica e as variáveis que influenciaram de forma significativa a prevalência dos metais Pb, Cu e Zn e os grupos PV, PF e Controles.

5.9.1. Análise multivariada da prevalência de metais na casuística total.

Para essa análise foram selecionadas as variáveis que obtiveram $p < 0,05$. O método utilizado foi a análise de covariância multivariada de efeitos principais para Pb e análise de variância multivariada para Zn.

O Cu não foi analisado pois somente a variável “gênero” apresentou diferença significativa, com o gênero feminino apresentando maiores valores de concentração, porém dentro dos valores considerados normais.

Foram discriminados somente os modelos finais da análise multivariada para cada grupo analisado, mostrando assim as variáveis consideradas significativas.

5.9.2 Prevalência de chumbo na região endêmica

Na análise multivariada para chumbo na região endêmica foram consideradas, para o modelo inicial, as variáveis: gênero, exposição ocupacional aos metais e exposição aos metais, pois foram aquelas que apresentaram diferença significativa p < 0,1. O modelo final foi composto pelas variáveis que estatisticamente tiveram influência na exposição a chumbo na população estudada da região endêmica (Tabela 48).

Tabela 48 – Análise multivariada para variações de chumbo em relação a exposição aos metais e idade na região endêmica.

Pb Variáveis	Df	F	*p*
Exposição a Metais	1	4,127	0,04
Idade	1	4,819	0,03

Df= graus de liberdade; F= constante

As variáveis que apresentaram maior influência estatística significante para as concentrações de chumbo na população da região endêmica foram exposição aos metais pesados (p = 0,04) e a idade (p = 0,03) (Tabela 49).

Tabela 49 – Análise multivariada da concentração de chumbo em relação a exposição aos metais.

	Exposição a Metais		*p*
Média ± EP (µg%)	Sim n (%)	Não n (%)	
Pb	4,3 ± 0,4	3,5 ± 0,2	0,04

EP= erro padrão

Houve diferença estatística entre as concentrações de Pb em relação à variável exposição aos metais (p = 0,04). Os indivíduos que tiveram exposição aos metais apresentaram maiores valores de Pb em sangue total (4,3 µg%) em relação aos indivíduos que não tiveram exposição a metal (3,5 µg%).

Houve correlação positiva significativa entre a idade da coleta e a concentração de Pb (p = 0,04).

5.9.3 Prevalência de zinco na região endêmica

Na análise multivariada para zinco na região endêmica, foram consideradas para o modelo inicial as variáveis: cidades e grupos, que consideram as diferenças entre as concentrações de zinco entre os grupos PV, PF e Controles. O modelo final foi composto pelas variáveis que estatisticamente tiveram influência na exposição a zinco na população estudada da região endêmica (Tabela 50).

Tabela 50 – Análise multivariada da concentração de zinco em relação a as variáveis cidades e grupos dos indivíduos da região endêmica

Zn Variáveis	Df	F	*p*
Grupos (PV,PF e Controles)	2	2,42	0,09
Cidades	4	1,141	0,34
Grupos / Cidades	8	1,22	0,29

Df= graus de liberdade; F= constante

Não houve diferença significativa entre as variáveis cidades (p = 0,34) ou na interação entre as duas variáveis (p = 0,29). Já a variável grupo apresentou tendência para o grupo controle apresentar maiores valores de Zn em relação ao grupo PV (83,9 µg% e 75,6 µg%, respectivamente; p = 0,09).

5.9.4. Prevalência de metais entre pênfigos e controles.

Essa análise foi dividida em três etapas: PF versus controles; PV versus controles e PV versus PF. O método utilizado para a análise foi o da regressão logística binária multivariada. Para cada análise foram incluídas no modelo inicial as variáveis que apresentaram diferença significativa ou muito próxima ($p \leq 0,05$) entre os dois grupos em questão, além da variável idade, gênero e exposição aos pesticidas, que foram consideradas clinicamente importantes, portanto inseridas nas análises mesmo quando considerados não significativos em primeira análise ($p \geq 0,05$). Foram discriminados somente os modelos finais da análise multivariada para cada grupo analisado, mostrando assim as variáveis consideradas significativas.

5.9.5. Análise multivariada entre os grupos PF e Controle.

As variáveis que compuseram o modelo inicial foram: Idade, gênero, exposição aos pesticidas, exposição ocupacional, exposição aos metais, contato com rios e zona rural ou urbana. Ao final da avaliação da significância do modelo inicial chegamos ao modelo final (Tabela 51).

Tabela 51 - Modelo final da análise multivariada entre PF e controles em relação a exposição aos metais, exposição ocupacional e zona rural ou urbana.

Variáveis	*p*	Odds Ratio	I.C. 95%
Exposição Ocupacional	0,02	2,6	1,15 - 5,67
Exposição a Metais	0,05	2,7	1,01 - 7,16
Zona Rural/Urbana	0,02	0,08	0,02 - 0,37

I.C.= Intervalo de Confiança

Foram consideradas variáveis que influenciaram de forma significativa na prevalência de metais entre os pacientes de PF e controles: Exposição ocupacional (p = 0,02; Odds = 2,6; I.C.95% = 1,15 – 5,67), exposição aos metais (p = 0,05; Odds = 2,7; I.C.95% = 1,01 – 7,16) e zona rural ou urbana (p = 0,02; Odds = 0,08; I.C.95% = 0,02 – 0,37).

5.9.6. Análise multivariada entre os grupos PV e Controle.

As variáveis que compuseram o modelo inicial foram: Idade, gênero, exposição aos pesticidas, exposição aos metais, concentração de Zn e concentração de Pb em

relação ao VR. O modelo final apresenta as variáveis que influenciaram significativamente na concentração de Zn entre os grupos (Tabela 52).

Tabela 52 - Modelo final da análise multivariada entre PV e controles em relação à idade e concentração de Zn

Variáveis	*p*	Odds Ratio	I.C. 95%
Idade	0,001	1,1	1,02 - 1,08
Concentração de Zn	0,02	0,9	0,93 - 0,99

I.C.= Intervalo de Confiança

Foram consideradas variáveis que influenciaram de forma significativa na prevalência de metais entre os pacientes de PV e controles: Idade (p = 0,06, Odds = 1,02; I.C.95% = 0,999 – 1,05) e concentração de Zn (p = 0,02; Odds = 0,96; I.C.95% = 0,94 – 0,99).

5.9.7. Análise multivariada entre os grupos PV e PF.

As variáveis que compuseram o modelo inicial foram: Idade, gênero, exposição aos pesticidas, exposição aos metais, exposição ocupacional, contato com rios e zona rural ou urbana. O modelo final apresenta as variáveis que influenciaram significativamente a exposição aos metais entre os grupos (Tabela 53).

Tabela 53. Modelo final da análise multivariada entre PV e PF em relação à idade, tempo de doença e contato com rios

Variáveis	*p*	Odds Ratio	I.C. 95%
Idade	0,004	1,04	1,01 - 1,07
Tempo de doença	0,003	0,49	0,31 - 0,79
Contato com Rios	0,07	0,46	0,20 - 1,07

I.C.= Intervalo de Confiança

Foram consideradas variáveis que influenciaram significativamente na prevalência de metais entre os pacientes de PV e PF: Idade (p = 0,004, Odds = 1,04; I.C.95% = 1,01 – 1,07), tempo de doença (p = 0,003; Odds = 0,49; I.C.95% = 0,31 – 0,79) e contato com rios (p =0,07; Odds = 0,46; I.C.95% = 0,20 – 1,07).

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A seguir, faremos a discussão dos resultados quanto à análise das concentrações de metais em amostras de água e em amostras de sangue dos pacientes e controles, e da possível relação entre ambos.

Metais em amostras de água

Para a avaliação da qualidade das águas dos Rios Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim, foram levados em consideração os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 375/2005, órgão responsável pela caracterização dos corpos d'água, segundo o tipo de uso e da definição dos parâmetros de qualidade de água segundo o tipo. A Resolução CONAMA nº 357/2005 e o SigRH classificam os Rios Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim como rios de classe 2.

Na classe 2, estão enquadrados corpos d'água destinados ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme a Resolução CONAMA N° 274/2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais possa vir a ter contato direto; e à aquicultura e à atividade de pesca.

Foi levada em consideração a classificação das bacias em industrialização, porém, com economias centradas no setor agrícola, como a agroindústria alcooleira,

de laranja, pastagem, e na indústria calçadista, com grande contingente populacional, pois estas características podem influenciar a análise dos resultados.

Para a avaliação da qualidade da água de abastecimento da cidade de Ribeirão Preto, foram levados em consideração os padrões estabelecidos pela Portaria do Ministério da Saúde 2914/2011, que dispõe dos padrões de potabilidade e sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano.

A portaria define a água para o consumo humano como água potável destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos, e à higiene pessoal, independentemente da sua origem. A mesma portaria ainda define água potável como a água que atenda ao padrão de potabilidade, e que não ofereça risco à saúde.

Avaliação dos resultados limnológicos

A avaliação dos parâmetros limnológicos em recursos hídricos, é importante para a proteção do meio ambiente e da saúde pública. Essa avaliação dos corpos de superfície pode refletir a carga de poluição e pressão antrópica sobre os sistemas de águas superficiais (ESTEVES, 1998).

Os resultados dos padrões limnológicos do Rio Sapucaí/Mirim apresentaram-se dentro do estabelecido para a sua classe de enquadramento (classe 2), pH entre 6 e 9, OD > 5 mg.L-1, turbidez até 100 FTU e condutividade abaixo de 100 µS (BRASIL, 2005; CETESB, 2011). As temperaturas, em comparação às épocas da coleta, evidenciaram maiores valores na estação chuvosa, com médias de 25 ºC, e valores de 19 ºC para a estação seca. Esses dados eram esperados, uma vez que a estação chuvosa é normalmente caracterizada por temperaturas mais elevadas devido ao

verão, estação do ano predominante nesse período, influenciando assim a variação de temperatura.

Para o Rio Pardo, os parâmetros limnológicos - turbidez, oxigênio dissolvido e condutividade – encontraram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA n°357/2005, para águas de classe 2. Contudo, para os pontos 1 e 2 da estação chuvosa, e 1 e 12 da estação seca, houveram valores de pH abaixo de 6,0, como estipulado pela legislação (BRASIL, 2005). O pH de um corpo d'água exerce grande influência em diversos processos químicos e pode sofrer grande influência sazonal, uma vez que o padrão de chuvas pode levar à diluição dos íons hidrogênio, elevando o pH, enquanto o aumento da temperatura exerce ação contrária. Dessa forma, variações sazonais podem influenciar na dinâmica desse parâmetro ao longo do corpo d'água.

O pH abaixo de 6,0 para o ponto 1 pode ser explicado pela decomposição da matéria orgânica nos locais de coleta, como folhas e restos de animais, que normalmente contribui para a diminuição do pH do corpo d'água, bem como pelas características geológicas da região, uma vez que esse ponto está localizado na nascente do rio, com mata ciliar presente. Já o pH abaixo de 6,0 no ponto 2 pode ter sofrido influência de descargas de esgoto lançados diretamente no rio, provenientes da cidade de Ipuiuna (ALVES, 2014, CETESB, 2011). O pH abaixo de 6,0 do ponto 12 pode ser explicado pelo aumento do aporte de matéria orgânica a ser decomposta, proveniente do encontro dos rios Pardo e Grande, levando à diminuição do pH.

Os parâmetros limnológicos para o Rio Mogi-Guaçu mostraram valores aquém do estipulado pela legislação (BRASIL, 2005). Os valores de oxigênio dissolvido (OD) nos pontos 1 e 5 na estação chuvosa estavam abaixo do estabelecido pela legislação (4,2 mg/L em ambos pontos). Quando considerada a localização dos pontos, o ponto 1 está localizado dentro da cidade de Mogi-Guaçu, portanto, sofre grande pressão

antropogênica, elevando assim o consumo de oxigênio por organismos decompositores. A mesma avaliação foi feita em estudo no córrego Ribeirão Preto, onde valores baixos para OD foram obtidos quando o curso do córrego passava dentro da região urbana (ALVES, 2009), corroborando com o resultado do presente estudo. O ponto 5 está localizado à jusante de uma usina de processamento de cana-de-açúcar, que, por sua vez, pode influenciar na qualidade do corpo d'água pelo aporte de efluentes provenientes do processamento da cana, que, por processos de degradação oxidativa, podem levar à diminuição na concentração de oxigênio na água (CETESB, 2011, ALVES, 2009).

A condutividade se mostrou acima de 100 µS para os pontos 2, 3 e 4, em ambas as estações, e nos pontos 5 e 6 na estação seca. A condutividade elétrica depende da composição iônica do corpo d'água, temperatura e precipitação, podendo estar ligada à composição das rochas da bacia de drenagem. A condutividade se refere à medida indireta da concentração de poluentes no corpo d'água, fato que explicaria maiores valores de condutividade nos pontos próximos a usinas ou centros urbanos e em fontes difusas próximas a áreas de cultivo. Quanto à influência da localização, o ponto 2 se encontra próximo à Estação de Tratamento de Água da Força Aérea de Pirassununga. Essa mesma localização foi classificada com IAP (índice de qualidade de água para abastecimento público) como "Regular" pela CETESB no Relatório de Situação de Recursos Hídricos 2014 da Bacia do Rio Mogi-Guaçu. Ainda, segundo o relatório da CETESB (2014), houve queda na coleta de efluentes domésticos ao longo da Bacia do Mogi-Guaçu, fato que pode explicar o enquadramento desse corpo d'água como impactado, além de justificar os resultados fora da normalidade do presente estudo.

Em relação ao aquífero Guarani, em 50% dos pontos de coleta de água de abastecimento nas casas dos pacientes, detectou-se valores de pH menores do que

o recomendado pela legislação, e ainda grande variação do pH, entre 5,0 e 6,7. Conceição e col. (2009) avaliaram o pH da água de 31 poços antes do tratamento, na área urbana de Ribeirão Preto, e encontraram valores de pH variando entre 5,3 e 6,6. Essa variação no pH das amostras de água pode influenciar a solubilidade e a corrosão de tubulações metálicas, liberando elementos químicos na água de consumo. Esses valores podem ter sido influenciados pelo tempo de vazão da água no momento da coleta, período do dia em que a coleta foi feita e o tempo de estagnação da mesma no sistema de abastecimento. Na cidade de Ribeirão Preto, em 2012, Grigolleto e col. consideraram essa variação de pH importante, assim como pequenas variações na adição de cloro na água durante o tratamento. Naquele estudo, foi verificado que um incremento relativamente pequeno na acidez da água (pH 5,9) levou à capacidade de lixiviação de Pb até 3 vezes maior, enquanto a diminuição (pH 7,06), provocou desaceleração desse processo.

A metodologia utilizada no presente estudo visou minimizar esses fatores, permitindo aferir de forma mais precisa a real situação do aquífero, portanto, pode-se admitir que as leituras de pH corresponderam à real situação do aquífero na região, estando essas abaixo dos limites estabelecidos pela legislação, o que facilitaria a solubilização de metais ao longo do sistema de abastecimento. Coube no nosso estudo avaliar a relação do pH ácido, encontrado nas amostras de água residenciais, com os resultados dos níveis de metais, que será comentado mais à frente.

Avaliação de metais em águas superficiais

Em relação aos metais, os padrões de qualidade para águas de superfície de classe 2 são estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 357/2005. As bacias hidrográficas da região nordeste do estado de São Paulo, mesmo que essencialmente

de perfil agrícola, são consideradas bacias em industrialização. Portanto, estão sujeitas à contaminação por efluentes industriais, principal fonte de contaminação por metais, além de agrotóxicos. Paralelamente a essa realidade, o aporte de metais pesados nas bacias hidrográficas também está relacionado às características intrínsecas das próprias bacias (ESTEVES, 2009). Grande parte dos municípios da região nordeste do estado de São Paulo tem seu suprimento de água proveniente de mananciais ligados total ou parcialmente a essas bacias. Assim, a poluição das mesmas pode comprometer a qualidade da água de abastecimento da região.

A avaliação das concentrações dos metais em amostras de águas superficiais do Rio Pardo mostrou resultados em conformidade com a legislação nacional, com exceção para o ponto 7 da estação chuvosa, cujos valores de Pb e Cu (12,9 $\mu g.L^{-1}$ e 9,8 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente) estavam acima dos valores previstos na legislação. O ponto 7 se encontra dentro da área urbana de Ribeirão Preto, podendo sofrer influência antrópica devido à atividade industrial próxima à localidade. Um estudo feito na cidade de São Carlos corrobora com os resultados encontrados no presente estudo. Naquela cidade foram encontradas concentrações elevadas de Pb e Cu, além de cobalto (Co), Cr e Cd em regiões tidas como urbano-industrial, com expressiva influência antrópica, principalmente pela presença de usinas e aterros nas proximidades dos rios estudados (WAC, 2011). No mesmo estudo, observou-se maior concentração de Zn na estação seca, que seria decorrente das queimadas da lavoura de cana-de-açúcar. Nesse tipo de cultura é comum o uso de fertilizantes à base de Zn, como o sulfato de zinco. Essa é uma realidade comum também para a Bacia do Rio Pardo, que apresenta agricultura voltada para a plantação de cana-de-açúcar e apresentou concentrações de Zn, mesmo não significantes, mais altas na estação seca.

No presente estudo, houve correlação positiva entre os valores de pH com a concentração de Cu (r = 0,759) e também de Cr (r = 0,585) na estação chuvosa. É de conhecimento que o corpo d'água alcalino favorece a adsorção de metais por complexos insolúveis em água, favorecendo sua deposição (BAIRD, 2002), fato que contradiz os resultados encontrados no presente estudo. Tais resultados podem ser explicados pela influência da sazonalidade. Na estação chuvosa, ocorre o aporte alóctone de material lixiviado para o corpo d'água, bem como a diluição da água do rio (KRUPEK, 2008, 2012), contribuindo para o maior aporte de metal pelo intemperismo das rochas, devido às características geológicas do local e solo agrícolas ricos em fertilizantes à base de Cu. Esse fato ainda explica a elevação do pH devido ao aporte pluvial decorrente da estação chuvosa.

A avaliação de metais nas amostras de água da Bacia do Rio Sapucaí/Mirim apresentou, em sua maioria, valores de metais em conformidade com a legislação nacional, exceto para os metais Cu e Mn na estação chuvosa.

Para os pontos 1, 2 e 3 para a estação chuvosa, o metal Cu apresentou concentrações acima do permissível pela legislação (39,0 $\mu g.L^{-1}$, 18,0 $\mu g.L^{-1}$, 10,0 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente).

A dosagem de Mn apresentou valor maior que o estipulado pela Resolução CONAMA nº 357/2005 na coleta do ponto 2 (366,55 $\mu g.L^{-1}$). A presença do Mn pode estar relacionada a processos naturais de erosão do solo e a reações de oxirredução na interfase água-sedimento, além de pode sofrer lixiviação entrando assim no corpo d'água (ALVES et al., 2014).

A presença de metais pesados no rio Sapucaí/Mirim se deve à fonte poluidora da indústria do couro (AZEVEDO; CHASIN, 2003). É mais comum a presença de Cr em resíduos da indústria do couro, porém, Cd, Pb, Zn e Cr, além de taninos, também fazem parte dos resíduos do curtimento do couro. Os taninos - polifenóis presentes

naturalmente em plantas e em muitos alimentos - podem estar relacionados à manifestação dos pênfigos, por promoverem acantólise *in vitro,* e *cross-linkage* à epiderme de animais (BRENNER, 2011; GOLDBERG, 2001; TUR, 1997a; TUR,1997b). O Cu ainda pode advir de fertilizantes e de pesticidas, atividades mineradoras, fontes industriais e suplementos animais. Segundo o relatório do Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Sapucaí Mirim/Grande (2013), o impacto nos recursos hídricos da região se deve, em primeiro lugar, à suinocultura (pela geração de efluentes), bovinocultura (pela criação) e finalmente pela avicultura. As cidades de Guará, São José da Bela Vista e Restinga apresentam suinocultura de grande e médio porte, que pode ocasionar o aporte de efluentes no rio provindos dessas culturas. Cabe-se dizer que, com exceção de Guará, há ocorrência de pênfigos nas cidades mencionadas. Dados do presente estudo corroboram com o estudo de Ribeiro e col. (2012), que evidenciaram, em dois segmentos do Rio São Francisco - MG, concentrações de Cu acima da legislação, tendo sido atribuídas ao uso desse metal essencial como suplemento alimentar de suínos, existentes na região.

A avaliação de Cd, Pb, Cu, Cr, Mn e Zn no Rio Mogi-Guaçu confirmou valores estipulados pela Resolução CONAMA nº 357/2005, para ambas as estações, com exceção dos valores aumentados de Hg: para o ponto 4 (0,52μg.L^{-1}) e ponto 2 (0,59μg.L^{-1}) na estação chuvosa, e para os pontos 3, 4 e 5 (0,26 μg.L^{-1}; 0,46μg.L^{-1} e 0,65 μg.L^{-1}, respectivamente), na estação seca.

O maior aporte de poluentes para o corpo d'água pode ser associado à maior vazão do rio para o mês de julho, como mostrado pela CETESB (2012), dessa forma favorecendo o arraste de poluentes para o rio. Ainda, de acordo com a CETESB, o Rio Mogi-Guaçu já havia apresentado vários pontos ao longo do rio com médias de concentração de Hg em não conformidade com a legislação, com valores que variaram entre 10 μg.L^{-1} e 50 μg.L^{-1}. Somando-se a esse fato, os dados de mais de 33

pontos monitorados pela CETESB, no ano de 2012, evidenciaram que 15% apresentaram qualidade regular e 6% qualidade ruim. Vale ressaltar que o parâmetro limnológico de condutividade para esses pontos, em ambas as estações, resultou acima de 100 µS, o que caracteriza esses pontos como regiões impactadas. Ainda de acordo com o relatório da CETESB, houve queda na coleta da carga poluidora orgânica de origem doméstica pelos órgãos responsáveis, 44,7% em 2012 para 42,7% em 2013. Ainda, segundo o relatório da CETESB, a queda no tratamento de esgoto doméstico foi responsável por contribuir para a queda na qualidade das águas do rio, além de favorecer o aporte de poluentes para o corpo d'água.

Segundo o Relatório de Situação dos Recursos Hídricos do Rio Mogi-Guaçu de 2013, houve queda da qualidade da água para fins de abastecimento público (IQA) para um dos pontos monitorados, de bom para regular. O ponto em questão se refere ao ponto de coleta 2 do Rio Mogi-Guaçu do presente estudo, onde foram encontradas altas concentrações de Hg na estação chuvosa (0,59 $\mu g.L^{-1}$), e, além disso, no momento da coleta, foi observada, visualmente, a presença de material oleoso na superfície do rio.

Dessa forma, sugere-se que a maior concentração de Hg na água estaria ligada ao aporte por fontes difusas, como lixiviação do solo agrícola na região, fonte atmosférica, bem como de origem de esgoto doméstico ou industrial. De acordo com Silva (2002), no geral, as concentrações de poluentes provindos de pesticidas e de metais pesados tiveram aumento considerável no Rio Mogi-Guaçu, tendo sido atribuídos à intensa atividade agrícola e lançamento de efluentes industriais e urbanos.

A concentração de mercúrio em águas superficiais do rio Xiaxihe na província de Guizhou na China chega a 0,3 $\mu g.L^{-1}$, região onde o rio corta grande parte de uma região industrial (HOVART et al. 2003). Outro estudo no Vietnã apresentou

concentrações de Hg até 45,5 $\mu g.L^{-1}$no delta da região de Mekong. Em ambos os estudos, os respectivos rios são responsáveis pelo abastecimento de água para consumo humano e irrigação da região, além de sofrerem ação antrópica semelhante à do Rio Mogi-Guaçu no Brasil (WILBERS et al., 2014). Salienta-se ainda que, em estudos feitos por Tavares (2003) e Tomazelli (2007), foram encontradas concentrações crescentes de Hg nas águas do Rio Mogi-Guaçu, ainda que muito abaixo dos valores permissíveis contemplados na legislação, entre 5,9 $ng.L^{-1}$ e 8,6 $ng.L^{-1}$. A diferença temporal entre os estudos e os resultados concordantes com o perfil evidenciado no presente estudo acarretam preocupação quanto à poluição da Bacia do Rio Mogi-Guaçu. Ainda assim, a correlação das concentrações dos metais em amostras de água, tanto da coleta dos rios, quanto da coleta residencial, com aquelas no sangue dos indivíduos não pode ser feita, uma vez que as datas de coletas diferiram entre si, não sendo aconselhável, ou factual, qualquer correlação entre as dosagens.

Através da análise das três bacias estudadas e de suas possíveis fontes de contaminação, fica clara a importância de fontes difusas como meios de poluição dos mananciais. Essas fontes difusas, especialmente ligadas à agricultura, têm sido objeto de atenção em muitos países devido à dificuldade de se estabelecer procedimentos de avaliação de impactos ambientais.

Em resumo, é possível destacar que as bacias estudadas não representam risco à saúde da população quanto à contaminação por Cd, Pb, Cr, Mn e Zn. No entanto, Hg na bacia do Mogi-Guaçu, e Cu na Bacia do Sapucaí/Mirim apresentaram valores elevados em mais de um ponto de coleta.

Avaliação de metais em águas de abastecimento

As coletas foram realizadas em 18 residências distribuídas por 15 bairros de Ribeirão Preto. As residências correspondentes às coletas 1, 3 e 7 se localizavam no bairro José Sampaio, assim como os pontos 4, 5 e 10 se localizam no bairro do Ipiranga. No entanto, não é seguro afirmar que esses pontos sejam abastecidos pelos mesmos poços para cada bairro, uma vez que, segundo o DAERP, o abastecimento de água de um bairro pode ser proveniente de diferentes poços na cidade, visto que existem diferentes demandas em períodos distintos. Portanto, o abastecimento residencial de água segue de forma dinâmica e não centrada.

As concentrações de metais não ultrapassaram os valores máximos recomendados pelo Ministério da Saúde, com exceção ao Hg, que apresentou leve aumento para uma das 18 residências (1,03 $\mu g.L^{-1}$), enquanto os pontos 5 e 10, localizados no bairro Ipiranga, apresentaram valores inferiores. No entanto, não é possível inferir que essa alteração comprometa a qualidade da água de abastecimento, pois seu valor está minimamente elevado em relação ao valor máximo permitido para o Hg (1,03 $\mu g.L^{-1}$).

A maioria das concentrações dos metais apresentou grande variação entre seus valores, mesmo estando em concordância com a legislação. Grigoletto e col., em 2012, analisaram as concentrações de Pb e Cu na rede de abastecimento da cidade de Ribeirão Preto. Foram dosados na entrada do encanamento das residências e na torneira da cozinha, além de em 11 poços de abastecimento de água potável. Ainda que todas as concentrações de Cu e Pb apresentaram valores dentro do estipulado pela legislação, houveram variações significativas ($p<0,05$) entre as concentrações desses metais provindos dos poços e daquelas casas analisadas, sendo os valores

mais altos nas amostras de torneiras da cozinha, fato que foi caracterizado pelos autores como contaminação relevante de Cu e Pb durante a distribuição.

O presente estudo não contemplou as águas de poços, porém verificaram-se variações entre os metais das residências analisadas acima de 100% para a maioria dos metais. Portanto, segundo Grigolleto et col., pode-se evidenciar a existência de traços dos metais analisados (Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Hg e Zn) nas águas de abastecimento residencial dos pacientes com pênfigos, porém, com todos os valores considerados dentro dos níveis aceitáveis pela legislação.

Uma possível explicação para a alta variação entre os resultados encontrados em ambos os estudos pode estar relacionada ao processo de fluoração da água e variação de pH, e, consequentemente, no poder de lixiviação de metais, uma vez que o pH mais ácido facilita a solubilização de metais do encanamento. Também, poderia ser explicada pelo tempo de vazão da água no momento da coleta, pelo período do dia em que a coleta foi feita e pelo tempo de estagnação da mesma no sistema de abastecimento. Outro fator importante se deve ao fato que o reservatório que abastece uma mesma residência pode ser alterado de acordo com a demanda ou em caso de manutenção do poço, alterando o percurso percorrido pela água até o consumidor (CONCEIÇÃO, 2009, GRIGOLLETO et al., 2012).

Metais nas amostras de pacientes e controles

Para a discussão dos valores em sangue total de Pb (N = 247), foram levados em consideração os valores de referência estipulados pela Norma Regulamentadora nº7, bem como os citados no estudo de Camargo e Manhas (2010). Para a discussão dos valores séricos de Cu (N = 159) e de Zn (N = 161), foram levados em consideração os valores de referência estipulados pela OMS (WHO, 1995) e Santos (2007).

Metais na população total do estudo

A caracterização da população total do estudo teve o intuito de compreender a dinâmica da relação da exposição aos metais em abrangência regional. Para tal, foram analisadas as concentrações séricas dos metais Pb, Cu e Zn em amostras de 253 indivíduos (118 pacientes com pênfigo e 135 controles). Os 118 pacientes manifestaram o pênfigo em cidades da região nordeste do estado de São Paulo, assim como os 135 controles eram provenientes de cidades da mesma região. Considerando a dificuldade para efetuar a coleta de material biológico para dosagem de Hg, esse metal não foi determinado em pacientes e controles. A determinação da exposição ao Hg é feita pela dosagem do metal na primeira urina do dia e o encaminhamento do material até o laboratório para dosagem do metal, não devendo ultrapassar 2 horas desde a coleta, considerando a volatilidade desse metal na urina.

Em primeira análise, as variáveis relacionadas à exposição ocupacional, à idade e à exposição aos metais apresentaram diferença significativa para o Pb em sangue total na população. Cerca de 46% dos indivíduos do gênero masculino foram expostos ocupacionalmente aos metais, contra 13% da população feminina, ficando assim evidente o papel da exposição ocupacional como possível fator determinante da exposição ao Pb entre os gêneros.

Além disso, cerca de 45% das profissões com risco de exposição ocupacional a metais, estão relacionadas ao meio rural, enquanto 55%, à região urbana. Contudo, a análise estatística multivariada eliminou a influência da exposição ocupacional, embora tenha mantido a relação entre idade e a exposição aos metais, comprovando que os valores elevados de Pb na população de estudo se deram para aqueles

indivíduos que afirmaram ter tido exposição aos metais prévia ou durante a manifestação da doença ou no momento da coleta (4,2 µg% e 3,3 µg%; p=0,03). Desses indivíduos, 45% (13/29) exerciam profissões com risco ocupacional de exposição aos metais. Porém os dados relacionados ao preenchimento do questionário não comtemplam claramente a exposição aos metais de ordem ocupacional. A aplicação dos questionários por mais de um indivíduo em momentos diferentes durante o projeto temático pode ter colaborado para possíveis discrepâncias na forma de preenchimento dos questionários, e, consequentemente, nos resultados. Numerosos estudos abrangem a exposição do homem ao chumbo e suas consequências à saúde, principalmente com a crescente industrialização, a incessante migração para os grandes centros urbanos, o consumo de alimentos industrializados, bebidas alcóolicas, fumo, uso de cosméticos e determinados tipos de medicamentos, entre outros (AZEVEDO, 2003; CAMARGO, MANHAS; 2010). Contudo, grande parte da contaminação por Pb ainda se deve à exposição ocupacional, como na fabricação de ligas metálicas, construção civil, vulcanização para a produção de PVC e outros plásticos, pigmentos, soldas, baterias, borrachas e diversos outros usos (CAPITANI et al. 2009; MOREIRA; MOREIRA, 2004).

Houve correlação direta entre a idade dos indivíduos e as concentrações de Pb. Esse dado pode ser explicado pelos pacientes com PV terem valores mais altos de Pb e serem mais idosos em relação aos controles (4,3 µg%, 3,5 µg%, respectivamente; p=0,08). Esses dados corroboram com estudos feitos em ratos, quando se constatou acúmulo maior de metais pesados, como o Pb, em animais mais velhos (maiores que 9 meses). Outro estudo em humanos mostrou acúmulo de Pb no dente de indivíduos entre 14 e 60 anos, destacando o acúmulo maior do metal na faixa etária entre 51 e 60 anos (BERCOVITZ; LAUFER, 1991; BLAGOJEVIC et al. 2012).

Esses estudos ainda fazem menção à mobilização óssea como fonte endógena para Pb.

A respeito da concentração do Zn sérico, embora dentro dos valores de referência, houve diferença significativa, com maiores valores, para os indivíduos expostos ocupacionalmente aos metais para o grupo PV, e para a cidade de Batatais.

Indivíduos residentes na cidade de Batatais, quando comparados à cidade de Ribeirão Preto, apresentaram maiores valores de Zn (89,1 µg%; 76,5 µg%, $p = 0,05$). A cidade de Batatais situa-se cerca de 40 km da cidade de Ribeirão Preto, e sua população corresponde a 9% da população de Ribeirão Preto. Por encontrar-se em região onde predomina o setor sucroalcooleiro, apresenta economia voltada ao setor terciário e à manutenção das usinas sucroalcooleiras, contato com três usinas, além de receber cana-de-açúcar de pelo menos outros três municípios (SPDR, 2012). Segundo Peron (2006), em estudo feito com a fuligem da cana-de-açúcar na região de Araraquara, foi verificada a presença de metais como Mn, Zn, titânio (Ti) e sódio (Na), além de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), em material particulado proveniente da queima da cana, conferindo, portanto, grau mutagênico a esse material. Nesse panorama, é possível inferir que a influência da presença de usinas e a plantação de cana-de-açúcar podem influenciar no grau de contaminação por metais por via aérea (difusa), incluindo o Zn, na referida região. No entanto, vale ressaltar que esses valores se encontram dentro da faixa de normalidade para o Zn sérico. A região nordeste do estado de São Paulo tem importante representatividade no setor sucroalcooleiro nacional, portanto indaga-se se os resultados, segundo Peron, podem ser extrapolados para toda a região nordeste do estado.

A análise multivariada, porém, eliminou a influência da exposição ocupacional e da cidade, não sendo confirmada interação significante dessas variáveis com o Zn

sérico populacional, talvez pelo número reduzido do tamanho amostral de indivíduos nos grupos analisados.

Contudo, foi observada a tendência para o grupo PV apresentar menores valores de Zn em relação ao grupo controle (75,6 µg%, 83,9 µg%, respectivamente, p=0,09). Em resumo, a concentração de Zn está diminuída no grupo PV, provavelmente a deficiência de Zn poderia agravar o PV.

Para o Cu, embora dentro dos valores normais, houve diferença quanto ao gênero. O gênero feminino apresentou maiores valores em relação ao masculino (111,9 µg%; 94,5 µg%, $p < 0,0001$). Em relação ao gênero, as mulheres podem apresentar concentrações mais elevadas de Cu sérico do que os homens, quando em uso de dispositivos intrauterinos, que liberam doses controladas de Cu como método contraceptivo. Esta diferença nas concentrações de Cu é ainda mais exacerbada em mulheres em tratamento com estrógenos. No entanto, especula-se que a necessidade de cobre entre homens e mulheres não seja similar, uma vez que hormônios femininos podem alterar a captação de Cu, além de ter sido descrito que mulheres possuem maiores concentrações de ceruloplasmina circulante – responsável pela captação e transporte de Cu sérico – que o homem, podendo absorver maiores quantidades do micronutriente proveniente da dieta (AZEVEDO, 2003; JHONSON et al.,1992).

Em resumo, a população pode estar exposta ocupacionalmente aos Zn e Pb. O acúmulo do Pb é influenciado pela idade do indivíduo, e, do Zn, possivelmente relacionado à geografia – influenciada pela atividade do setor sucroalcooleiro.

Metais em pacientes comparados aos controles da região endêmica

A análise dos metais foi realizada em amostras de sangue de 253 indivíduos [118 pacientes com pênfigo (56 PV e 62 PF) e 135 controles (82 familiares e 53 vizinhos)]. Em relação ao gênero, 64% do grupo PV, 58% do grupo PF e 62,2% dos controles eram mulheres. Pacientes com PV são mais idosos, comparados aos do grupo PF. Esses dados corroboram com estudos epidemiológicos anteriores no Brasil e na América do Sul (CHIOSSI, ROSELINO, 2001; ABRÉU-VELEZ et al., 2010). Em análise de série histórica de 21 anos, com 266 casos de pênfigo da mesma região endêmica do presente estudo, mostrou diminuição da idade mínima para PV, além de evidenciar o aumento na incidência de PV na região endêmica (GONÇALVES et al., 2011).

Em relação ao tempo de doença, foi inferior no grupo PV, em relação ao grupo PF. Pacientes com PV apresentaram menor tempo de doença (entre 1 a 5 anos) em relação ao grupo PF, que apresentaram maior número de indivíduos com tempo de doença maior que 10 anos. Esses achados corroboram com os estudos epidemiológicos citados, e ainda levam a inferir que pacientes com PV tenham manifestação da doença mais tardia, comparados aos pacientes com PF, levando o início do tratamento em idade avançada, portanto o tempo de doença em pacientes com PF é maior, pois manifestam a doença precocemente.

O interesse em determinar as concentrações de Pb em amostras de pacientes e controles está atrelado à importância desse metal na modulação do sistema imunológico. Metais essenciais, como o Cu e Zn, têm sua importância ligada ao bom funcionamento do sistema imunológico, capazes de regular o estresse oxidativo, já descrito como fator importante na patogênese de doenças autoimunes (AZEVEDO, 2003; ALVES et al., 2014; YAZDANPANAH et al., 2011). Alguns estudos associam a exposição a fatores ambientais, como metais e vapores de metais, com a incidência

de pênfigos, sem, no entanto, propor um mecanismo de ação (TUR, 1997b; BRENNER et al., 2001; ABRÉU-VÉLEZ et al., 2010).

Os pacientes com PF e PV apresentaram maiores valores de Pb comparados aos dos controles, destacando a diferença significativa entre PV e controles [4,1 µg% para pacientes com PV; 3,7 µg% para pacientes com PF; 3,3 µg% para os controles ($p = 0,05$)]. Este achado abre a discussão por qual razão pacientes da região endêmica apresentam níveis elevados de chumbo no sangue e quais seriam suas consequências na manifestação da doença.

Fatores como idade, gênero, etnia, hábitos alimentares, consumo de álcool, tabagismo, *hobbies*, estação do ano, época de amostragem, área residencial, profissão e localização geográfica interferem nos valores em sangue total de Pb (ESTEVES, 2003). Portanto, não é possível estabelecer valores normativos de uso internacional para chumbo. Todavia, foi utilizado o VR de 5 µg%, como critério de informação e direcionamento na interpretação das análises. Faz-se destaque para a porcentagem de pacientes com concentrações de Pb acima do valor de referência (VR) utilizado para a cidade de Ribeirão Preto. Cerca de 32% dos pacientes com PV apresentaram concentrações de Pb acima do VR em relação aos controles (14,6%) ($p = 0,02$).

Ainda que os valores de referências para o Pb tenham que ser estabelecidos para cada região demográfica e população específica, é imprescindível que se tenha em mente que na literatura existem inúmeros estudos que fazem referência a morbidades por Pb em valores abaixo daqueles considerados seguros. Os efeitos biológicos para populações com os mesmos níveis sanguíneos podem não ser os mesmos, desde que diferentes tempos de exposição possam estar envolvidos (CAPITANI et al., 2009; CORDEIRO;LIMA-FILHO, 1995; MOREIRA; MOREIRA, 2004,

PAOLIELLO; CHASIN, 2001). Além disso, é preciso levar em consideração que a população do presente estudo é geneticamente susceptível à manifestação dos pênfigos, sendo necessária a junção desta predisposição genética a um ou mais fatores ambientais, como elevadas concentrações de Pb, a exposição aos pesticidas, entre outros, para o desencadeamento da doença.

Outro fator importante está ligado à correlação entre o Pb e a idade dos pacientes. Infere-se que pacientes com PV tenham sofrido maior exposição ao metal ao longo dos anos, e também sofrerem maior influência de fatores ligados à mobilização óssea do Pb, o que levaria à exposição endógena do metal. Um estudo longitudinal seria o mais aconselhado para averiguar com melhor acurácia os resultados do metal Pb na população estudada, contudo, esse tipo de estudo seria inviável para o escopo do presente projeto.

Entre todos os metais pesados que contaminam o meio ambiente, o chumbo pode causar uma grande gama de consequências biológicas, dependendo do tipo e da duração da exposição. Sua ação no organismo tem sido ligada à resposta imune exacerbada, culminando no aparecimento de alergias, doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico, doença de Alzheimer, esclerose múltipla, e câncer. O Pb também é responsável por alterar a expressão gênica, podendo ser translocado para dentro do núcleo celular (SINGH, 2003; UNITED STATE DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2007). A interação Pb e Ca^{2+} pode se dar por competição, muitas vezes relacionada ao metabolismo mitocondrial (respiração). Assim, levanta-se a hipótese se o Pb poderia interagir ao nível das desmogleínas, uma vez que estas são Ca^{2+} dependentes, de forma similar ao Hg, na formação de epítopos (ROBLEDO, 2012). O Pb também é responsável por provocar o aumento da expressão de moléculas de MHC de classe II e seu reconhecimento por linfócitos Th2, promovendo

o aumento da produção dos autoanticorpos, citocinas envolvidas no processo de acantólise (IL-4 e TNF- α), além de participar no comprometimento do metabolismo mitocondrial ligado ao processo de apoptose celular ligado ao PV (BRENNER, 2001; DIETERT et al. 2003; LAWRENCE, 1981; MCCABE; LAWRENCE, 1990, 1991; MISHRA, 2009; SINGH, 2003).

Portanto, os achados do presente estudo, para maiores concentrações de chumbo em sangue total nos pacientes com PV, comparados aos controles, levam a acreditar que o Pb possa ter influência na etiopatogênese dos pênfigos.

Na análise do metal Cu, embora sem significância estatística, nos grupos PF e PV, as concentrações de Cu sérico resultaram menores, quando comparadas às dos controles. Já para o metal Zn, evidenciou-se menor concentração no grupo PV em relação aos controles.

Em estudos no Iran, foram reportados níveis deficientes de cobre e de zinco em 25 pacientes com PV em relação aos controles. Usualmente, concentrações séricas aumentadas de Cu e diminuídas de Zn são descritas em pacientes com doenças autoimunes, como diabete mellitus e asma (JAVANBAKHT, 2012). Outros estudos chegaram aos mesmos resultados, associando as relações entre Cu e Zn no sangue de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e a outas dermatoses, como é o caso da dermatite atópica, epidermólise bolhosa e acrodermatite esteropática (FEDELES et al., 2010; SALMONOWICZ; KRZYSTEK-KORPACKA; NOCZYŃSKA 2014) e esclerose múltipla (GHAZAVI et al., 2012). A deficiência de Zn está associada à atrofia do timo e a alterações nas funções dos linfócitos-T, à produção exacerbada de citocinas pró inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF-α), além de promover o desequilíbrio entre células Th1 e Th2, com preferência pelo padrão Th2 (MAYWALD; RINK, 2015; WONG, 2015). Já a deficiência de Cu está relacionada ao aumento do estresse

oxidativo, relacionado com a incidência de doenças autoimunes (YAZDANPANAH, 2011). No entanto, é preciso tomar cuidado ao deduzir que a queda desses micronutrientes no sangue periférico estaria associada à manifestação dos pênfigos. Em ambos os estudos sobre pênfigos e os micronutrientes Cu e Zn, os autores chamam a atenção para o fato de que dependendo da gravidade das úlceras orais nos pacientes com PV, pode haver deficiência desses elementos pela falta de ingestão em proporções ideais, e ainda pela perda por exsudação das lesões ativas na pele. Dessa forma, é válido destacar que mesmo não tendo relação clara de causa e efeito, a deficiência de micronutrientes, como o Cu e o Zn, podem agravar o quadro dos pênfigos (JAVANBAKHT, 2012). Ainda, a deficiência do Zn é um assunto abordado no processo de envelhecimento natural e na sua ação no sistema imune (CABRERA, 2015). Nesse panorama os autores defendem que o processo de envelhecimento natural acarreta níveis deficitários de Zn, principalmente em idosos, comumente ligados a fatores como má alimentação e altos níveis de metalotioninas - moléculas responsáveis pelo controle de Zn celular -, que estariam vinculados com a alteração das funções do timo e queda da renovação celular pela medula óssea, alterando assim o comprometimento do sistema imune. Quanto aos efeitos da nutrição no agravamento dos quadros de pênfigos, faz-se destaque para a ingestão de alimentos com alto teor de moléculas com grupamento tiol (-SH) e polifenois, como manga, castanhas de caju, mandioca, alho e cebola, provocando acantólise (BRENNER, 1999; FEDELES et al., 2010).

Os quadros descritos anteriormente estão vinculados à manifestação do quadro dos pênfigos. Em vista disso, o quadro de deficiência nutricional do Zn poderia estar relacionado à manifestação dos pênfigos, ainda, quando considerado o advento da

idade na homeostase do Zn, pode-se deduzir que essa alteração seja mais proeminente em indivíduos com PV.

Variáveis de exposição aos metais nos grupos de pacientes e controles

Assim como na análise das concentrações dos metais e das respostas ao questionário aplicado à população total do estudo, as mesmas análises foram feitas entre as variáveis e os diferentes grupos estudados.

Variáveis contidas nos questionários, como exposição ocupacional, exposição aos metais, contato com rios e residir em zona rural ou urbana se destacaram para os pacientes com PF; enquanto idade, faixa etária e a exposição aos pesticidas se destacaram para os pacientes com PV, apresentando diferenças estatísticas significantes. Ainda para o grupo PV, as concentrações de Pb e Zn foram variáveis com diferença estatística significante, quando comparadas aos controles.

O percentual de exposição ocupacional aos metais foi maior no grupo PF em relação aos controles (38,7% e 17,7%, respectivamente). Relacionado a essa exposição, 58% (14/24) eram trabalhadores rurais. Esse fato reforça o quadro descrito anteriormente acerca do envolvimento de agrotóxicos e a manifestação dos pênfigos. Ainda, os pacientes com PF apresentavam maior percentual de indivíduos expostos aos metais em relação aos controles (22% e 8,3%). Contudo, essa exposição não apresentou relação com a exposição ocupacional ($p = 0,36$), sendo os resultados insuficientes para relacionar a exposição aos metais como provável exposição ocupacional. Vale ressaltar que a variável exposição aos metais tinha como foco

identificar a exposição a metal que não fosse de ordem ocupacional, porém, o preenchimento desses dados não foi suficientemente claro para que uma relação fosse estabelecida.

Com relação à exposição aos pesticidas, verificou-se que, para ambos os grupos PF e PV, a frequência à essa exposição foi maior quando comparada à dos controles (37,9%, 36,5% e 19,8%, respectivamente). Diversos pesticidas, fertilizantes e aditivos agrícolas são considerados fontes de agentes exógenos, metais, entre eles Zn, Cu, Hg, até mesmo Pb e outras substâncias tóxicas, como glifosato. Estudos utilizando questionários, à procura de associações ambientais com os pênfigos, evidenciaram que pacientes com PV estavam três vezes mais expostos aos pesticidas do que indivíduos saudáveis, da mesma forma a exposição a vapores de metais e à pesticidas foi associada ao agravo da doença (BRENNER et al., 2001; MICHAILIDOU, 2007; VALIKHANI, 2007).

Existem estudos que analisaram a classe dos pesticidas organofosforados e sua ligação à prevalência dos pênfigos. Agrotóxicos inorgânicos ou de origem mineral foram largamente utilizados até a década de 50, seus compostos incluíam cloretos de mercúrio, arseniatos de chumbo, de cálcio, de sódio e de alumínio, acetoarsenito de cobre, arsenito de sódio e bário, criolita de selênio. Em estudo sobre o acúmulo de metais pesados provenientes da aplicação de agrotóxicos em plantação de tomate, verificou-se o acúmulo de metais pesados no solo e frutos, principalmente Cu, Zn, Mn e Pb, proveniente da quantidade elevada desses metais nos agroquímicos utilizados (SANTOS et al., 2002). Atualmente o uso de agrotóxicos a base de compostos contendo Pb, como o arseniatos de chumbo, tem seu uso proibido, porém o uso ilegal desses agrotóxicos é um quadro recorrente no Brasil, correspondendo a cerca de 10% do uso total de agrotóxicos (SINDIVEG, 2015).

Vários autores mencionam a relação dos pesticidas ao acometimento de doenças autoimunes, e à exposição de indivíduos e animais acometidos com pênfigo (BRENNER et al., 2001; CORSINI et al., 2013; EATON, 1998; FISHER, 2008; MICHAILIDOU, 2007; OBERKIRCHNER, 2011; ORION, 2000; SILBERGED, 2005; TSANKIV, 2007; TUR, 1997b; WOHL, 2003). Contudo, esses autores não explicam de forma clara a relação causa-efeito entre pesticidas e o pênfigo. Ainda assim, os mecanismos que explicariam o envolvimento dos pesticidas organofosforados na patogênese do pênfigo estariam ligados à capacidade de causarem acúmulo de acetilcolina nos receptores colinérgicos dos queratinócitos por bloquear a degradação da acetilcolina, favorecendo assim o surgimento de lesões acantolíticas (RUOCCO; RUOCCO, 2003). Pesquisas recentes demonstraram que os autoanticorpos contra receptores de acetilcolina são encontrados em 85% dos pacientes com PF e PV (VALIKHANI et al., 2007). A acetilcolina é responsável por regular a expressão intraepitelial de desmogleínas, agir na proliferação e diferenciação de queratinócitos e modular o transporte transmembrana de Ca^{2+}, portanto, a perda da adesão celular pode ter seus primeiros sinais relacionados à produção de autoanticorpos contra esses receptores e, posteriormente, contra as desmogleínas (BARONI, 2007; RUOCCO et al., 2013). Ainda, a exposição crônica a esses compostos pode resultar no desenvolvimento de tolerância a sua toxicidade, levando ao decréscimo (*down-regulation*) da densidade de receptores muscarínicos e nicotínicos no sistema nervoso central e periférico. Se o mesmo ocorrer na pele, pode resultar na redução da adesão celular (BRENNER et al., 2001; RUOCCO; RUOCCO, 2003). Outras possíveis formas de toxicidade relacionada à etiologia dos pênfigos quanto à exposição aos pesticidas está ligada ao seu efeito tóxico direto nos desmossomos, bem com a ativação do sistema imune, especialmente ligados às células Th-2 e suas citocinas, além da geração de autoanticorpos (WOHL; BRENNER, 2003).

O Brasil foi considerado o maior consumidor de agrotóxicos em 2009, ultrapassando a marca de 1 milhão de toneladas, equivalentes a 5,2 kg de veneno agrícola por habitante (IBGE, 2012). Entre eles está o glifosato, sendo o ingrediente ativo mais consumido no Brasil, com 38,5% do total. Paralelo a esse documento, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) (2015), em outro documento, alertou a população para o fato de no Brasil ainda serem utilizados agrotóxicos banidos do mercado internacional, entre eles o glifosato, além de classificá-los como carcinogênicos para humanos, corroborando com outros estudos acerca do assunto (MAÑAS et al., 2009).

Nesse panorama, um estudo feito por Fisher (2008) apresentou o caso de um trabalhador rural exposto a fumos de glifosato, causando, quase que de imediato, irritação na pele, e induzindo à formação de bolhas clinicamente associadas à manifestação do PV. O autor ainda defende a ideia de que a exposição ao glifosato, anterior à exposição aos seus fumos, já havia provocado no paciente a produção de citocinas pró-inflamatórias e a produção basal de anticorpos, e que o contato secundário aos fumos do herbicida desencadeou a resposta imune exacerbada com maior produção de autoanticorpos, fato que culminou no quadro clínico do PV.

Análise multivariada das concentrações de metais entre os grupos estudados

As variáveis que inicialmente apresentaram diferença estatística para os grupos PV, PF e controle foram ajustadas para análise multivariada.

Como se esperava, a variável idade representou fator preponderante para os grupos PV vs. controles e PV vs. PF, isto é, as chances de um paciente geneticamente predisposto a manifestar a forma do PV aumenta em 5% a cada ano que passa, em relação aos controles e 4% ao ano quando comparado ao grupo PF. Esse dado corrobora com estudos epidemiológicos anteriores na região endêmica, que caracterizam a maior incidência de PV é maior em indivíduos com maior faixa etária, enquanto a incidência de PF é maior em indivíduos de menor faixa etária (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2010; CHIOSSI; ROSELINO, 2001; GONÇALVES et al., 2011).

A deficiência de Zn foi considerada variável significante na manifestação de PV em relação aos controles, sendo que as chances de manifestar PV diminuem em 4% quando este apresenta concentrações normais de Zn. O zinco tem importante participação na manutenção do sistema imunológico, sendo sua deficiência descrita em doenças autoimunes como, asma e diabete mellitus. O principal papel que liga a deficiência de zinco ao quadro de PV estaria no poder do combate ao estresse oxidativo e processos inflamatórios (SALMONOWICZ; KRZYSTEK-KORPACKA; NOCZYŃSKA, 2014; YAZDANPANAH et al., 2011). Portanto, é inegável a importância da deficiência de Zn na manutenção do PV.

A exposição ocupacional a metais aumenta em até 2,5 vezes a chance de indivíduos predispostos a manifestar PF em relação aos controles. Além disso, a chance de manifestar o PF aumenta em 2,7 vezes mediante a exposição aos metais, sendo a maioria destes residentes de zona urbana. No entanto, a chance de manifestar a doença diminui em 92,5% para indivíduos residentes na zona urbana.

Dessa forma, fica clara a relação da exposição ocupacional aos metais e a outros agentes exógenos ligados à profissão como fatores importantes na manifestação do PF, além da residência rural - ambos fatores que estariam ligados à atividade rural,

que, possivelmente, se relacionariam à exposição a pesticidas que correspondem a 38% (22/58) das ocupações exercidas por pacientes com PF.

Relação das concentrações dos metais em amostras dos rios com as amostras humanas

Foi evidenciada maior porcentagem de pacientes com PF que mantiveram contato com rios em relação aos pacientes com PV e controles (65,5%, 42,3% e 47,9,4%, respectivamente). Quando comparado ao grupo PV, notou-se a tendência ($p = 0,07$) para o grupo PF em ter mais contato com rios, sendo que ter contato com rio aumenta em 2,8% as chances de os indivíduos manifestarem PF. Fato que é melhor explicado pela residência rural do grupo PF, o que explicaria o maior contato com rios.

Levando em consideração a importância em se manter o monitoramento das águas superficiais da região como forma de se manter a qualidade dos reservatórios, da saúde ambiental e do ser humano, o contato com rios é de grande importância, pois relaciona a exposição dos pacientes e controles a corpos d'água, sendo estes pertencentes, em sua maioria, às bacias monitoradas no presente estudo. No presente estudo, a presença de Hg, mesmo que discretamente, mostrou valores acima do estipulado pela legislação na Bacia do Rio Mogi-Guaçu. Visto que estudos desse metal defendem sua ação como fator ambiental para os pênfigos (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2003; ROBLEDO, 2012), é justificável a preocupação quanto ao papel da contaminação do Rio Mogi-Guaçu por Hg.

Quanto às demais variáveis - localização das residências -, houve maior percentual de pacientes com PF residentes em zonas rurais em relação aos controles

(16,9% e 3,1%), aumentando em até 13,3% a chance de indivíduos geneticamente predispostos residentes em zona rural de terem PF. Destes pacientes da zona rural, 38% apresentavam exposição ocupacional aos metais e 100% já haviam tido contato com rios. Similarmente, pacientes que tiveram contato com rios apresentaram 2,8% mais chance de terem PF. Além disso, pacientes expostos ocupacionalmente aos matais apresentaram 2,5 vezes mais chances de terem PF, sendo 58% trabalhadores rurais.

Esses dados colaboram com o entendimento e caracterização epidemiológica dos pacientes da região. Estudos anteriores já haviam descrito a maior incidência de pacientes com PF moradores em zona rural (ABRÉU-VÉLEZ et al., 2010; CHIOSSI; ROSELINO, 2001; GONÇALVES et al., 2011; VIEIRA, 1942). Além disso, estudos anteriores fazem menção à presença de polifenois (taninos) em rios brasileiros com relação à incidência de PF, uma vez que a substância está naturalmente presente em plantas e vegetais, podendo ser encontrados livres na água dos rios pela decomposição, o que torna a água mais escura (TUR, 1997a). Como já descrito anteriormente, polifenois como o tanino foram demonstrados participarem do processo de acantólise, processo importante na regulação dos pênfigos.

O presente estudo demonstrou que as bacias dos rios Pardo, Mogi-Guaçu e Sapucaí/Mirim podem ser consideradas livres de contaminação por metais pesados, segundo a Norma CONAMA 357/2005, com exceção às concentrações de Cu no Rio Sapucaí/Mirim e Hg no Rio Mogi-Guaçu.

A epidemiologia dos pênfigos no Brasil, ao longo dos anos, destacou quase exclusivamente os casos de PF (fogo selvagem), principalmente na região nordeste do estado de São Paulo. A entrada da doença para o interior do estado se deu pelo movimento de colonização, margeando rios e surgindo dentro de comunidades onde

a agricultura e atividades mineradoras emergiam (DIAZ et al., 1989, ROBLEDO, 2012). O PF é considerado endêmico da região por ser caracterizado pela prevalência em indivíduos jovens, do sexo feminino e maior incidência em regiões rurais (DIAZ, 1989; VIEIRA, 1942). O presente estudo corrobora com esses dados e faz destaque, ainda, à influência de pesticidas e contato com rios. Diversos autores citam a influência da zona rural na epidemiologia do PF, porém nada havia sido descrito para a região endêmica no Brasil quanto à exposição aos pesticidas, tendo em vista descobertas recentes relacionando a ação de autoanticorpos contra receptores colinérgicos dos queratinócitos e a capacidade de pesticidas organofosforados e carbamatos, usados na lavoura, de interagirem com a acetilcolinesterase, impedindo a degradação da acetilcolina, sobrecarregando seus receptores e, portanto, participarem da etiopatogenia dos pênfigos.

Com relação aos rios, os relatos feitos para a região endêmica se restringem a relacionar os rios a criadouros de mosquitos como o *Simulium nigrimanum*, também ligados aos pênfigo, possivelmente pelo mimetismo entre proteínas salivares do mosquito com as desmogleínas humanas, mas não abordando os rios no âmbito da saúde pública e ambiental, como possíveis fontes de substâncias exógenas nocivas possivelmente ligadas aos pênfigos, uma vez que o presente projeto destacou valores acima da legislação para Cu e Hg em bacias da região endêmica para os pênfigos.

A literatura é escassa quando se trata da epidemiologia do PV na região endêmica, porém, dados epidemiológicos de PF na região endêmica afirmam que os casos da doença cessavam quando a região acometida se urbanizava e evoluía tecnologicamente (AOKI, RIVITTI, DIAZ, 2015; DIAZ, 1989; ROBLEDO, 2012). Dessa forma, a urbanização, os avanços tecnológicos e a melhora da higiene pessoal agiram como fatores de proteção para o grupo PF. Sabe-se que a exposição ambiental ao

chumbo aumentou consideravelmente após o processo de industrialização e o aumento da mineração, sendo a maior exposição entre outros elementos da natureza. No mundo todo, calcula-se que cerca de 300 milhões de toneladas de chumbo já foram liberadas no meio ambiente, especialmente nos últimos 500 anos, somando-se a esse fato o aumento significativo do consumo de chumbo pelos países em desenvolvimento entre as décadas de 70 e 90, uma realidade também no Brasil (CAPITANI, 2009; TONG, 2000). Soma-se a esse cenário, a capacidade do chumbo ser armazenado pelos ossos (95% do total em adultos) e ser liberado de forma endógena ao longo da vida por indivíduos que já foram expostos no passado, especialmente nas fases de crescimento (infância), gestação e lactação (grávidas), pós-menopausa e durante o acometimento por certas doenças, podendo ocasionar efeitos tóxicos tardios, acarretando uma via de exposição crônica independente da exposição recente, fato que explicaria os níveis elevados do metal no sangue mesmo sem exposição ambiental recente aparente (MOREIRA; MOREIRA, 2004). No presente estudo, os pacientes com PV apresentaram médias de idade maiores que as dos pacientes com PF e valores de Pb e de VR para Pb – para a região de Ribeirão Preto (5µg%) – elevados em relação aos controles saudáveis da região. Nesse contexto, pode-se inferir que o processo de industrialização, seguido do possível aumento da exposição das populações urbanas ao Pb e a outros metais pesados, em suas diferentes fontes de exposição, esteja ligado à manifestação do PV, em especial em regiões urbanizadas.

Ainda que, no presente estudo, o tabagismo não tenha sido considerado uma variável significante na manifestação dos pênfigos, vale ressaltar que vários estudos na literatura abordam a ação antagônica do cigarro na manutenção dos pênfigos,

entre outras doenças autoimunes como artrite reumatoide e lúpus eritematoso (AFRIDI et al.,2013; ARSON, 2010).

Contudo, muito tem sido especulado sobre a ação protetora da nicotina, presente no cigarro, como fator protetor em doenças como os pênfigos. Estudos recentes discutem a capacidade da nicotina, e de outros agentes chamados colinomiméticos, serem usados como antagonistas competindo com os autoanticorpos contra receptores colinérgicos, dessa forma estimulando o uso de novas terapias não corticosteroide na manutenção dos pênfigos (CHERNYAVSKY, 2015; INGRAM, 2009; GRANDO, 2000). Assim, seria esperado que o número de indivíduos ex-fumantes ou fumantes fosse menor entre os pacientes com pênfigos em relação aos controles, contudo esse fato não foi significativo no presente estudo - cerca de 16% dos indivíduos em ambos os grupos de pacientes e controles, devendo, dessa forma, ser tema de abordagem de futuros projetos.

O presente estudo veio a acrescentar dados relevantes quanto aos fatores ambientais ligados à etiopatogênese dos pênfigos. Esse é o primeiro estudo a relacionar a ação imunotóxica do chumbo com a manifestação do pênfigo vulgar em região endêmica, propor uma nova hipótese de mudança na endemia da doença na região nordeste do estado de São Paulo, ligada a urbanização e exposição a diferentes fatores ambientais. Ainda, os dados encontrados reforçam as características do pênfigo foliáceo ligadas ao meio rural, já bem abordado na literatura, acrescentando as hipóteses de que a exposição ocupacional ligada ao contato com pesticidas e o contato com rios, possíveis fontes de agentes tóxicos, como metais e pesticidas, estariam relacionadas à manifestação da doença na região endêmica.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Na intenção de se estabelecer a relação dos níveis de metais em amostras de água superficial na região nordeste do estado de São Paulo com a etiopatogenia dos pênfigos, foi possível concluir que:

A Bacia do Rio Mogi-Guaçu apresentou evidências limnológicas (turbidez) e toxicológicas (Hg), e o Rio Sapucaí/Mirim apresentou evidências toxicológicas (Cu e Mn) de estarem sofrendo impacto de provável ação humana.

Pacientes com PV apresentam concentrações séricas de Pb acima daquelas do grupo PF e da população controle, e concentrações de Zn abaixo daquelas do grupo controle, sugerindo que o Pb e Zn podem estar relacionados à etiopatogenia dos pênfigos, como possíveis fatores ambientais desencadeadores ou mantenedores.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABRÉU-VÉLEZ, A.M.; WARFVINGE, G.; HERRERA, W.L. et al. Detection of Mercury and other undetermined materials in skin biopsies of endemic pemphigus foliaceus. **American Journal of Dermatopathology**. 2003;25:384-91.

ABRÉU-VÉLEZ, A. M. et al. Endemic pemphigus foliaceus over a century: Part I. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 51–9, 2010.

ALVES, R.I.S et al. Metal concentrations in surface water and sediments from Pardo River, Brazil: Human health risks**. Environmental Research**. 2014;133:149-155.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**. Relatório de atividade 2011 e 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/58a5580041a4f6669e579ede61db78cc/Relat%C3%B3rio+PARA+2011-12+-+30_10_13_1.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 03 ago. 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20°ed. Washington DC: APHA INC. 1015., p. 1085, 2005.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais Gerenciamento da Toxicidade**. Editora Atheneu. São Paulo. 2003. p. 353-394.

_____. **As Bases Toxicológicas da Toxicologia**. Editora Rima. São Carlos. 2003. 340p.

BAIRD, C. Química ambiental. 2 ed. Porto Alegre: **Bookman**; 2002.

BRASIL. (CONAMA) Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n° 357**: Estabelece a classificação das águas e os níveis de qualidade exigidos. 2005. Disponível em: < http://www.mma.gov.br/port/CONAMA/legiabre.cfm?codlegi=459 > . Acesso em: 22/10/2013.

BRENNER, S.; TUR, E. SHAPIRO, J.et. al. Pemphigus vulgaris: environmental factors. Occupational, behavioral, medical, and qualitative food frequency questionnaire. **International Journal of Dermatol**ogy 2001;40:562-9.

CAPITANI, E. M. DE. Fontes de exposição humana exposição ao chumbo no Brasil. v. 42, n. 16, p. 311–318, 2009.

CABRERA, A.J.R. Zinc, aging and immunosenescence: an overview. **Pathobiolof Aging AgeeRlat Dis**.2015.5:25592.

CAMARGO, W. D.; MANHAS, G. L. **Chumbo e Saúde Humana**.2010. 38 f. Monografia (Programa de aprimoramento) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

CHERNYAVSKY,A; CHEN, Y; WANG, P.H.;GRANDO, S.A. Pemphigus vulgaris antibodies target the mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors that protect keratinocytes from apoptolysis. **International Immunopharmacology**, v.21, n.28, 2015. No prelo.

CHIOSSI MPV, ROSELINO AM. Endemic pemphigus (“fogo selvagem”): A series from the Northeastern region of the State of São Paulo, Brazil, 1973-1998. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 2001;43:59–62.

CELERE, M. S.; OLIVEIRA, A.S.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil e sua relevância para saúde publica. **Caderno de Saúde Publica**, v. 23, n. 4, p. 939-947, 2007.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório.** Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo:2007-2009 [recurso eletrônico] -São Paulo: CETESB, 2010.

_____. **Relatório.** Relatório de qualidade das águas subterrâneas do estado de São Paulo:2010-2012 [recurso eletrônico] -São Paulo: CETESB, 2012.

_____. **Água**. Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo - 2011. Disponível em: < http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes-/-relatorios>, Acesso em: 14 fev. 2014.

_____. **Relatório.** Relatório de qualidade das águas superficiais do estado de São Paulo 2012: [recurso eletrônico] -São Paulo: CETESB, 2012.

CONCEIÇÃO, F. T. Hidrogeoquímica do aquífero guarani na área urbana de ribeirão preto (SP). São Paulo. **Geociências**, v.28, n°.1, p. 67-77, 2009.

CORDEIRO, R.; LIMA-FILHO, E. C. DE. A inadequação dos valores dos limites de tolerância biológica para a prevenção da intoxicação profissional pelo chumbo no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 2, p. 177–186, 1995.

CORSINI, E. et.al. Pesticide induced immonotoxicity in humans: a comprehensive review of the exiting evidence. **Toxicology**. 2013.

DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO DE RIBEIRÃO PRETO. **Água**. Disponível em : <http://www.ribeiraopreto.sp.gov.br/daerp/i04agua.php.> Acesso em: 3 out. 2014.

DIAZ, L.A.; SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E.A. et al. - Endemic pemphigus foliaceus (Fogo selvagem). II. Current and historic epidemiologic studies. **J. invest. Derm**., 92: 4-12, 1989.

EATON, D.P.et al. Comparison of Black Fly Species (Diptera: Simuliidae) on an Amerindian Reservation with a high prevalence of Fogo Selvagem to neighboring disease-free sites in state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **J Med Entomol**. 1998;35:120-31.

EMING, R. Et al. Pathogenic IgG antibodies against desmoglein 3 in pemphigus vulgaris are regulated by HLA-DRB1*04:02 – Restricted T cells. **Journal of immunology.** 2014; doi:10.40.49.

EMPRESA BRASILEIRA EM PESQUISA AGROPECUÁRIA. Método detecta agrotóxicos na água e no solo de áreas do Aquífero Guarani. **Embrapa**. Disponível em: < http://www.embrapa.br/>. Acesso em: 10 out. de 2013.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de janeiro: Interciência, 1998, 575 p.

FEDELES, F.et al. Nutrition and bullous skin diseases. **Clinics in Dermatology**.2010;28:627-643.

FERREIRA DA SILVA, M. et al.Characterization of Metal and Trace Element Contents of Particulate Matter (PM10) Emitted by Vehicles Running on Brazilian Fuels Hydrated Ethanol and Gasoline with 22% of Anhydrous Ethanol**. Journal of Toxicology and Environmental Health**. Part A, v. 73, p. 901-909, 2010.

FISHER, K.R. et. Al. Pesticide-associated pemphigus vulgaris. **Cutis**. 2008;82(1):51-4.

GARDNER, R.M. et. Al. Mercury exposure, serum antinuclear / antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: A cross-sectional study. **Environmental Res**. 2010;110:345-54.

GHAZAVI, A. et al. High copper and low zinc serum levels in iranian patients with multiple sclerosis: A case control study. **Clinical Laboratory**, v. 58, n. 1-2, p. 161–164, jan. 2012.

GOLDBERG, I.;SASSON, O., BRENNER, S. A case of phenol-related contact pemphigus. **Letter to Dermatology**, 2001;203:355-356.

GOMES, M.A.F. Uso agrícola das áreas de afloramento do aquífero Guarani no Brasil: implicações para a água subterrânea e propostas de gestão com enfoque agroambiental / editor técnico, Marco Antônio Ferreira Gomes. – Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2008. 417p.:il.

GONÇALVES, G.A.; BRITO, M.M.C.; SALATHIEL, A.M.; FERRAZ, T.S.; ALVEZ, D.; ROSELINO, A.M.F. Incidência do pênfigo vulgar ultrapassa a do pênfigo foliáceo em região endêmica para pênfigo foliáceo: análise de série histórica de 21 anos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 2011; 86 (6):1109-12.

GRANDO, S.A., Autoimmunity to keratinocyte acetylcholine receptors in pemphigus. **Dermatology**. 2000, 201, p 290-295.

HENRY, B.J. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole, 1999. p. 191.

HORVAT, M., et al. 2003. Total mercury, methylmercury, and selenium in mercury polluted a´reas in the province Guizhou, China. **Sci. Total Environ**. 304: 231–256.

INGRAM, J.R., Nicotine: does it have a role in the treatment of skin desease? **Postgraduate Medical Journal**, 2009, 85, 196-201.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores de desenvolvimento sustentável**. Rio de janeiro. 2012. Disponível em < http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/ids/default_2012.shtm>. Acesso em: 10 mac. 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Posicionamento do Instituto Nacional de Câncer Jósé Alencar Gomes da Silva acerca dos agrtóxicos**. Disponível em < http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2015/inca_lanca_documento_e_promove_debate_sobre_maleficios_dos_agrotoxicos>. Acesso em: 10 marc. 2015.

JAVANBAKHT, M. H. et al. Serum selenium, zinc and copper in early diagnosed patients with pemphigus vulgaris.Iran. **Iranian J. Publ. Health**, v.41, n°. 5, p. 105-109. 2012.

JHONSON, P.E. et al. Effecs of age and sex on copper absorption, biological half-life, and status in humans. **Am J Clin Nutr**. 1992;56:917-925.

KRUPEK, R. A.; BRANCO, C. C. Z.; PERES, C. K. Variação sazonal de alguns parâmetros físicos e químicos em três rios pertencentes a uma bacia de drenagem na região centro sul do estado do Paraná, sul do Brasil. **Acta Scientiarum.Biological Science,** Maringá, v.30, n.4, p.431-438, 2008.

KRUPEK, R. A.; BRANCO, C. C. Z.; PERES, C. K. Estudo comparativo de parâmetros limnológicos de duas bacias de drenagem da região Centro-Sul do estado do Paraná, Sul do Brasil. **Ambiêcia,** Guarapauva, v.8, n.3, p.821-831, 2012.

LAWRANCE, D.A: In vivo and in vitro effects of lead on humoral and cell mediated immunity. **Infect Immun** 1981;31:136–143.

LIPPMAN, M. Environmental toxicants: Human exposure and their health effects. 3 ed. New Jersey: **Wiley & Sons**: 2009.

MCCABE, M.J., DIAS, J.A.,LAWRENCE,D.A: Lead influences translational or posttranslational regulation of Ia expres- sion and increases invariant chain expression in mouse B cells. **J Biochem Toxicol** 1991;6:269–276.

MCCABE, M.J., LAWRENCE, D.A: The heavy metal lead exhibits B cell stimulatory activity by enchancing B cell Ia expressiona dn differenciation. **J.Immunol**.145, 671-677.

MACHADO, M. E. ; MENEZES, J. C. S. S. ; COSTA, J.F.C.L. ; SCHNEIDER, I. A. H. . Análise e Avaliação da Distribuição de Metais Pesados em um Antigo Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos Aterro Invernadinha . **Evidência (UNOESC)**, v. 11, p. 69-82, 2011.

MASUTTI, M. B. Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: Uma análise laboratorial e ‘in situ’(Experimentos em micro e mesocosmos). [tese]. São Carlos: FAPESP; 2004.

MAYWALD, M.; RINK, L. Zinc homeostasis and immunosenescence. **Journal of trace Elements in Medicine and Biology**.2015.29:24-30.

MICHAILIDOU,Z. E. et al. Epidemiologic survey of pemphigus vulgaris wit oral manifestations in northen Greece: Retrospective sutdy of 129 patients. Greece. 2007.

MISHRA, K. P. Lead exposure and its impact on immune system: a review, Toxicology in vitro, India, v.23, p. 969-972. 2009.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, n. 1, p. 167–181, 2004.

MOTTS, J. A. et al. Novel biomarkers of mercury-induced autoimune dysfunction: a cross- sectional study in Amazonian Brazil. Environmental Research, p. 12-8. 2014.

OBERKICHNER, U. et al. Metaflumizone-amitraz (Promeris)-associated pustular aconthlolytic demartitis in 22 dogs: evidence suggests contact drug-triggered pemphigus foliaceus. Raleigh. 2011.

PAOLIELLO, M.M.B., CHASIN, A.A.M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Salvador. CRA. 2001:144

PERON, M. C. C. **Avaliação de mutagenecidade, citotoxiciade e expressão de proteinas relacionadas a apoptose, bak, bcl-2 e p53 fosforilado, em células tratadas com fuligem e particulado total de queima de cana-de-açucar.** [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2006.

PRUDENT, M.; DOMEIZEL, C. MASSIANI, Chemical sequential extraction as decision-making tool: application to municipal solid waste and its individual constituents. **Science of Total Environmental,** v. 178, p. 55-61, 1996.

REDE DAS ÁGUAS. Comitê de bacias. Disponível em :< http://www.rededasaguas.org.br/comites-bacias/inicial/>. Acesso em 14 mar. 2014.

ROBLEDO, M.A. Chronic metil Mercury poisoning may trigger endemic pemphigus foliaceus “fogo selvagem”. Colombia, 2012.

RODNEY, R.; DIERT, L.J.; HUSSAIN, I. Piepenbrink M. Development immunotoxicology of lead, Toxicology and Applied Pharmacology , p.86-94, 2004

ROVIRA, J. et al. Human exposure to trace elements through the skin by direct contact with clothing: Risk assessment. **Environmental Research**, v. 140, p. 308–316, 2015.

ROWLEY B, MONESTIER M, Mechanisms of heavy metal-induced autoimmunity. Mol. Immunol. 2005; 42: 833–8.

RUOCCO, V. RUOCCO, E. Phemphigus and environmental factors. G Ital Dermatol Venereol. 2003;138:299-309.

RUOCCO, V. et al. Pemphigus: Etiology, pathogenesis, and inducing or triggering factors: Facts and controversies. Israel. 2013.

SALMONOWICZ, B.; KRZYSTEK-KORPACKA, M.; NOCZYŃSKA, A. Trace Elements, Magnesium, and the Efficacy of Antioxidant Systems in Children with Type 1 Diabetes Mellitus and in Their Siblings. **Adv Clin Exp Med**, v. 23, n. 2, p. 259–268, 2014.

SANTOS , G.C.G. Comportamento de B, Zn, Cu, Mn e Pb em solo contaminado sob cultivo de plantas e adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico [tese]. Piracicaba: 2005.

SANTOS, Elisabete B.; AMANCIO, Olga M. S. and OLIVA, Carlos A.G.. Estado nutricional, ferro, cobre e zinco em escolares de favelas da cidade de São Paulo. Rev. Assoc. Med. Bras. [online]. 2007, vol.53, n.4, pp. 323-328. ISSN 0104-4230.

SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO REGIONAL. **Caracterização Socioeconômica das regiões do Estado de São Pualo – Região Administrativa de Ribeirão Preto -** relatório técnico. Ribeirão Preto: SPDR, 2012. 63 p.

SEGURA-MUÑOZ, S.I. Impacto ambiental na área do aterro sanitário e incinerador de resíduos sólidos de ribeirão preto, sp: avaliação dos níves de metais pesados [tese]. Ribeirão Preto: 2002.

SENO et al. Lupus-like oral mucosal lesions in mercury-induced autoimmune response in Brown Norway rats. BMT Immunology, 14:47, 2013.

SILBERGELD, E.K.;SILVA, I.A.; NYLAND, J.F. Mercury and autoimmunity: implications for occupational and environmental health. Toxicol App Pharmacol. 2005; 207:S282-S292.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL. Disponivel em: <http://www.sindiveg.org.br/news_campanhas_ilegais_ed05a.php>.Acesso em 15 de Jul. 2015.

SINGH, V.K. et al. Immunomodulation by lead. Immunologic research, India, v.28, p.151 -66.2003

SISTEMA DE INFORMÇÕES PARA O GERENCIAMENTO DE RECURSOS HIDRICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO. Comitê da bacia hidrográfica do rio mogi guaçu [internet]. Ribeirão Preto; 2009 [acesso em 14 Abril 2014]. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents/8185/rs_2014-ugri09-vs_final.pdf

_____. Comitê da bacia hidrográfica do rio pardo [internet]. Ribeirão Preto; 2009 [acesso em 2012 Outubro 12]. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/sigrh/ARQS/RELATORIO/CRH/CBH-PARDO/1397/relatorio%20situacao%202009_ugrhi_4_pardo.pdf

SILVA, M. R. C. Estudo de sedimentos da bacia hidrográfica do Mogi-Guaçu, com ênfase na determinação de metais. [dissertação]. São Carlos; 2002

TAVARES, G.A., J.R. FERREIRA, C.E.D. MAGALHÃES, N.C. DA SILVA, and M.H.T. TADDEI. 2003. Mercury in the Moji-Guaçu river basin, S.P- Brazil: The link between marginal lagoons and river contribution, assessed by Pb-210 dating profiles. Ambio 32:47–51

TOMAZELLI, A. C.; MARTINELLI, L. A.; KRUG, F. J.; SANTOS, D.; RUFFINI, I.; BARBOSA de CAMARGO, P.; HORVAT, M. Mercury Distribution in Medium-Size Rivers and Reservoirs of the São Paulo State (Southeast Brazil). Journal of Environmental Quality, v. 36, p. 478-486, 2007.

TONG, S; VON SCHIRNDING, Y.E.; PRAPAMONTOL, T. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. Bull World Health Organ. 2000; 78, 9: 1068-77.

TUR, E.; BRENNER, S. The role of water system as an exogenous factor in pemphigus. **International Journal of Dermatology**, Israel, p. 810-816, 1997a.

_____. Contributing exogenous factors in pemphigus. **International Journal of Dermatology**, Israel, p. 888-893, 1997b.

UNITED STATES DEPARTMET OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Toxicological Profile for Lead**. ATSDR's Toxicological Profiles**. Atlanta; 2007 [acesso em 1 de Julho de 2015]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1201/9781420061888_ch106>.

VALIKHANI, M.; KAVUSI, S.; CHAMS-DAVATCHI, C.et al. Pemphigus and associated environmental factors: a case-control study. Cl Exp Dermatol. 2007;32:256-60.

VIEIRA, J.P. - Pênfigo foliáceo e síndrome de Senear-Uscher. São Paulo, Empresa Gráfica da Revista dos Tribunais, 1942. 17.

VON SPERLING M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2005. 720 p.

WAC, C. et al. Seasonal study of contamination by metal in water and sediment in a sub-basin in the Southeast of Brazil. Brazilian Journal of Biology, Brazil, 2011, vol.71, no. 4, p. 833-843.

WHO. World Health Organization. Geneva. Inorganic Lead. Enviromental Health Criteria 165. International Programme on Chemical Safety. 1995.

WOHL, Y.; BRENNER, S. Pemphigus in Israel – An epidemiologic analysis of cases in search of risk factors. **IMAJ**. 2003;5:410-2.

WOLFF, K; JOHNSON, R.A. **Dermatologia de Fitzpatrick**: Atlas e Texto. 6 ed. Porto Alegre, 2011. 1152 p.

WONG, C.P. et al. Zinc deficieny enhanced inflammatory response by increasing immune cell activation and inducing IL6 promoter demethylation. **Mol Nutr Food Res.** 2015; 5:991-9.

YAZDANPANAH, M.J. Serum zinc and copper status in Iranian patients with pemphigus vulgaris. Iran: 2011

ZEOTI, D.M.; FIGUEIREDO, J.F.C.; CHIOSSI, M.P.V.; ROSELINO, A.M.F. Serum cytokines in patients with Brazilian pemphigus foliaceus (fogo selvagem). Braz J Med Biol Res. 2000;33:1065-8.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A – Ofício de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) DO HC-FMRP-USP.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO
assistência - ensino - pesquisa

Ribeirão Preto, 09 de fevereiro de 2011

Ofício nº 423/2011
CEP/MGV

Prezada Professora,

O trabalho intitulado **"RELAÇÃO DOS FATORES IMUNOGENÉTICOS E AMBIENTAIS NA ETIPATOGÊNESE DOS PÊNFIGOS EM AMOSTRAGEM BRASILEIRA"** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 317ª Reunião Ordinária realizada em 07/02/2011 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido,** de acordo com o Processo HCRP nº 12248/2010.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
PROFª DRª ANA MARIA FERREIRA ROSELINO
Depto. de Clínica Médica – Divisão de Dermatologia

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA – 0000 2733; IRB – 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO B – Termo de Conhecimento Livre e Esclarecido para Guarda de Material Biológico

excelência desde 1956

Termo de Consentimento de guarda de material biológico

O preenchimento e a assinatura deste termo de consentimento têm por objetivo a autorização para guardar a sobra da biópsia de pele ou de mucosa, utilizados para exame histopatológico, e 15mL de sangue coletados do(a) Sr(a) para exames considerados de rotina para auxílio do seu diagnóstico.

Este material será guardado em um freezer no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, identificado por um número, de forma a garantir o sigilo de sua identidade. Esta sobra de biópsia de pele ou de mucosa, e 15mL de sangue guardados poderão ser utilizados para novos exames ou para pesquisas, e o (a) Sr (a) será informado (a) de possíveis resultados adquiridos a partir deste material, e poderá se beneficiar das descobertas que ocorrerem em estudos com o seu material.

Este banco de amostras chama-se Banco de Amostras Biológicas, alocado no Laboratório de Biologia Molecular, no Anexo B, da FMRP-USP, e seu responsável é a Profa. Dra. Ana Maria Ferreira Roselino (tel: 16.3602.2715).

Para a utilização do seu material guardado, será solicitada novamente a sua autorização. Todas as pesquisas serão autorizadas por um Comitê de Ética em Pesquisa e o(a) Sr(a) será comunicado(a) e poderá concordar ou não com o uso do material neste estudo.

Autorizo que as sobras de biópsia de pele ou de mucosa, e 15mL de sangue utilizados nos exames de rotina sejam guardadas para uso futuro, com o meu consentimento.

Nome do paciente ou representante, se menor de idade _____
Dados pessoais: _____ Registro do HC: _____

Endereço completo: _____ Telefone: _____

_____ Assinatura do paciente ou do representante ___/___/___ Data

Eu conversei sobre a guarda de material em banco de amostra com o paciente utilizando uma linguagem adequada e apropriada. Acredito que o informei o suficiente para a tomada de decisão de maneira livre e esclarecida.

_____ Assinatura do médico ___/___/___ Data

NOME, ENDEREÇO E TELEFONE DA RESPONSÁVEL PELO BANCO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS:
PROFA. DRA. ANA MARIA FERREIRA ROSELINO
LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR – ANEXO B - FMRP- USP
AV. BANDEIRANTES 3900
14049-900 – RIBEIRÃO PRETO – SP
TEL: (16)3602-3373

ANEXO C – Modelo do questionário aplicado para obtenção de dados relevantes ao projeto temático, dados relevantes à exposição aos metais.

Registro do Caderno

Amostra — Amostras Relacionadas

Nome do Pesquisador — Data Coleta

Identificação do Paciente
nome
nome
Reg. HC
Data de nascimento — Sexo(circule) F M
Cor(circule) ( )Branco( )Pardo( )Negro( )Indígena
Idade atual(meses) x12
Idade no CN(quando chegou HC) X12
Profissão Atual

Procedência Atual
Endereço(rua e nº)
Bairro
Urbano/Rural
Telefones
Telefone(recados)
Email

Diagnostico		
PF	Generalizado?	Localizado?
PV	mucosa: ( )Oral	( )Genital ( ) Anal
Fez biopsia na investigação?	( )Sim	( )Não

Agora, na coleta da Amostra
tem Nikolsky ( ) Positivo ( ) Negativo
esta tratando pênfigo?(assinale com X)
Pulso Corticoide( ) Dapsona( ) Cloroquina( ) Meticorten( )
Pulso Corticoide e ciclofosfamida( ) ciclofosfamida( )
Outra

Procedência quando pegou pênfigo
Estado
endereço(rua e nº)
Bairro
Urbano/rural
Quantos anos tinha na época? X12
Por quanto tempo morou nessa casa? X12
Trabalhava com o que nessa época? X12

Tem outra doença?		
Hipertensão?	Tempo anos:	X12
Diabetes?	Tempo anos:	X12
Outra	Tempo anos:	X12
Outros medicamento que usa:		

Contato com pesticidas? ( )Sim ( )Não
Qual cidade?
Relacionado a trabalho?
Em relação ao inicio do pênfigo
Quanto tempo antes: anos X12
Quanto tempo depois: anos X12
Há quanto tempo? anos X12

Mora perto de área de rio? ( )Sim ( ) Não
teve contato com rios? ( ) Rio ( ) Cachoeira ( ) Represa
relacionado ao trabalho ( ) Sim ( ) Não
em relação ao inicio do pênfigo ( ) Antes ( ) Depois
Quanto tempo antes: anos X12
Quanto tempo depois: anos X12

Contato com metais pesados? ( )Sim ( )Não
Qual? ( )Cu ( )Pb ( )Hg outros
qual cidade?
relacionado a trabalho?
trabalhava de que?
em relação ao inicio do pênfigo ( ) Antes ( ) Depois
Quanto tempo antes: anos X12
Quanto tempo depois: anos X12
Há quanto tempo? anos X12

Tabagismo
em relação ao inicio do pênfigo ( ) Antes ( ) Depois
quanto tempo antes: anos X12
quanto tempo depois: anos X12
idade de inicio: anos X12
Continua fumando? ( ) Sim ( ) Não

A quanto tempo tem pênfigo?	Anos	x12
A quanto tempo não tem pênfigo?	Anos	x12

Etilismo ( ) Sim ( ) Não
Bebe/bebia o que? ( )Pinga ( )Cerveja ( )Vodka ( )Whisky
outras
em relação ao inicio do pênfigo ( )Antes ( ) Depois
quanto tempo antes: anos X12
quanto tempo depois: anos X12
idade de inicio de bebida? Anos X12
continua bebendo? ( )Sim ( )Não

Tem contato com gado? ( )Sim ( )Não
qual gado?
qual cidade?
Relacionado ao trabalho?
que profissão
em relação ao inicio do pênfigo ( ) Antes ( ) Depois
Quanto tempo antes: anos X12
Quanto tempo depois: anos X12

tem herpes ? ( ) Sim ( ) Não
em relação ao inicio do pênfigo ( ) Antes ( ) Depois
quanto tempo antes: anos X12
quanto tempo depois: anos X12
Idade de inicio da lesão? Anos X12
conhece alguém com herpes ( ) Sim ( )Não
Quem?

No endereço onde você manifestou o pênfigo, algum desses mosquitos era frequente?	1- Aedes, 2-Culex, 3-Simulium, 4- Culicoides, 5- Lutzomyia
Em qual horário há maior prevalência desses mosquitos?	Dia (D), Tarde (T), Noite (N)
Tem notado a presença de algum de mosquitos em lagos, rios, riachos, perto da sua moradia?	Sim (S) Não (N)
Qual mosquito?	1-Aedes, 2-Culex, 3-Simulium, 4-Culicoides, 5-Lutzomyia
Costuma frequentar lugares onde há presença desses mosquitos?	Sim (S) Não (N)
Qual mosquito?	1- Aedes, 2-Culex, 3-Simulium, 4-Culicoides, 5-Lutzomyia
Tem alergia a picada de algum mosquito?	Sim (S) Não (N)

Tem familiares com pênfigo? ( )Sim ( )Não
Parentesco ( )Pais,filhos ( )Irmãos ( )avós ( )1ºgrau tios,primos ( )parentes de 2º ( )outro grau de parentesco genético
Nome
Cidade e Estado
Telefone
Trata no HC?
Trata onde?

conhece alguém com pênfigo? ( )Sim ( )Não
Mora perto de você ( )Sim ( )Não
Mora onde?
Nome
Cidade e Estado
Telefone
Trata no HC?
Trata onde?

Teve dengue? ( )Sim ( )Não
quando(data)?
Confirmada por sorologia?
Qual laboratório?
onde pegou dengue(se for endereço da residência preencher):

Teve Leishmaniose? ( ) Sim ( )Não
Qual forma?
quando(data)?
confirmada por exame?
qual laboratório?
onde adquiriu a leishmaniose?
Rios?
Foi tratado(descrever)?

Assinalar datar,amostras colhidas e rubricar		
1 tubo azul (Pb, Hg) - Lab Tânia		
2 tubos roxos (DNA/HLA) - Neife/Donadi		
1 tubo amarelo (ELISA Dgs, vírus)		
1 tubo verde (metais)Lab. Tânia		
Mecha de cabelo (praguicidas)		

Assinatura do entrevistador: _____

Nome: _____

ANEXO D – Concentração dos metais Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Hg e Zn nas amostras de águas superficial do Rio Pardo entre nas estações chuvosa e seca (coletas realizadas entre setembro de 2010 e setembro de 2012).

Pontos de coleta	Metais (µg.L^{-1})													
	Cd		Pb		Cu		Cr		Mn		Hg		Zn	
	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
1	<LD	<LD	1,17	0,47	1,97	0,94	<LD	<LD	10,19	3,46	<LD	<LD	18,8	0,98
2	<LD	<LD	0,86	0,43	1,19	1,86	<LD	<LD	55,33	43,85	<LD	<LD	5,92	3,79
3	<LD	<LD	0,99	0,37	3,39	0,67	<LD	<LD	27,82	21,84	<LD	<LD	2,5	5,48
4	0,06	<LD	2,02	0,31	2,49	0,84	<LD	<LD	22,99	12,57	<LD	<LD	9,05	3,93
5	0,2	<LD	1,09	0,25	2,83	0,6	<LD	<LD	19,14	6,68	<LD	<LD	2,47	2,48
6	<LD	<LD	2,16	0,24	2,73	0,75	<LD	<LD	17,88	11,56	<LD	<LD	3,39	2,71
7	0,06	<LD	12,9	0,28	9,81	1,6	0,45	<LD	17,07	7,28	<LD	<LD	9,45	0,59
8	<LD	<LD	1,72	0,36	3,18	1,14	<LD	<LD	21,84	13,25	<LD	<LD	5,12	8,47
9	<LD	<LD	0,77	0,4	3,22	1,67	<LD	<LD	15,39	26,45	<LD	<LD	2,03	0,98
10	<LD	<LD	0,79	0,31	4,15	0,97	0,55	<LD	15,17	17,39	<LD	<LD	2,6	3,01
11	<LD	<LD	0,88	0,68	3,7	2,64	<LD	0,99	15,21	50,79	<LD	<LD	0,96	79,86
12	0,1	<LD	2,67	0,37	7,03	1,19	0,74	<LD	15,43	20,56	<LD	<LD	8,33	3,13
Media	0,06	0,00	2,34	0,37	3,81	1,24	0,33	0,31	21,12	19,64	0,00	0,00	5,89	9,62
DP	0,05	0,00	3,39	0,12	2,37	0,60	0,16	0,21	11,70	14,62	0,00	0,00	5,00	22,23
Mediana	0,03	0,00	1,13	0,37	3,20	1,06	0,25	0,25	17,48	15,32	0,00	0,00	4,26	3,07
Máxima	0,20	0,00	12,90	0,68	9,81	2,64	0,74	0,99	55,33	50,79	0,00	0,00	18,80	79,86
Mínima	0,06	0,00	0,77	0,24	1,19	0,60	0,45	0,99	10,19	3,46	0,00	0,00	0,96	0,59
V.M.P	1,00		10,00		9,00		50,00		100,00		0,20		180,00	

<L.D.= menor que limite de detecção, V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão

ANEXO E – Valores dos parâmetros limnológicos das amostras de água coletadas do Rio Pardo entre as estações chuvosa e seca (coleta realizada entre setembro de 2010 e setembro de 2012)

Pontos de coleta	pH		Temperatura (°C)		Oxigênio Dissolvido (mg.L^{-1})		Condutividade (µS)		Turbidez (FTU)	
	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca
1	**4,7**	**5,2**	18,8	18,5	6,4	7,5	14,0	12,8	0,6	0,0
2	**5,4**	6,2	18,5	18,5	6,5	8,1	27,3	27,3	81,0	16,7
3	6,3	6,0	22,5	18,6	5,5	8,6	48,3	43,9	47,1	3,53
4	6,4	5,9	24,1	19,4	6,2	7,9	57,1	48,3	46,7	2,09
5	6,4	6,1	24,7	18,7	7,3	6,3	61,2	52,9	60,0	6,26
6	6,1	6,5	24,6	19	6,1	8,1	59,4	55,5	62,0	6,26
7	6,9	6,8	25,5	18,4	6,4	6,7	55,9	52,5	42,3	5,69
8	6,9	6,6	25,4	18,5	6,2	7,6	61,7	50,8	35,6	10,1
9	6,8	6,3	25,7	18,6	6,7	8,3	59,4	56,1	39,7	7,31
10	7,0	6,4	25,4	18,7	5,8	8,9	56,7	61,6	49,8	9,37
11	6,5	6,4	25,5	18,2	7,2	9,6	55,5	55,8	48,0	7,92
12	6,6	**5,4**	25,7	18,60	5,4	**3,0**	54,0	48,2	46,5	10,4
Média	6,3	6,2	23,9	18,6	6,3	7,6	50,9	47,1	46,6	7,1
DP	0,7	0,5	2,6	0,3	0,6	1,7	14,8	13,8	18,9	4,4
Máxima	7,0	6,8	25,7	19,4	7,3	9,6	61,7	61,6	81,0	16,7
Mínima	4,7	5,2	18,5	18,2	5,4	3,0	14,0	12,8	0,6	0,0
V.M.P	**6,0 - 9,0**		**NA**		**>5 mg.L^{-1}**		**<100 µS**		**<100 FTU**	

V.M.P.= Valor Máximo Permitido, D.P.= Desvio Padrão, NA= não se aplica