MIRELLA TELLES SALGUEIRO BARBONI

**ESTUDO ELETROFISIOLOGICO E PSICOFÍSICO EM INDIVÍDUOS
INTOXICADOS POR VAPOR DE MERCÚRIO**

São Paulo

2007

MIRELLA TELLES SALGUEIRO BARBONI

**ESTUDO ELETROFISIOLÓGICO E PSICOFÍSICO EM INDIVÍDUOS
INTOXICADOS POR VAPOR DE MERCÚRIO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Psicologia, área de concentração: Neurociências e Comportamento. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dora Fix Ventura.

São Paulo

2007

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Serviço de Biblioteca e Documentação
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Barboni, Mirella Telles Salgueiro.

Estudo eletrofisiológico e psicofísico em indivíduos intoxicados por vapor de mercúrio / Mirella Telles Salgueiro Barboni; orientadora Dora Selma Fix Ventura. -- São Paulo, 2007.

142 p.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Eletrofisiologia 2. Psicofísica 3. Neurotoxicologia 4. Intoxicação por mercúrio 5. Campo visual I. Título.

QP341

MIRELLA TELLES SALGUEIRO BARBONI

**ESTUDO ELETROFISIOLÓGICO E PSICOFÍSICO EM INDIVÍDUOS
INTOXICADOS POR VAPOR DE MERCÚRIO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Psicologia, área de concentração Neurociências e Comportamento, para a comissão formada pelos seguintes professores:

Orientadora:

Prof^{fa}. Dr^a. Dora Fix Ventura
Instituto de Psicologia, USP

Examinadores:

Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira
Núcleo de Medicina Tropical e Departamento de Fisiologia, UFPA

Prof. Dr. Augusto Paranhos Junior
Departamento de Oftalmologia, UNIFESP

Dissertação defendida e aprovada em: ____/____/____

*Ao meu pai, que em nossa breve e intensa
convivência, me transmitiu sua paixão pela leitura.*

Agradecimentos

À minha orientadora, por toda sua consideração ao trabalho, pelo esforço contínuo para o meu crescimento como pesquisadora, e pelo exemplo de paixão e dedicação ao trabalho e à ciência. Pela amizade e carinho.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira, pelo esforço em conjunto na realização do trabalho, pelo conhecimento transmitido, e pela amizade. Ao Prof. Dr. Augusto Paranhos Junior, por todo apoio e incentivo e pelas importantíssimas contribuições. À Prof^a. Dr^a. Marcília de Araújo Medrado Faria, pelo trabalho em conjunto e pelo encaminhamento dos pacientes.

Ao Prof. Dr. Marcelo Fernandes da Costa, por sua incansável ajuda e dedicação, pela colaboração fundamental para realização do trabalho e pela grande amizade.

A todos os colegas de laboratório, pela ajuda incansável em todos os momentos. Ao grande amigo Marcos Lago que me inspirou, me apoiou e me incentivou desde o início. A todos os funcionários do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, que tornaram possível a execução do trabalho.

À FAPESP, CAPES, CNPq e FINEP, pelos apoios financeiros. À Universidade de São Paulo. Aos voluntários que participaram da pesquisa e à Associação dos Expostos e Intoxicados por Mercúrio Metálico (AEIMM), pela disponibilidade, colaboração e pelo grande interesse nos resultados.

Aos meus familiares e amigos que compreenderam minha ausência, respeitaram minhas atitudes e confiaram no esforço do meu trabalho. Por todo amor, carinho e incentivo.

Apoio Financeiro

Bolsa de Mestrado FAPESP # 05/57897-6

Projeto Temático FAPESP # 02/12733-8

CNPq # 523303/95-5

CAPES/PROCAD # 0019/01-1

FINEP # 01.06.0842-00

Resumo

BARBONI, M. T. S. Estudo eletrofisiológico e psicofísico em indivíduos intoxicados por vapor de mercúrio. Dissertação de Mestrado. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Objetivo. Avaliar o campo visual em ex-trabalhadores de fábricas de lâmpadas fluorescentes com diagnóstico de mercurialismo metálico crônico ocupacional, através de testes psicofísicos de campimetria computadorizada e registros eletrofisiológicos da retina obtidos através do eletrorretinograma multifocal. **Método.** A avaliação psicofísica do campo visual foi realizada em 35 ex-trabalhadores (idade média = $44,2 \pm 5,9$ anos; 30 homens) no equipamento *Humphrey Field Analyzer II* (modelo 750i) em dois testes: acromático (*standard automated perimetry*) e azul-amarelo (*short wavelength automated perimetry*). O programa *Visual Evoked Response Imaging System* (VERIS™ Science 5.0) permitiu o registro e análise dos sinais eletrofisiológicos da retina através do eletrorretinograma multifocal em 32 ex-trabalhadores (idade média = $44,6 \pm 5,5$ anos; 27 homens) dos 35 que realizaram os testes de campimetria computadorizada. Os resultados foram comparados com um grupo controle para o campo visual ($n = 34$; idade média = $43,3 \pm 8,3$ anos; 21 homens) e com outro grupo controle para o eletrorretinograma multifocal ($n = 21$; idade média = $43,5 \pm 8,9$ anos; 10 homens). **Resultados.** Os exames psicofísicos de campimetria computadorizada mostraram que há redução da sensibilidade visual em regiões centrais até 27° do campo visual. No exame acromático a diminuição da sensibilidade ocorreu, inclusive, na região foveal. O exame azul-amarelo confirmou a redução encontrada no exame acromático para regiões paracentrais até 27° de excentricidade. O eletrorretinograma multifocal apresentou redução nas amplitudes das respostas retinianas em regiões centrais até 25° , sem alteração no tempo implícito das respostas. As regiões paracentrais mostraram redução significativa para os valores de amplitude do primeiro componente negativo (N1) e do primeiro componente positivo (P1). **Discussão.** A redução na sensibilidade visual em diferentes regiões do campo visual, confirma que há prejuízos no sistema visual decorrentes da exposição crônica ao vapor de mercúrio. Nesse caso, não se pode especificar as regiões afetadas, porque a metodologia utilizada não permite isolar estruturas da via visual e, conseqüentemente, não permite localizar as regiões específicas que o mercúrio estaria prejudicando preferencialmente. Os prejuízos causados pela intoxicação ao vapor de mercúrio na retina parecem ser difusos, considerando que a redução de amplitude das respostas de N1 e P1 pode indicar prejuízos em diferentes grupos celulares da retina. Os resultados mostram que parte dos prejuízos de campo visual causados pelo vapor de mercúrio estão relacionados com alterações retinianas. Os resultados estão de acordo com trabalhos preliminares que mostraram alterações visuais que permanecem mesmo anos após o afastamento da fonte de exposição, sugerindo que a intoxicação por vapor de mercúrio pode não ser totalmente reversível. **Conclusão.** Os sujeitos expostos cronicamente ao vapor de mercúrio durante um período de 10 anos (em média) apresentam redução da sensibilidade visual em diferentes regiões do campo visual, mesmo após 7 anos (em média) de afastamento da fonte expositora. Pode haver prejuízos em diferentes regiões da via visual envolvidos nas alterações de campo visual, mas parte desses prejuízos causados pela exposição crônica ocupacional ao vapor de mercúrio possui origem retiniana.

Palavras-chave. Eletrofisiologia, psicofísica, neurotoxicologia, mercúrio, campo visual

Abstract

BARBONI, M. T. S. Electrophysiological and psychophysical study of mercury vapor intoxicated subjects. Master Dissertation. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Purpose. To analyse visual field sensitivity in a group of workers retired from the fluorescent lamp industry diagnosed with chronic occupational metallic mercurialism using psychophysical tests such as automated perimetry and measuring the retina cells' electrical responses with the multifocal electroretinogram. **Methods.** The psychophysical evaluation of the visual field was performed in 35 retired workers (mean age = 44.2 ± 5.9 years; 30 males) using *Humphrey Field Analyzer II* (model 750i) device in two different tests: SAP (*standard automated perimetry*) and SWAP (*short wavelength automated perimetry*). The *Visual Evoked Response Imaging System* (VERISTM Science 5.0) provided us the electrophysiological recordings and analysis of the retina based on measurement data from the multifocal electroretinogram in 32 retired workers (mean age = 44.6 ± 5.5 years; 27 males) that were included in the 35 automated perimetry test subjects. The results were compared with an age-matched control group using the visual field tests ($n = 34$; mean age = 43.3 ± 8.3 years; 21 males) and to another age-matched control group at the multifocal electroretinogram ($n = 21$; mean age = 43.5 ± 8.9 years; 10 males). **Results.** The automated perimetry tests have shown visual sensitivity reductions in the central areas around 27° of eccentricity. In the SAP test sensitivity decrease was found even in the foveal region. The SWAP test results are in agreement with the reduction found around 27° in the SAP test at mid-peripheral areas. The multifocal electroretinogram has shown decreases in amplitude in the retina recordings in the central areas around 25° of eccentricity, but there were no implicit time reductions. The mid-peripheral areas have shown significant reductions in the amplitude values in the first negative component (N1) and in the first positive component (P1) as well. **Discussion.** The visual sensitivity reductions in the different visual field areas confirm the visual damages in patients with long-term mercury vapor exposure. In this case the affected visual pathway sections could not be determined since the applied psychophysical method does not allow us to indicate the specific visual structure principally damaged by the mercury vapor. The damages found in the retina due to mercury vapor intoxication can be considered broadly dispersed, since the reductions in N1 and P1 amplitudes might be the indications of damages in multiple retina cell groups. Our results show that some visual field losses are related to various retinal alterations caused by the mercury vapor. The results are in agreement with preliminary works that showed visual dysfunctions after several years away from the mercury vapor source suggesting that mercury vapor intoxication may not be completely reversible. **Conclusion.** The long-term (10 years in average) mercury vapor exposed workers have shown visual sensitivity reductions in different visual field areas after 7 years (in average) away from the mercury vapor source. In our present study we would like to indicate that visual field reductions cannot only be related to damages in the various sections of the visual pathway, but some of these visual field losses can occur due to retinal alterations caused by chronic mercury vapor exposure.

Keywords. Electrophysiology, psychophysics, neurotoxicology, mercury, visual field

Lista de Figuras

Figura 1. Circuitaria das células retinianas, destacando as conexões entre os fotorreceptores e as células bipolares, e entre as células bipolares e as células ganglionares. Modificada de Rodieck (1998).

Figura 2. Via óptica, destacando as projeções das células retinianas para o córtex visual, iniciando pelo nervo óptico, passando pelo quiasma óptico, onde as fibras da retina nasal decussam, e seguindo pelo tracto óptico em direção ao córtex visual primário. Modificada de Rodieck (1998).

Figura 3. A figura mostra a localização da lesão na via visual e os respectivos defeitos causados no campo visual 1) lesão no nervo óptico do olho direito; 2) lesão no quiasma óptico; 3) lesão no tracto óptico direito; 4) lesão no córtex visual. Modificada de Schwartz (2004).

Figura 4. Densidade espacial (quantidade de células/mm²) da distribuição dos fotorreceptores (cones e bastonetes) em relação a excentricidade na retina humana. Modificada de Rodieck (1980).

Figura 5. Representação das diferentes regiões do campo visual no córtex visual primário. Informações acerca do hemisfério visual direito estão representadas no córtex visual esquerdo (e vice-versa). As células da retina periférica estimuladas pelo campo visual periférico, projetam-se ventralmente em relação as fibras da retina central. Modificada em 19/06/07 de

www.mona.uwi.edu/fpas/courses/physiology/neurophysiology/Vision.htm

Figura 6. Limites aproximados para um campo visual monocular normal.

Figura 7. Ilha de visão para um campo visual monocular normal.

Figura 8. Representação do arranjo de estímulos com 103 elementos hexagonais do eletrorretinograma multifocal.

Figura 9. Onda bifásica que representa os registros de primeira ordem do eletrorretinograma multifocal, mostrando o método padrão recomendado pela ISCEV para as medidas de amplitude e tempo implícito do primeiro componente negativo (N1) e do primeiro componente positivo (P1). Modificada de Marmor et al. (2003).

Figura 10. Representação de ondas bifásicas para os registros com estimulação de 103 hexágonos. É possível observar as variações topográficas e a qualidade dos registros.

Figura 11. Gráfico de densidade de respostas para um sujeito saudável. O pico central representa a contribuição da região foveal da retina para os registros de primeira ordem. Podemos observar a diminuição da densidade de respostas na periferia, e densidade de respostas quase ausentes na região do nervo óptico.

Figura 12. Foto do equipamento utilizado para os exames de campo visual (Humphrey Instruments, San Leandro, USA).

Figura 13. Representação dos 103 elementos hexagonais do arranjo de estimulação utilizado. O número dentro de cada hexágono indica a largura da região retiniana estimulada por cada elemento hexagonal (em graus²). Modificada de Kawabata & dachi-Usami (1997).

Figura 14. Diagrama mostrando os anéis concêntricos para 6 regiões analisados de 0 a 27 graus no campo visual central. Os resultados são representados pela média dos limiares de sensibilidade visual de cada ponto dentro de um dado anel, sendo que o limiar foveal é representado por um único ponto central.

Figura 15. Diagrama mostrando a posição no campo visual para os diferentes quadrantes analisados. Os resultados são representados pela média dos limiares de sensibilidade visual de cada ponto dentro do quadrante. O limiar foveal não foi incluído na análise. O diagrama exemplifica um resultado para o olho direito: 1) quadrante temporal superior; 2) quadrante temporal inferior; 3) quadrante nasal superior; 4) quadrante nasal inferior.

Figura 16. Onda bifásica que representa os registros de primeira ordem do eletrorretinograma multifocal, mostrando o método padrão recomendado pela ISCEV para as medidas de amplitude e tempo implícito do primeiro componente negativo (N1) e do primeiro componente positivo (P1). Modificada de Marmor et al. (2003).

Figura 17. Diagrama mostrando a posição na retina para cada onda bifásica de resposta focal analisada.

Figura 18. Diagrama mostrando a posição na retina para os seis anéis concêntricos analisados. Os resultados são representados pela média das respostas de cada hexágono dentro de um dado anel. A resposta foveal é representada pela porção central e os anéis concêntricos correspondem a diferentes excentricidades. Modificada de Kawabata & dachi-Usami (1997).

Figura 19. Gráfico tridimensional da densidade de respostas para 103 elementos hexagonais de estimulação.

Figura 20. Histograma da distribuição de dados para o limiar de sensibilidade foveal medido através do exame de campimetria computadorizada acromático para os sujeitos do grupo controle (A) e para os pacientes (B), mostrando que em alguns

parâmetros a distribuição dos dados pode ser considerada normal; p calculado com *Shapiro-Wilk test*.

Figura 21. Histograma da distribuição de dados para o limiar de sensibilidade foveal medido através do exame de campimetria computadorizada azul-amarelo para os sujeitos do grupo controle (A) e para os pacientes (B), mostrando que em muitos parâmetros a distribuição dos dados não é considerada normal; p calculado com *Shapiro-Wilk test*.

Figura 22. Resultados do teste de campo visual acromático. Média dos limiares em 6 regiões concêntricas. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm 1dp$ dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa em todas as regiões do campo visual ($p < 0,02$).

Figura 23. Resultados do teste de campo visual azul-amarelo. Média dos limiares em 6 regiões concêntricas. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm 1dp$ dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa para os anéis concêntricos ($p < 0,01$), exceto no limiar foveal ($p = 0,11$).

Figura 24. Resultados de ambos os testes de campo visual. Média dos limiares para cada quadrante: TS = temporal superior; TI = temporal inferior; NS = nasal superior; NI = nasal inferior. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm 1dp$ dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa em todas as regiões do campo visual ($p < 0,05$).

Figura 25. Resultados das respostas de primeira ordem do eletrorretinograma multifocal para as seis regiões analisadas em anéis concêntricos. Os resultados dos controles estão representados em azul e os resultados dos pacientes estão representados em preto. Podemos observar alterações no formato das ondas bifásicas do grupo dos pacientes em relação ao grupo controle.

Figura 26. Gráfico tridimensional da densidade de respostas para o grupo de pacientes (B) e para o grupo controle (C). Em A podemos observar a diferença de densidade de respostas entre os grupos.

Figura 27. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de amplitude de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm 1dp$ dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites inferiores. Houve redução significativa em 5° ($p < 0,03$), em 10° ($p < 0,04$), e em 15° ($p < 0,02$).

Figura 28. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de amplitude de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites inferiores. Houve redução significativa em 5° ($p < 0,04$), e em 10° ($p < 0,05$).

Figura 29. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de tempo implícito de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites superiores. Não houve diferença estatística significativa.

Figura 30. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de tempo implícito de P1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites superiores. Não houve diferença estatística significativa.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Informações demográficas dos pacientes incluídos na análise dos resultados.

Tabela 2. Informações demográficas dos voluntários saudáveis para o grupo controle dos exames de campo visual e do exame de eletrorretinograma multifocal.

Tabela 3. Parâmetros utilizados para os exames de campimetria computadorizada acromático e azul-amarelo.

Tabela 4. Média dos resultados para os índices globais do campo visual acromático e azul-amarelo.

Tabela 5. Média das sensibilidades para região foveal e para as médias da sensibilidade em cinco regiões de diferentes excentricidades para o teste acromático e para o teste azul-amarelo.

Tabela 6. Média das sensibilidades em cada quadrante analisado para o exame de campimetria computadorizada acromático e azul-amarelo.

Tabela 7. Média dos resultados de amplitude e tempo implícito de N1 para as respostas foveais e para as médias das respostas em cinco regiões concêntricas de diferentes excentricidades.

Tabela 8. Média dos resultados de amplitude e tempo implícito de P1 para as respostas foveais e para as médias das respostas em cinco regiões concêntricas de diferentes excentricidades.

Lista de Abreviaturas e Siglas

[Hg] – Concentração de Mercúrio

Afast. – tempo de afastamento

asb – apostilbs

ATDRS – *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*

AV – Acuidade Visual

bp – período base

BY – blue-yellow

cd/m² – candela por metro quadrado

CGIH – *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*

Cr – Creatinina

CV – Campo Visual

dB – decibél

DC – Dioptria Cilíndrica

DE – Dioptria Esférica

dp – desvio padrão

DTL – Eletrodo monopolar de Filamento (*Dawson, Trick, and Litzkow*)

ERG – Eletrorretinograma

ERGmf – Eletrorretinograma multifocal

Exp. – tempo de exposição

F – Fóvea ou limiar foveal

FMC – Fator de Magnificação Cortical

HFA – *Humphrey Field Analyzer*

HgU – Concentração Urinária de Mercúrio

ISCEV – *International Society of Clinical Electrophysiology of Vision*

MD – *Mean Deviation*

MeHg – Metilmercúrio

MMCO – Mercurialismo Metálico Crônico Ocupacional

N1 – primeiro componente negativo

NI – quadrante nasal inferior

NS – quadrante nasal superior

nV/grau² – nanovolt por grau ao quadrado

OD – olho direito

OE – olho esquerdo

P1 – primeiro componente positivo

PSD – *Pattern Standard Deviation*

PVCP – Potencial Visual Cortical Provocado

RG – red-green

RM – Ressonância Magnética

SITA – *Swedish Interactive Threshold Algorithm*

SW – *Shapiro-Wilk test*

TI – quadrante temporal inferior

TS – quadrante temporal superior

VERISTM – *Visual Evoked Response Imaging System*

WW – *white-white*

Sumário

Prefácio	16
1. Introdução	17
1.1 Mercúrio e intoxicação mercurial	17
1.2 Mercúrio no sistema nervoso central	23
1.3 Mercúrio no sistema visual	26
1.4 Exposição ocupacional ao vapor de mercúrio	30
1.5 Campo Visual	32
1.6 Eletrorretinograma multifocal	44
2. Objetivos	52
3. Materiais e Métodos	53
3.1 Sujeitos	53
3.2 Campimetria Computadorizada	57
3.3 Eletrorretinograma multifocal	64
3.4 Análise dos resultados	67
4. Resultados	76
4.1 Campo Visual	76
4.2 Eletrorretinograma multifocal	82
5. Discussão	90
6. Conclusões	103
Referências	104

O presente trabalho é parte de um projeto, financiado por diversas agências (Capes, CNPq, FAPESP e FINEP) e que visa estudar, através de métodos morfológicos, eletrofisiológicos e psicofísicos, a intoxicação mercurial e outras doenças que afetam o sistema visual. Trata-se de um estudo realizado em esforço conjunto com o Laboratório da Visão: Eletrofisiologia e Psicofísica Visual Clínica, Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, do Departamento de Fisiologia e o Núcleo de Medicina Tropical, ambos da Universidade Federal do Pará, e do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Paraná.

O projeto pretende contribuir para melhor entender os prejuízos visuais que afetam ex-trabalhadores expostos cronicamente ao vapor de mercúrio em indústrias de lâmpadas fluorescentes (São Paulo), populações ribeirinhas que tiveram contato com o metilmercúrio, garimpeiros expostos tanto ao metilmercúrio quanto ao vapor de mercúrio (Amazônia), dentistas e pacientes com várias patologias que afetam o sistema visual, tais como: diabetes mellitus tipo 2, doença de Parkinson, distrofia muscular de Duchenne e neuropatia óptica hereditária de Leber.

No presente trabalho foram analisadas, através de métodos psicofísicos e eletrofisiológico, diferentes regiões do campo visual em ex-trabalhadores de fábricas de lâmpadas fluorescentes que, após exposição ao vapor de mercúrio, foram diagnosticados com mercurialismo metálico crônico ocupacional.

1 Introdução

1.1 Mercúrio e intoxicação mercurial

O mercúrio (Hg) é um elemento químico do grupo dos metais de transição, possui número atômico igual a 80, e massa atômica 200,6. É o único metal que se apresenta no estado líquido na temperatura ambiente e é o único elemento, além dos gases nobres, cujo vapor incolor e inodor, é monoatômico na temperatura ambiente. Na natureza o mercúrio é encontrado nas formas elementar (mercúrio metálico), inorgânica (sais e óxidos do íon mercúrico) e orgânica, proveniente da ação de microorganismos sobre as formas elementar e inorgânica (Azevedo, 2003). As três formas do mercúrio podem causar prejuízos aos seres vivos, mas cada forma possui diferentes efeitos tóxicos. O mercúrio na forma de vapor encontra-se em seu estado elementar. A capacidade do átomo metálico do mercúrio sofrer transformação biológica processada, principalmente, por bactérias aeróbicas e anaeróbicas para compostos de cadeias curtas, pode explicar as altas concentrações de metilmercúrio verificadas nos peixes. Na forma orgânica o mercúrio se bioacumula e biomagnifica nas cadeias tróficas, característica que o torna agente tóxico para os seres vivos e para o meio ambiente (Satoh, 2000).

A solubilidade dos diferentes compostos mercuriais pode influenciar na absorção do mercúrio pelos organismos. O vapor de mercúrio, por exemplo, é altamente lipossolúvel, resultando em absorção imediata através das membranas alveolares no sistema circulatório (Barregard, Sallsten, Schutz, Attewell, Skerfving, & Jarvholm, 1992). Após a absorção pelos pulmões, o vapor de mercúrio atinge concentração máxima nos eritrócitos em dez minutos, aproximadamente, enquanto o nível de mercúrio no plasma alcança o seu pico após dez horas. O rápido acúmulo de mercúrio nos eritrócitos promove a oxidação do vapor de mercúrio elementar de Hg^0 para Hg^{2+} nessas células (Barregard et al., 1992; Hursh, Greenwood, Clarkson, Allen, & Demuth, 1980). Nielsen-Kudsk (1965) demonstrou que a absorção pulmonar do vapor de mercúrio ocorre em torno de 80% e dois terços do mercúrio absorvido pelos pulmões é imediatamente transportado pelo sangue para os diversos tecidos (Magos & Clarkson, 2006; Nielsen-Kudsk, 1965).

Assim que é absorvido pelos pulmões, o vapor de mercúrio rapidamente entra na corrente sanguínea. Dissolvido no sangue, o mercúrio elementar (Hg^0) sofre oxidação rápida para forma inorgânica divalente (Hg^{2+}) através da catalase-hidrogênio peroxidase. A proporção de oxidação do vapor de mercúrio dependerá de alguns aspectos que podem variar amplamente para cada organismo, como a concentração de catalase no tecido e a produção endógena de hidrogênio peroxidase. Essas características individuais poderiam explicar, em parte, porque a intoxicação por vapor de mercúrio pode ser mais grave ou menos grave dependendo da susceptibilidade do organismo. A proporção de oxidação do vapor de mercúrio na corrente sanguínea também dependerá da quantidade de mercúrio disponível no sítio

de oxidação, o que poderia explicar a relação entre a concentração de mercúrio no ambiente de exposição, e o grau de intoxicação de organismos expostos a níveis semelhantes do vapor de mercúrio (Atchison & Hare, 1994; Barregard et al., 1992; Magos, 1967; WHO, 2003).

Uma grande proporção do vapor de mercúrio absorvido é oxidada em baixas doses de intoxicação. A catalase-hidrogênio peroxidase pode tornar-se saturada nas células sanguíneas em doses mais altas de intoxicação, mas a oxidação do vapor de mercúrio elementar para a forma inorgânica bivalente pode ocorrer em diferentes tecidos (Clarkson, 1989; Halbach & Clarkson, 1978; Magos, Halbach, & Clarkson, 1978; WHO, 2003). No cérebro, o vapor de mercúrio pode ser oxidado e permanecer bloqueado, porque em sua forma divalente (Hg^{2+}), dificilmente será transportado para fora do cérebro através da barreira hemato-encefálica (Clarkson, 1989).

Entre as alterações celulares provocadas pela presença do mercúrio nos organismos vivos, podemos citar: modificação das membranas celulares e, conseqüente, prejuízo de suas funções; inibição da adenosina trifosfatase, importante no funcionamento da bomba de Na^+/K^+ ; ligação do mercúrio com componentes citoplasmáticos e de sistemas enzimáticos, causando desde lesões inespecíficas até morte celular (Azevedo, 2003; Magour, 1986). Essas alterações ocorrem porque o mercúrio possui alta afinidade por grupos sulfidrila que compõe o aminoácido cisteína presente em vários compostos orgânicos celulares (Castoldi, Coccine, Ceccatelli, & Manzo, 2001).

Apesar do cérebro e dos rins serem os primeiros órgãos afetados pela inalação do vapor de mercúrio, a prevalência de depósitos nos diferentes tecidos dependerá do

tempo de exposição, da concentração de mercúrio em que o organismo encontra-se exposto e da susceptibilidade individual de cada organismo (WHO, 2003). A concentração de mercúrio na urina é dependente do nível e do tempo de exposição ao mercúrio. Alguns sintomas decorrentes da exposição ao vapor de mercúrio, como redução da sensibilidade ao contraste, tornam-se mais evidentes com o aumento da concentração de mercúrio no ambiente (Abdenmour, Khelili, Boulakoud, Nezzal, Boubsil, & Slimani, 2002; Altmann, Sveinsson, Kramer, Weishoff-Houben, Turfeld, Winneke, & Wiegand, 1998).

Muitos sintomas decorrentes da intoxicação crônica por vapor de mercúrio permanecem mesmo após cessada a exposição (Medrado-Faria, 2003). Prejuízos visuais para a percepção de cores e a sensibilidade ao contraste, decorrentes de intoxicação crônica ocupacional ao vapor de mercúrio, foram encontrados em pacientes afastados da fonte expositora por 5,5 anos, em média (Feitosa-Santana, Costa, Lago, & Ventura, 2007a; Ventura, Costa, Costa, Berezovsky, Salomão, Simoes, Lago, Pereira, Faria, de Souza, & Silveira, 2004; Ventura, Simoes, Tomaz, Costa, Lago, Costa, Canto-Pereira, de Souza, Faria, & Silveira, 2005).

Em indivíduos que vieram a óbito mais de dez anos depois de cessada a exposição ao vapor de mercúrio, foram encontrados depósitos de mercúrio no tecido cerebral em altas concentrações (Hargreaves, Evans, Janota, Magos, & Cavanagh, 1988; Kosta, Byrne, & Zelenko, 1975).

Há algumas décadas, os sinais e os sintomas clínicos classicamente descritos para caracterizar a intoxicação por mercúrio foram: prejuízos renais; inflamações orofaríngeas e alterações neuromusculares (tremores); assim como alterações

neuropsicológicas como irritabilidade, fadiga, depressão, ansiedade, delírio, insônia, apatia e perda de memória (Hunter & Russell, 1954).

Na década de 1950, após acidente ambiental na baía de Minamata (Japão), os sintomas e os sinais da intoxicação por mercúrio ganharam atenção. A doença de Minamata foi um dos primeiros e mais sérios casos de doença resultante da contaminação ambiental causada por poluição industrial. O metilmercúrio contido nos esgotos de indústrias da região, contaminou seres aquáticos, intoxicando as populações que se alimentavam dos peixes da baía (Harada, 1995; Igata, 1993; Iwata & Abe, 1986). Outro episódio de contaminação por mercúrio ocorreu no Iraque, em 1971, após acidente ambiental que ocorreu quando grãos de cevada e de trigo foram tratados com compostos organomercuriais. Aproximadamente 6.000 indivíduos foram hospitalizados, dos quais 459 vieram a falecer. Os grãos eram primariamente destinados ao plantio, mas foram ingeridos pela população nas formas de pães e farinha, causando envenenamento por alquilmercúrio, devido ao uso de fungicidas organomercuriais. Diversos casos de intoxicação foram encontrados em áreas rurais por todo o país (WHO, 1976).

No Brasil, a exposição ao vapor de mercúrio ocorre em garimpeiros da Amazônia. Esses trabalhadores utilizam o mercúrio metálico, que possui alta afinidade com o ouro, para formar um amálgama e separar o ouro de impurezas. Quando o material é aquecido, o mercúrio evapora deixando o ouro livre de impurezas.

As comunidades ribeirinhas dessas regiões se tornam expostas ao metilmercúrio devido a biotransformação do vapor de mercúrio que é despejado na

natureza pelo precesso de garimpagem do ouro (Pinheiro, Muller, Sarkis, Vieira, Oikawa, Gomes, Guimaraes, do Nascimento, & Silveira, 2005; Pinheiro, Oikawa, Vieira, Gomes, Guimaraes, Crespo-Lopez, Muller, Amoras, Ribeiro, Rodrigues, & Cortes, 2006; Pinheiro, Crespo-Lopez, Vieira, Oikawa, Guimaraes, Araújo, Amoras, Ribeiro, Herculano, do Nascimento, & Silveira, 2007). Algumas manifestações neurotóxicas e alterações nas funções visuais foram descritas em moradores das proximidades do Rio Tapajós, regiões situadas a mais de 250 km das áreas de garimpo, cujas comunidades dependem dos peixes em suas dietas (Lebel, Mergler, Lucotte, Amorim, Dolbec, Miranda, Arantes, Rheault, & Pichet, 1996; Lebel, Mergler, Branches, Lucotte, Amorim, Larribe, & Dolbec, 1998; Silveira, Damin, Pinheiro, Rodrigues, Moura, Côrtes, & Mello, 2003a; Silveira, Ventura, & Pinheiro, 2003c).

Atualmente, no Brasil, investiga-se os aspectos neuropsicológicos e as funções visuais em ex-trabalhadores que foram expostos ao vapor de mercúrio em fábricas de lâmpadas fluorescentes nas cidades de São Paulo e do ABC Paulista (veja nossos resultados em: Barboni, Costa, Moura, Feitosa-Santana, Gualtieri, Lago, Medrado-Faria, Silveira, & Ventura, 2007a; Costa, Tomaz, de Souza, Silveira, & Ventura, 2007b; Feitosa-Santana et al., 2007a; Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005; Zachi, Taub, Medrado-Faria, & Ventura, 2007), assim como os sintomas patológicos gerais decorrentes da exposição ocupacional ao vapor de mercúrio (Medrado-Faria, 2003; Zavariz & Glina, 1992). Também na cidade de São Paulo, prejuízos na visão de cores e na sensibilidade ao contraste foram encontrados em dentistas expostos ao vapor de mercúrio no ambiente de trabalho, devido a utilização do mercúrio na produção do

amálgama dentário (Canto-Pereira, Lago, Costa, Rodrigues, Saito, Silveira, & Ventura, 2005).

1.2 Mercúrio no sistema nervoso central

O sistema nervoso humano é muito vulnerável aos efeitos tóxicos do vapor de mercúrio (Bast-Pettersen, Ellingsen, Efskind, JordsKogen, & Thomassen, 2005; Chang & Hartmann, 1972a; Chang, 1977; Ellingsen, Morland, Andersen, & Kjuus, 1993; Ellingsen, Bast-Pettersen, Efskind, & Thomassen, 2001; Urban, Lukas, Benicky, & Moscovicova, 1996; Urban, Nerudova, Cabelkova, Krajca, Lukas, & Cikrt, 2003b). O sistema nervoso central é considerado um alvo crítico e muito sensível aos efeitos da intoxicação aguda ao mercúrio, mas na exposição crônica, o vapor de mercúrio pode provocar prejuízos neurológicos graves e irreversíveis, que permanecem mesmo 10 anos depois de cessada a exposição (Kishi, Doi, Fukushi, Satoh, Satoh, Ono, Moriwaka, Tashiro, Takahata, & The mercury workers study group, 1993; Langworth, Almkvist, Soderman, & Wikstrom, 1992).

No transporte do vapor de mercúrio elementar (Hg^0) dos pulmões para a corrente sanguínea a difusão ocorre através da membrana alveolar na circulação sistêmica, onde é oxidado para cátion divalente (Hg^{2+}) pelos eritrócitos. A oxidação do mercúrio elementar (Hg^0) pelo sangue durante seu transporte para o cérebro ocorre em pequena extensão do trajeto, por isso parte do vapor de mercúrio absorvido, chega ao sistema nervoso central inalterado (Hursh, Sichak, & Clarkson, 1988).

A distribuição do vapor de mercúrio absorvido, presente no sangue, ocorre com o metal parcialmente inalterado e parcialmente oxidado. Devido à ausência de carga elétrica e sua lipossolubilidade, o mercúrio inalterado, com grande poder de difusão, atravessa facilmente as membranas celulares, e é transportado para o sistema nervoso central atravessando as barreiras hêmato-encefálicas (Aschner & Aschner, 1990; Chang & Hartmann, 1972b). No tecido nervoso, o mercúrio elementar (Hg^0) é oxidado pelo sistema enzimático catalase-hidrogênio peroxidase e transforma-se em cátion divalente (Hg^{2+}). O cátion divalente tem menos possibilidade de atravessar no sentido oposto as membranas e barreiras, por ter perdido sua lipossolubilidade (Chang, 1977).

No tecido nervoso o mercúrio liga-se às proteínas celulares, resultando em sua fixação no sistema nervoso (Aschner et al., 1990; Sichak, Mavis, Finkelstein, & Clarkson, 1986; WHO, 2003). Os efeitos neurotóxicos da exposição ao metilmercúrio não podem ser explicados por um único mecanismo, os prejuízos celulares no tecido nervoso ocorrem por diferentes mecanismos (Aschner, Syversen, Souza, Rocha, & Farina, 2007).

No sistema nervoso central o mercúrio altera as concentrações de cálcio (Ca^{2+}) intracelular interrompendo sua regulação e modificando a permeabilidade da membrana plasmática ao Ca^{2+} . O mercúrio também bloqueia os canais de Ca^{2+} e Na^+ dependentes de voltagem na membrana plasmática, e inibe enzimas mitocondriais, despolarizando suas membranas e reduzindo a produção de ATP (Atchison et al., 1994). O mercúrio pode induzir apoptose das células nervosas (Kunimoto, 1994), o

que poderia explicar, em parte, a fisiopatologia dessa doença neurodegenerativa (Toimela & Tahti, 2004).

Os efeitos do mercúrio orgânico e do mercúrio inorgânico nas propriedades elétricas das membranas celulares diferem entre si, mas ambas as formas dos compostos mercuriais afetam as propriedades elétricas dos neurônios, causando redução no desempenho sensorial, cognitivo e motor (Leonhardt, Pekel, Platt, Haas, & Busselberg, 1996; Sirois & Atchison, 1996).

Na intoxicação crônica ao metilmercúrio, foram observados casos de atrofia cerebral e aumento, compensatório, do fluido cerebral. A atrofia mostrou-se mais evidente na região medial dos lobos occipitais, particularmente nas fissuras calcarinas (Chang, 1977). Nos casos da doença de Minamata, lesões no córtex calcarino foram descritas e correlacionadas com os prejuízos no campo visual (Korogi, Takahashi, Hirai, Ikushima, Kitajima, Sugahara, Shigematsu, Okajima, & Mukuno, 1997).

As alterações degenerativas das fibras nervosas parecem ser lesões iniciais produzidas pelo mercúrio no sistema nervoso (Chang et al., 1972a). Os distúrbios sensoriais progressivos foram um dos primeiros sintomas clínicos descritos em intoxicação por metilmercúrio, assim como as alterações neuropsicológicas caracterizadas por irritabilidade, fadiga, depressão, ansiedade, delírio, insônia, apatia, perda de memória e cefaléia (Hunter et al., 1954). Na exposição ao vapor de mercúrio, os efeitos neurotóxicos provocam distúrbios de coordenação e tremores, deficiências de concentração e memória, e ansiedade (Clarkson, 1989; Vroom & Greer, 1972). Alguns prejuízos neuropsicológicos, como depressão e ansiedade, foram encontrados em sujeitos afastados da exposição ao vapor de mercúrio por um período de seis anos,

em média, sugerindo que esses prejuízos não são totalmente reversíveis, e permanecem muitos anos após cessada a exposição ao vapor de mercúrio (Zachi et al., 2007).

1.3 Mercúrio no sistema visual

A intoxicação por alguns tipos de metais, como mercúrio, chumbo, zinco, etc., podem causar prejuízos tóxicos ao sistema visual (Erie, Butz, Good, Erie, Burritt, & Cameron, 2005; Merigan, 1979; Tessier-Lavigne, Mobbs, & Attwell, 1985). No caso do mercúrio o sistema visual é considerado alvo crítico para os efeitos dos diferentes tipos de intoxicação (Rodrigues, Botelho de Souza, Braga, Rodrigues, Silveira, Damin, Côrtes, Castro, Mello, Vieira, Pinheiro, Ventura, & Silveira, 2007; Silveira et al., 2003a; Silveira et al., 2003c).

Trabalhos preliminares demonstraram prejuízos no sistema visual decorrentes da intoxicação por metilmercúrio em modelos animais. Em retina de peixes, o metilmercúrio promove redução na densidade de células amácrinas e células bipolares (Bonci, de Lima, Grotzner, Oliveira-Ribeiro, Hamassaki, & Ventura, 2006) e alterações das respostas eletrofisiológicas nas células horizontais, reduzindo ou aumentando sua amplitude dependendo do nível de intoxicação (Tanan, Ventura, de Souza, Grotzner, Mela, Gouveia, Oliveira-Ribeiro, 2006).

Em roedores, alguns trabalhos descrevem comprometimento no transporte axonal na exposição ao metilmercúrio, que alteram as respostas celulares na retina, no

nervo óptico e no núcleo geniculado lateral (Aschner, 1986; Aschner, Rodier, & Finkelstein, 1987). Na avaliação eletrorretinográfica em ratos expostos ao metilmercúrio houve redução nas respostas celulares, com maior prejuízo dos cones em relação aos bastonetes, sugerindo diferentes efeitos do metilmercúrio dependendo do tipo celular (Goto, Shigematsu, Tobimatsu, Sakamoto, Kinukawa, & Kato, 2001).

Primatas não humanos expostos ao metilmercúrio demonstraram prejuízos em funções visuais espaciais e temporais (Rice & Gilbert, 1982; Rice & Gilbert, 1990; Rice & Hayward, 1999). Quando a exposição ocorre durante o desenvolvimento embrionário, os prejuízos nas funções visuais espaciais tornam-se permanentes na idade adulta (Burbacher, Grant, Mayfield, Gilbert, & Rice, 2005).

No córtex visual, o metilmercúrio se deposita na fissura calcarina e sua distribuição, em primatas não humanos, sugere um processo de desmetilação do metilmercúrio decorrente da ação dos astrócitos e microglias que parecem acumular maior quantidade de mercúrio que os neurônios (Charleston, Bolender, Mottet, Body, Vahter, & Burbacher, 1994; Charleston, Body, Mottet, Vahter, & Burbacher, 1995).

O sulco calcarino, assim como outros sulcos do córtex cerebral, exibem elevado prejuízo devido a intoxicação por metilmercúrio (Charleston et al., 1995; Hunter et al., 1954). A região calcarina recebe projeções de fibras nervosas provenientes das regiões periféricas da retina (Aline, Supek, George, Ranken, Lewine, Sanders, Best, Tíe, Flynn, Wood, 1996; Dougherty, Koch, Brewer, Fischer, Modersitzki, & Wandell, 2003; Fox, Miezin, Allman, Van Essen, & Raichle, 1987), nesse contexto os depósitos de mercúrio encontrados nessas regiões estariam

relacionados aos prejuízos no campo visual periférico encontrados na maioria dos sujeitos intoxicados por metilmercúrio (Korogi et al., 1997).

A investigação em humanos dos aspectos neuro-oftalmológicos na intoxicação por metilmercúrio iniciou-se no Japão com as medidas de campo visual realizadas em indivíduos com a doença de Minamata (Okajima, 1972). Através do exame de perimetria manual constatou-se redução de porções significativas do campo visual periférico, que foi classificada como constrição do campo visual (Harada, 1995; Iwata et al., 1986).

Os prejuízos de campo visual, encontrados em todos os indivíduos com diagnóstico da doença de Minamata que foram avaliados (Chang, 1977), concordam com os resultados de ressonância magnética de lesões na fissura calcarina desses sujeitos (Korogi, Takahashi, Shinzato, & Okajima, 1994; Korogi et al., 1997; Korogi, Takahashi, Okajima, & Eto, 1998). O comprometimento de outros aspectos visuais, como alteração dos potenciais visuais corticais provocados, redução da sensibilidade ao contraste espacial de luminância e distúrbios dos movimentos oculares, foram descritos como sinais oculares típicos da doença de Minamata (Ishikawa, Okamura, & Mukuno, 1979; Iwata, 1973; Okamura, 1982). No Iraque, após o acidente que ocorreu com mercúrio orgânico no início da década de 1970, alterações visuais, como constrição do campo visual, foram descritas para a maioria dos sujeitos intoxicados (Sabelaish & Hilmi, 1976).

A redução nos potenciais visuais corticais provocados decorrentes da intoxicação por metilmercúrio através da alimentação, também foi encontrada em crianças no Canadá (Saint-Amour, Roy, Bastien, Ayotte, Dewailly, Despres, Gingras,

Muckle, 2006) e no Brasil. Garimpeiros e populações das áreas de garimpo da Amazônia, demonstraram redução da capacidade de discriminação cromática e da sensibilidade ao contraste espacial, em doses de intoxicação consideradas dentro dos limites aceitáveis (Lebel et al., 1996; Lebel et al., 1998).

Em primatas não humanos expostos ao vapor de mercúrio via inalação, técnicas autometalográficas constataram depósitos no disco óptico e nas paredes dos vasos sanguíneos da retina. O mercúrio também depositou-se em células gliais e em neurônios, em diferentes quantidades para as regiões centrais e periféricas da retina (Warfvinge & Bruun, 1996; Warfvinge & Bruun, 2000). Em humanos, a intoxicação por vapor de mercúrio causa alterações em diferentes funções visuais que podem ser identificadas através de avaliações por métodos psicofísicos e eletrofisiológicos (Costa, Anjos, Souza, Gomes, Saito, Pinheiro, Ventura, Silva-Filho, & Silveira, 2007a; Costa et al., 2007b; Silveira et al., 2003a; Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005).

A sensibilidade ao contraste espacial, função visual que nos permite perceber diferenças de luminosidades ou cromáticas entre regiões adjacentes, é um importante indicador do prejuízo visual na intoxicação por vapor de mercúrio (Altmann et al., 1998; Canto-Pereira et al., 2005; Grandjean, White, Sullivan, Debes, Murata, Otto, Weihe, 2001a; Lago, 2005; Rodrigues et al., 2007; Silveira et al., 2003a; Ventura et al., 2005).

A capacidade de discriminação cromática também encontra-se reduzida na intoxicação por vapor de mercúrio (Cavalleri, Belotti, Gobba, Luzzana, Rosa, & Seghizzi, 1995; Feitosa-Santana, 2005; Feitosa-Santana et al., 2007a; Gobba, 2000;

Gobba & Cavalleri, 2000; Gobba & Cavalleri, 2003; Silveira et al., 2003a; Urban, Gobba, Nerudova, Lukas, Cabelkova, & Cikrt, 2003a; Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005; Rodrigues et al., 2007).

Os prejuízos visuais decorrentes da intoxicação por vapor de mercúrio foram demonstrados através das medidas dos potenciais visuais corticais provocados (Costa et al., 2007b; Ventura et al., 2005), mas existem lesões retinianas relacionadas com a redução nas funções visuais (Ventura et al., 2004). Em sujeitos expostos cronicamente ao vapor de mercúrio, as respostas celulares retinianas reduzidas obtidas através do eletrorretinograma de campo total, sugerem que tanto a retina externa (fotorreceptores, células horizontais e células bipolares) quanto a retina interna (células amácrinas e células ganglionares), estão envolvidas nos prejuízos visuais. As reduções nas respostas fisiológicas encontradas em diferentes regiões da retina através do eletrorretinograma multifocal, sugerem lesões na região central da retina, decorrentes de prejuízos na via dos cones (Ventura et al., 2004).

1.4 Exposição ocupacional ao vapor de mercúrio

A exposição humana a quantidades biologicamente significativas de vapor de mercúrio ocorre, principalmente, em ambientes de trabalho. A exposição ocupacional ao mercúrio geralmente ocorre quando trabalhadores inalam vapor de mercúrio elementar. Alguma absorção dérmica pode ocorrer do contato da pele com o ar contaminado, mas em baixas doses, menos de 3% da dose inalada (WHO, 2003). A

exposição ocupacional pode ocorrer em todos os ambientes de trabalho onde o mercúrio é produzido, utilizado, incorporado em produtos, e manuseado inadequadamente. Em locais de trabalho onde se emprega o mercúrio elementar pode haver altas concentrações de seu vapor no ar ambiente, em consequência de sua alta volatilidade (Azevedo, 2003).

Entre as principais aplicações do mercúrio elementar estão a eletrólise para preparação de cloro e soda na indústria de cloro-álcali, produção de aparelhos precisos de pressão e calibração, preparação de amálgama (utilizado, inclusive, em odontologia), confecção de certos tipos de brinquedos, separação do lítio na bomba de hidrogênio, revestimento de eletrodos, purificação das águas de esgotos, pêndulos, bombas de difusão e fabricação de lâmpadas elétricas (Kark, 1994).

Na indústria o mercúrio é usado em barômetros, termômetros, cosméticos, tintas, espelhos, jóias, medicamentos, entre outras formas de utilização. Pode ser encontrado em muitos equipamentos eletrônicos, como baterias, e em lâmpadas fluorescentes produzidas com vapor de mercúrio (Azevedo, 2003).

O mercurialismo metálico crônico ocupacional ou hidrargirismo caracteriza-se pelo conjunto de sintomas apresentados após um certo período de exposição ao vapor de mercúrio ou sais derivados do mercúrio elementar no ambiente de trabalho (Kark, 1994; Medrado-Faria, 2003; Vroom et al., 1972; WHO, 1991). Os sintomas típicos relacionados a intoxicação ocupacional por vapor de mercúrio são: irritabilidade; ansiedade; labilidade de humor; alteração da sociabilidade; timidez; falta de interesse pela vida; baixa auto-estima; delírios; alucinações; cansaço; desânimo; e perda de

memória. Sintomas que caracterizam a síndrome do eretismo, que também é conhecida como síndrome de Hunter-Russel (Hunter et al., 1954).

A *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* em 2001, estabeleceu que os limites seguros da concentração de mercúrio urinário em indivíduos ocupacionalmente expostos seria de 35 µg/g creatinina, o que representa 40 µg Hg/m³ no ambiente de trabalho (ACGIH, 2001).

Meyer-Baron, Schaeper, & Seeber (2002) constataram, através de uma meta-análise envolvendo diferentes estudos em exposição ocupacional ao mercúrio, que os prejuízos neurológicos ocorrem mesmo em indivíduos que possuem concentrações de mercúrio urinário dentro dos limites estabelecidos pela ACGIH (2001) e considerados seguros, e sugere que esses limites deveriam ser discutidos e reavaliados. Um estudo realizado com 10 sujeitos expostos ocupacionalmente ao vapor de mercúrio em níveis considerados seguros e sob controle da vigilância sanitária, mostrou comprometimento do campo visual (ver nossos resultados em Barboni, Feitosa-Santana, Zachi, Lago, Teixeira, Taub, Costa, Silveira, & Ventura, 2007b), concordando com as sugestões preliminares de Meyer-Baron et al. (2002).

1.5 Campo Visual

As células fotorreceptoras da retina humana (aproximadamente 100 milhões) são estimuladas pela luz e projetam-se para as células bipolares, que estabelecem sinapses com as células ganglionares (Figura 1). As fibras das células ganglionares

(aproximadamente 1,25 milhões) formam o nervo óptico. No quiasma óptico os axônios situados nasalmente em relação à fóvea cruzam para o lado oposto do encéfalo, assim cada tracto óptico (Figura 2) será formado pelas fibras da retina temporal ipsilateral e pelas fibras da retina nasal contralateral. O grau de decussação das fibras retinianas varia conforme a espécie e está relacionado com a evolução da visão binocular. Em humanos, quando um estímulo visual aparece na hemisfera visual esquerdo, estimulará as células da retina temporal do olho direito e as células da retina nasal do olho esquerdo, por isso a informação é encaminhada ao córtex visual direito através do tracto óptico direito (Davson, 1980a; Rodieck, 1998).

Figura 1. Circuitaria das células retinianas, destacando as conexões entre os fotorreceptores e as células bipolares, e entre as células bipolares e as células ganglionares. Modificada de Rodieck (1998).

Figura 2. Via óptica, destacando as projeções das células retinianas para o córtex visual, iniciando pelo nervo óptico, passando pelo quiasma óptico, onde as fibras da retina nasal decussam, e seguindo pelo tracto óptico em direção ao córtex visual primário. Modificada de Rodieck (1998).

Lesões que afetam o quiasma óptico, por exemplo, causam hemianopsia bitemporal (Figura 3, exemplo 2), e lesões no tracto óptico direito causam hemianopsia homônima à esquerda (Figura 3, exemplo 3), ou seja, ausência da metade esquerda do campo visual de cada olho (Davson, 1980a; Schwartz, 2004).

Figura 3. A figura mostra a localização da lesão na via visual e os respectivos defeitos causados no campo visual 1) lesão no nervo óptico do olho direito; 2) lesão no quiasma óptico; 3) lesão no tracto óptico direito; 4) lesão no córtex visual. Modificada de Schwartz (2004).

Entre os fotorreceptores presentes na retina de humanos há os bastonetes, sensíveis às mudanças de intensidade luminosa, e os cones, que apresentam três classes sensíveis a diferentes comprimentos de onda (cone S – comprimentos de onda curtos, cone M – comprimentos de onda médios e cone L – comprimentos de onda longos). (Cornsweet, 1970; Levine, 2000; Rodieck, 1998; Tovee, 1996). A distribuição espacial dos cones S, que constituem 10% dos fotorreceptores, é diferente da distribuição espacial dos cones M e L. Não há cones S na fóvea e os cones M e L possuem alta concentração foveal. Os cones M e L encontram-se aleatoriamente misturados e, em média, há o dobro de cones M em relação aos cones L. Atualmente é possível se obter imagens microscópicas de alta resolução (*in vivo*) que mostra grande

variação individual na distribuição dos cones M e L na retina de primatas (Roorda & Williams, 1999).

No gráfico de densidade espacial dos fotorreceptores (Figura 4) observa-se que no centro da fóvea (0 mm) há um pico na densidade espacial dos cones, enquanto na periferia da retina a densidade espacial de cones diminui e se torna irregular. A densidade espacial dos bastonetes é zero no centro da fóvea (0 mm), mas aumenta rapidamente e alcança seu pico entre 5 e 7 mm (aproximadamente 20°) de excentricidade, e depois diminui gradualmente (Rodieck, 1998).

Figura 4. Densidade espacial (quantidade de células/mm²) da distribuição dos fotorreceptores (cones e bastonetes) em relação a excentricidade na retina humana. Modificada de Rodieck (1980).

As células bipolares, que recebem as informações dos fotorreceptores, possuem campos receptivos com uma organização centro-periferia antagônica. Existem as células bipolares tipo centro-ON e as células bipolares tipo centro-OFF. Quando os cones que se conectam ao centro do campo receptivo estão ativos, as células bipolares tipo centro-ON despolarizam, enquanto as células bipolares tipo centro-OFF hiperpolarizam. Quando os cones na periferia estão ativos a resposta da célula bipolar é oposta àquela que é provocada pela ativação do centro (Davson, 1980b; Kolb, 2003).

Assim como as células bipolares, as células ganglionares possuem campos receptivos com organização centro-periferia antagônica. As conexões entre as células bipolares e o centro do campo receptivo de uma célula ganglionar tem efeito oposto ao das conexões encaminhadas para a periferia do campo receptivo da célula ganglionar (Rodieck, 1998).

Em primatas não humanos o tamanho dos campos receptivos das células ganglionares varia conforme a excentricidade da retina. Na fóvea o centro do campo receptivo é pequeno, portanto recebe menor número de conexões das células bipolares. As células ganglionares do tipo parvocelular encontram-se conectadas a uma única célula bipolar na fóvea, e com o aumento da excentricidade, o centro do campo receptivo aumenta, recebendo maior número de conexões das células bipolares. O aumento na convergência de células para o centro do campo receptivo das células ganglionares ocorre em função do aumento da excentricidade retiniana (Kolb, 2003; Silveira, Saito, Lee, Kremers, da Silva, Kilavik, Yamada, & Perry, 2003b).

O diâmetro do centro do campo receptivo das células ganglionares localizadas próximas a fóvea é de, aproximadamente, 4 minutos de arco, enquanto em algumas regiões mais periféricas o diâmetro é de 4° (Hubel & Wiesel, 1960). A densidade espacial das células ganglionares próximas a região foveal é maior no quadrante nasal se comparada com os outros quadrantes na mesma excentricidade. Não se conhece exatamente os motivos para haver assimetrias na distribuição das células ganglionares, assim como de outros tipos celulares, na retina humana (Rodieck, 1998).

Cada região da retina é representada por um mapa topográfico (mapa retinotópico) no córtex visual primário. A escala regional de mapeamento varia, consideravelmente, conforme a posição no campo visual devido a uma representação “desproporcional” da superfície sensorial (Azzopardi & Cowey, 1996).

O fator de magnificação cortical (FMC) indica quantos milímetros da superfície do córtex visual primário representam 1° de ângulo visual em diferentes excentricidades. O FMC é maior para visão central (9 a 13 mm para 1° de ângulo visual na fóvea), e diminui (0,05 mm para 1° de ângulo visual em 80°) conforme aumenta a excentricidade da retina. Após alcançar o córtex visual primário, as informações retinianas encaminham-se ao córtex extra-estriado, que são áreas visuais superiores e também possuem um mapa neural da retina (Azzopardi et al., 1996; Daniel & Whitteridge, 1959; Daniel & Whitteridge, 1961).

O mapa retinotópico permite identificar as projeções da retina no córtex visual primário e no córtex visual extra-estriado. No córtex visual primário, as fibras da retina central projetam-se para a região caudal e as fibras da retina periférica

projetam-se para a região ventral da fissura calcarina (Figura 5). As fibras provenientes da retina superior projetam-se acima da fissura calcarina e as fibras provenientes da retina inferior projetam-se abaixo da fissura calcarina (Fox et al., 1987), consequentemente, estímulos provenientes do campo visual superior, que estimulam a retina inferior, ativam regiões superiores da fissura calcarina e vice-versa (Aline et al., 1996).

Figura 5. Representação das diferentes regiões do campo visual no córtex visual primário. Informações acerca do hemisfério visual direito estão representadas no córtex visual esquerdo (e vice-versa). As células da retina periférica estimuladas pelo campo visual periférico, projetam-se ventralmente em relação as fibras da retina central. Modificada em 19/06/07 de www.mona.uwi.edu/fpas/courses/physiology/neurophysiology/Vision.htm

O campo visual monocular possui extensão de aproximadamente 60° superiormente, 70° inferiormente, 60° para o lado nasal e 90° para o lado temporal (Figura 6). A redução no hemisfério superior em relação ao hemisfério inferior ocorre por limitação da pálpebra superior e a redução do hemisfério nasal em relação ao hemisfério temporal ocorre devido a posição e características do nariz. A mancha cega (Figura 7) é a projeção espacial do nervo óptico onde não há células fotorreceptoras, portanto é desprovida de sensibilidade visual (Walsh, 1996).

Figura 6. Limites aproximados para um campo visual monocular normal.

Figura 7. Ilha de visão para um campo visual monocular normal.

A representação gráfica tridimensional do campo visual, que apresenta o perímetro do campo visual e a sensibilidade visual para cada região, recebe o nome de ilha de visão (Figura 7). No campo visual para pontos de luz acromáticos em observadores saudáveis, a fóvea é a região de maior sensibilidade visual e é representada pelo ápice da ilha de visão. Conforme aumenta a excentricidade do campo visual, a sensibilidade visual diminui, e na mancha cega, que é a projeção espacial da região do nervo óptico, aproximadamente 15° temporal da fóvea, não há sensibilidade para estímulos visuais (Walsh, 1996).

Há diferentes métodos para avaliação do campo visual. O campo visual de confrontação é uma medida subjetiva, que pode ser realizada durante o exame oftalmológico quando há suspeita de alterações do campo visual (Reader & Harper, 1976; Elliott, North, & Flanagan, 1997). O observador deve manter o olhar fixo no olho contralateral do examinador, que apresenta diferentes números com os dedos em cada quadrante a aproximadamente 20° do ponto de fixação. A tarefa do observador é

identificar a quantidade de dedos apresentados. Em seguida o observador deve relatar em que momento os dedos do examinador tornaram-se visíveis quando movidos de fora para dentro do campo visual nos meridianos horizontal e vertical. Quando algum defeito é observado, um alvo branco é apresentado para detectar os limites em que o objeto é percebido em diferentes posições do campo visual. Muitas patologias que afetam o campo visual não causam prejuízos absolutos, portanto são dificilmente identificáveis por esse tipo de avaliação (Trobe, Acosta, Krischer, & Trick, 1981; Pandit, Gales, & Griffiths, 2001; Schiefer, Patzold, & Dannheim, 2005).

Nas últimas décadas foram desenvolvidos equipamentos que permitem uma avaliação mais objetiva do campo visual, controlando os parâmetros dos estímulos. Os perímetros manuais e, posteriormente, os campímetros computadorizados tornaram-se equipamentos clinicamente utilizados para avaliação do campo visual.

A perimetria manual, realizada através do perímetro de *Goldmann*, é um teste psicofísico que permite a delimitação de isópteras concêntricas, através da apresentação de estímulos luminosos de tamanho e intensidade constantes que são movidos de fora para dentro do campo visual. A avaliação pode ser realizada em excentricidades de até 95° do campo visual, permitindo procedimentos de perimetria cinética ou estática (Galan, 1968; Gilpin, Stewart, Hunt, & Broom, 1990; Hotchkiss, Robin, Quigley, & Pollack, 1985).

A campimetria computadorizada é um teste psicofísico que mede a sensibilidade visual para detecção de luz em diferentes pontos do campo visual, monocularmente. Na avaliação padrão, os estímulos consistem em pequenos pontos de luz acromática com intensidades variáveis, projetados sobre um fundo acromático

com intensidade constante. Através do método da escada, o limiar de sensibilidade para detecção de luz é medido em diferentes regiões do campo visual. Como resultado, a comparação dos limiares com os dados normativos permite investigar a superfície da ilha de visão, pesquisar irregularidades, erosões, depressões, falhas, fendas e buracos (Walsh, 1996).

A campimetria computadorizada permite avaliar o campo visual com outros protocolos de avaliação, além da campimetria padrão com estímulos acromáticos. O protocolo de estimulação “azul-amarelo” estimula preferencialmente os cones sensíveis a comprimentos de onda curtos, através da apresentação de estímulo azul (comprimento de onda 440 nm). A saturação dos cones sensíveis a comprimentos de onda médios e longos pela luz de fundo amarela, assim como a saturação da atividade dos bastonetes pela alta intensidade da luz de fundo, isola as respostas dos cones sensíveis a comprimentos de onda curtos (Wild, 2001). Esse protocolo foi originalmente desenvolvido para avaliação precoce de prejuízos causados pelo glaucoma (Polo, Larrosa, Pablo, Fernandez, & Honrubia, 2001; Sample, 2000), mas pode ser utilizado para diferentes tipos de patologias neuro-oftalmológicas (Keltner & Johnson, 1995).

Em alguns casos de suspeita de intoxicação devido ao uso prolongado de medicamentos ou por agentes neurotóxicos, o campo visual é utilizado para avaliar se a toxicidade afetou o sistema visual, ou ainda acompanhar a progressão dos prejuízos causados pela intoxicação. Alguns medicamentos, como a cloroquina (Mavrikakis, Sfrikakis, Mavrikakis, Rougas, Nikolaou, Kostopoulos, & Mavikrakis, 2003) e o vigabatrin (McDonagh, Stephen, Dolan, Parks, Dutton, Kelly, Keating, Sills, &

Brodie, 2003), causam prejuízos ao sistema visual que podem ser detectados através da avaliação do campo visual.

A exposição a alguns agentes tóxicos, como o chumbo e o metilmercúrio, pode causar prejuízos ao campo visual (Okajima, 1972; Rice et al., 1999). A intoxicação por metilmercúrio, por exemplo, provoca redução de porções significativas do campo visual periférico (Okamura, 1982).

1.6 Eletroretinograma multifocal (ERGmf)

O eletroretinograma (ERG) é um potencial de massa resultante da atividade elétrica somada dos diferentes tipos celulares da retina, envolvendo respostas elétricas em diferentes regiões retinianas para estímulos de campo total. A absorção de luz pelas moléculas do pigmento visual no segmento externo dos fotorreceptores dispara uma cadeia de reações bioquímicas que hiperpolarizam a membrana do fotorreceptor pelo fechamento de canais iônicos. Através do contato sináptico entre fotorreceptores e outros tipos celulares essa ativação é propagada pela rede neuronal da retina, gerando respostas excitatórias e inibitórias nos neurônios, assim como fluxos iônicos em células da glia. As mudanças elétricas podem ser parcialmente captadas por um eletrodo corneano, gerando uma representação única da atividade elétrica da retina (Brown, 1968; Gouras, 1970; Riggs, 1986).

Algumas doenças que causam prejuízos retinianos, como a distrofia macular de Stargardt (Kretschmann, Seeliger, Ruether, Usui, Apfelstedt-Sylla, & Zrenner,

1998), distrofia macular de cones (Kretschmann, Stilling, Ruther, & Zrenner, 1999) distrofia de cones periférica (Kondo, Miyake, Kondo, Uedo, Takakuwa, & Terasaki, 2004) e retinose pigmentária (Kretschmann, Bock, Gockeln, & Zrenner, 2000), afetam regiões específicas da retina e podem não ser detectadas pelo ERG de campo total.

Até recentemente a avaliação psicofísica do campo visual era a única ferramenta para a medida topográfica dos efeitos locais causados por determinadas patologias da retina e nervo óptico (Hood & Zhang, 2000). Posteriormente, registros de eletrorretinogramas restritos a pequenas áreas retinianas permitiram a avaliação fisiológica focal e a construção de mapas topográficos de respostas retinianas locais. A grande variação de sinais durante uma sessão de registros e entre uma sessão e outra, tornou o paradigma do ERG focal pouco confiável quando utilizado para construção do mapa topográfico (Sutter & Tran, 1992).

O desenvolvimento da tecnologia multifocal por Sutter e colaboradores, permitiu a análise da função retiniana focal, simultaneamente, em diferentes regiões da retina. As medidas simultâneas de pequenas áreas da retina independentemente estimuladas com modulação temporal corretamente selecionada, podem isolar a contribuição de cada região para a resposta global do registro elétrico (Sutter et al., 1992). Apesar de ser uma técnica recente o ERGmf tem incitado grande interesse científico e clínico, embora existam muitas questões a serem respondidas sobre as análises dos resultados.

O ERGmf pode ser utilizado para auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de maculopatias, toxicidade retiniana devido ao uso de medicamentos, retinopatia

diabética, entre outros prejuízos retinianos. Estudos preliminares sugerem que os prejuízos encontrados no ERGmf podem preceder alterações de fundo de olho em determinadas patologias (Berezovsky, Pereira, Sacai, Watanabe, & Salomao, 2005).

A soma das respostas obtidas com o ERGmf não pode ser comparada com os registros do ERG de campo total, porque existem diferenças consideráveis entre as duas metodologias. Para o ERGmf a faixa de amplificação utilizada é de 10 Hz a 300 Hz, enquanto para o ERG de campo total varia de 1 Hz a 1000 Hz. No ERGmf os flashes possuem intervalos de apresentação próximos, enquanto no ERG de campo total, durante o estímulo fotópico, é necessário, no mínimo, um segundo de intervalo entre as apresentações dos flashes para que o sistema de cones se recupere. A diferença no intervalo entre as apresentações dos estímulos é representativa na análise e comparação entre os resultados dos dois paradigmas (Hood, 2000).

Os estímulos utilizados no ERGmf são hexagonais e aumentam em tamanho conforme se distanciam do centro (Figura 8). O tamanho de cada hexágono é inversamente proporcional à densidade de cones na região retiniana correspondente, proporcionando contribuição celular semelhante para todos os estímulos apresentados.

A seqüência pseudo-aleatória binária (seqüência-m) utilizada para apresentação dos estímulos ocorre em intervalos constantes chamados períodos base (bp). Por exemplo, se a razão de estimulação é 60 estímulos/segundos (60 Hz) o bp será sempre um múltiplo de 16,3 ms (Sutter, 2000). Cada hexágono é apresentado com o mesmo arranjo de estimulação e a mesma seqüência-m de apresentações em branco e preto, mas cada elemento do estímulo inicia sua apresentação em um ponto diferente da seqüência-m binária (Sutter, 1991).

Figura 8. Representação do arranjo de estímulos com 103 elementos hexagonais do eletroretinograma multifocal.

As respostas de primeira ordem são as correlações entre a sequência-m de estimulação e o eletroretinograma registrado continuamente. As respostas geradas pelos registros do ERGmf não são respostas elétricas diretamente relacionadas a um determinado local da retina. As ondas produzidas pelo ERGmf são extrações matemáticas dos sinais, correlacionadas com o momento em que a região do estímulo estava iluminada (Marmor, Hood, Keating, Kondo, Seeliger, & Miyake, 2003). Os segmentos registrados formam um ciclo de respostas contínuo e a separação das

contribuições locais no registro são realizadas pela correlação entre o ciclo de respostas e a sequência-m, através de um algoritmo (Sutter, 1991).

Considerando que nos sistemas não lineares, a resposta a um determinado estímulo pode ter importante efeito nas respostas a estímulos subseqüentes, os registros de primeira ordem do ERGmf estão relacionados às respostas obtidas para os estímulos acesos e para os estímulos apagados, enquanto os registros de segunda ordem estão relacionados às respostas obtidas quando os estímulos mudam e às respostas obtidas quando os estímulos permanecem iguais, ou seja, as respostas de segunda ordem são dependentes dos estímulos precedentes (Hood, 2000; Keating, Parks, & Evans, 2000; Sutter, 2000).

Tipicamente, as respostas de primeira ordem do ERGmf são representadas em ondas bifásicas com uma deflexão inicial negativa (N1) seguida de um pico positivo (P1), e uma segunda deflexão negativa (N2) após o pico positivo (Figura 9). A amplitude de resposta de N1 é medida do início da linha de base até o ponto mais negativo da onda em N1, a amplitude de resposta de P1 é medida do ponto mais negativo em N1 até o ponto mais positivo em P1. O tempo implícito de N1 e P1 são medidos em ms desde o início do registro até o pico da resposta (Marmor et al., 2003).

O gráfico com arranjo de traços contém informações eletrorretinográficas de todas as áreas examinadas (Figura 10), mostrando as variações topográficas e a qualidade dos registros. Na região da mancha cega, um resultado com amplitudes menores e latências maiores pode ser observado.

Figura 9. Onda bifásica que representa os registros de primeira ordem do eletroretinograma multifocal, mostrando o método padrão recomendado pela ISCEV para as medidas de amplitude e tempo implícito do primeiro componente negativo (N1) e do primeiro componente positivo (P1). Modificada de Marmor et al. (2003).

Figura 10. Representação de ondas bifásicas para os registros com estimulação de 103 hexágonos. É possível observar as variações topográficas e a qualidade dos registros.

O gráfico colorido (Figura 11) mostra o mapa topográfico de densidade de respostas para cada região analisada. Em indivíduos saudáveis, há um pico central que representa a resposta foveal, e uma região com baixa densidade de respostas, que representa a papila do nervo óptico. As amplitudes podem ser medidas como valores absolutos ou como densidades de respostas, que é a amplitude absoluta dividida pela área em que a resposta foi provocada (em nV/grau²).

O paradigma do ERGmf permite obter registros isolados das vias ON e OFF (Kondo, Miyake, Horiguchi, Suzuki, & Tanikawa, 1998; Kondo & Miyake, 2000), analisar as contribuições dos cones L e M para a resposta do ERGmf (Albrecht, Jagle, Hood, & Sharpe, 2002; Kurtenbach, Heine, & Jagle, 2004), assim como analisar os potenciais oscilatórios (Bears Jr, Shimada, & Sutter, 2000) e avaliar o componente da papila do nervo óptico (Sutter & Marcus A. Bears Jr, 1999).

No presente trabalho o ERGmf foi utilizado para avaliar possíveis alterações em diferentes regiões da retina decorrentes da intoxicação por vapor de mercúrio. Utilizou-se o protocolo padrão recomendado pela *International Society of Clinical Electrophysiology of Vision*¹ com a apresentação de 103 elementos hexagonais de estimulação para avaliação de 25° de excentricidade da retina (Marmor et al., 2003).

¹ www.iscev.org

Figura 11. Gráfico de densidade de respostas para um sujeito saudável. O pico central representa a contribuição da região foveal da retina para os registros de primeira ordem. Podemos observar a diminuição da densidade de respostas na periferia, e densidade de respostas quase ausentes na região do nervo óptico.

2. Objetivos

- 1) Estudar o campo visual em indivíduos intoxicados por vapor de mercúrio através dos exames psicofísicos de campimetria computadorizada acromática e campimetria computadorizada azul-amarelo.
- 2) Estudar as respostas eletrofisiológicas em diferentes regiões da retina através do eletrorretinograma multifocal em indivíduos intoxicados por vapor de mercúrio.

3 Materiais e métodos

3.1 Sujeitos

Os procedimentos utilizados na pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (0606/CEPH) do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (CEPH-IP) em seis de dezembro de 2005 (Anexo A). O termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B) foi obtido de todos os sujeitos que participaram da pesquisa. Cada etapa da avaliação foi explicada ao voluntário antes da assinatura do termo de consentimento.

Todos os voluntários, pacientes e controles, foram submetidos a anamnese completa para registro de seus dados pessoais, histórico clínico e ocupacional. O exame oftalmológico, incluindo avaliação da acuidade visual, refração, medida da pressão intra-ocular, biomicroscopia e mapeamento de retina foi realizado em todos os voluntários antes de iniciar os testes.

Um grupo de 50 voluntários, ex-trabalhadores de fábricas de lâmpadas fluorescentes localizadas na cidade de São Paulo e ABC Paulista, foi encaminhado ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (IPUSP) com diagnóstico de mercurialismo crônico ocupacional pela Dra. Marcília de Araújo Medrado-Faria do Serviço de Saúde Ocupacional do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), após realização dos exames clínicos gerais e exame de dosagem de mercúrio na urina que constatarem a intoxicação mercurial.

Um grupo controle, constituído por alunos e funcionários da Universidade de São Paulo e seus familiares, e que era parte do banco de normas do laboratório, foi utilizado na pesquisa, respeitando os critérios de inclusão e exclusão. Os voluntários saudáveis autorizaram a utilização de seus dados no presente estudo através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

Os critérios de inclusão foram ausência de doenças oftalmológicas e/ou sistêmicas e acuidade visual de Snellen corrigida superior ou igual a 20/25, com refração entre -3,00 DE e +3,00 DE, considerando o equivalente esférico dos valores de astigmatismos associados.

Foram excluídos da análise dos resultados: sujeitos tabagistas e/ou etilistas, considerando os relatos durante a anamnese ($n = 5$); sujeitos com deficiência congênita para discriminação cromática, considerando os resultados do Cambridge Colour Test (Cambridge Research Systems, Rochester, UK) ($n = 2$); sujeitos com suspeita de glaucoma, considerando a pressão intra ocular e o exame de fundo de olho ($n = 3$); os sujeitos com doenças sistêmicas (hipertensão arterial ou diabetes), considerando os relatos durante a anamnese ($n = 2$); e os sujeitos que foram expostos a outras substâncias tóxicas no ambiente de trabalho ($n = 3$).

A tabela 1 apresenta os dados demográficos do grupo experimental, composto por 35 voluntários (30 homens), com idade entre 34 e 56 anos (média = $44,2 \pm 5,9$ anos). Os sujeitos assinalados com (*) na tabela 1 não realizaram eletrorretinograma multifocal, portanto, foram incluídos somente nas análises do campo visual.

Tabela 1. Informações demográficas dos pacientes incluídos na análise dos resultados.

Pacientes	Sexo	Idade	Exp (anos)	Afast (anos)	[Hg] urinário I	[Hg] urinário II
1	M	37,0	4,0	11,0	50,8	1,0
2	F	54,0	12,0	20,0	-	1,0
3	M	45,0	13,0	2,0	-	1,0
4	M	50,0	8,0	1,5	3,2	1,0
5	M	49,0	7,0	15,0	-	1,5
6	M	49,0	8,0	8,0	-	1,0
7	M	43,0	10,0	5,0	9,0	1,0
8	M	41,0	9,0	7,0	-	1,0
9	M	46,0	8,0	6,0	22,3	4,3
10	M	37,0	7,0	10,0	-	1,0
11	F	42,0	11,0	5,0	-	1,0
12	M	49,0	5,0	11,0	-	1,0
13	M	48,0	12,0	3,0	-	1,0
14	M	37,0	8,0	5,0	-	1,0
15	M	47,0	24,0	2,0	180,0	1,0
16	M	35,0	7,0	8,0	-	1,0
17	M	38,0	14,0	1,5	-	1,4
18	M	36,0	6,0	7,0	-	1,0
19	M	52,0	8,5	9,0	42,7	1,0
20	M	44,0	24,5	3,0	-	1,0
21	M	40,0	10,0	5,0	-	1,0
22	M	56,0	11,0	10,0	-	1,3
23	M	45,0	12,0	16,0	56,6	1,0
24	M	48,0	6,5	9,0	5,0	1,3
25*	M	34,0	9,0	6,0	-	1,8
26	M	45,0	12,0	9,0	66,0	1,0
27	F	38,0	12,0	5,0	1,2	2,1
28	F	45,0	1,0	5,0	-	1,0
29*	M	35,0	15,0	5,0	2,4	1,0
30	M	47,0	17,0	3,5	-	1,0
31	M	47,0	10,0	15,0	-	4,5
32	F	47,0	10,0	6,0	2,0	1,0
33*	M	51,0	8,0	7,0	29,8	1,0
34	M	39,0	6,5	13,0	134,7	3,3
35	M	51,0	8,0	9,0	-	1,0
Média		44,2	10,1	7,5	43,3	1,4
desvio padrão		5,9	4,7	4,4	53,9	0,9
mínimo		34,0	1,0	1,5	1,2	1,0
máximo		56,0	24,5	20,0	180,0	4,5

(*) realizaram só os exames de campo visual; Exp = período de exposição ao mercúrio; Afast = período de afastamento do ambiente de exposição; [Hg] urinária I = concentração urinária de mercúrio em µg/g creatinina no período da exposição ou com menos de um ano de afastamento; [Hg] urinária II = concentração urinária de mercúrio em µg/g creatinina na ocasião dos exames.

Tabela 2. Informações demográficas dos voluntários saudáveis para o grupo controle dos exames de campo visual e do exame de eletrorretinograma multifocal.

Campo Visual	Idade	Sexo	ERGmf	Idade	Sexo
1	30,0	F	1	48,0	M
2	46,0	F	2	26,0	F
3	53,0	M	3	46,0	F
4	48,0	M	4	39,0	F
5	49,0	M	5	50,0	F
6	60,0	F	6	42,0	M
7	30,0	M	7	47,0	M
8	39,0	F	8	52,0	F
9	46,0	F	9	47,0	F
10	38,0	F	10	42,0	M
11	41,0	M	11	45,0	F
12	47,0	M	12	25,0	F
13	39,0	F	13	35,0	M
14	49,0	M	14	41,0	F
15	45,0	M	15	32,0	M
16	47,0	M	16	36,0	F
17	42,0	M	17	53,0	M
18	39,0	F	18	50,0	F
19	44,0	F	19	55,0	M
20	45,0	M	20	45,0	M
21	29,0	M	21	58,0	M
22	31,0	M	-	-	-
23	37,0	F	-	-	-
24	35,0	M	-	-	-
25	32,0	M	-	-	-
26	52,0	M	-	-	-
27	55,0	M	-	-	-
28	39,0	F	-	-	-
29	49,0	F	-	-	-
30	48,0	F	-	-	-
31	42,0	M	-	-	-
32	55,0	M	-	-	-
33	58,0	M	-	-	-
34	33,0	M	-	-	-
Média	43,3	21 M	Média	43,5	10 M
desvio padrão	8,3	13 F	desvio padrão	8,9	11 F
mínimo	29,0	N = 34	mínimo	25,0	N = 21
máximo	60,0		máximo	58,0	

A tabela 2 apresenta os dados demográficos dos voluntários saudáveis para os testes de campo visual ($n = 34$; idade média $43,3 \pm 8,3$; 21 homens) e para o exame de eletrorretinograma multifocal ($n = 21$; idade média $43,5 \pm 8,9$; 10 homens). Entre os

voluntários saudáveis 12 sujeitos (idade média $46,4 \pm 7,2$; 8 homens) realizaram ambos os testes e estão incluídos no grupo controle para análise do campo visual e do eletrorretinograma multifocal.

3.2 Campimetria Computadorizada

A campimetria computadorizada é um teste psicofísico que mede a sensibilidade visual para detecção de luz em diferentes pontos do campo visual, monocularmente. O campímetro computadorizado utilizado foi *Humphrey Field Analyzer II – model 750i* (Humphrey Instruments, San Leandro, USA) (Figura 12).

O programa permite estímulos de $0,25 \text{ mm}^2$ (mira I) até 64 mm^2 (mira V). O tamanho do estímulo é escolhido antes do início do teste e será o mesmo até o final da sessão. A cor do estímulo também deve ser previamente selecionada, e pode ser acromática, vermelha (comprimento de onda 718 nm) ou azul (comprimento de onda 440 nm).

Figura 12. Foto do equipamento utilizado para os exames de campo visual (Humphrey Instruments, San Leandro, USA).

O teste *Threshold*, no qual o limiar é medido através da apresentação de pontos luminosos de intensidades variáveis ao redor de uma área pré-estabelecida, foi utilizado em duas estratégias, *Full threshold* e *Sita-Standard*, que são amplamente utilizadas na rotina clínica. O pacote estatístico (STATPAC) permite a comparação dos resultados com um modelo para limiares de sensibilidade normais em cada ponto testado, comparando os resultados com uma “ilha de visão” em população normal da mesma faixa etária. Permite determinar defeitos de campo visual e comparar os resultados de um mesmo sujeito, para acompanhamento das condições visuais em patologias progressivas, ou para avaliar a eficiência de alguns medicamentos no tratamento de determinadas doenças como o glaucoma, por exemplo.

Na estratégia *Full Threshold* um estímulo que seria esperado para a idade do observador, é inicialmente apresentado. Se o observador perceber o estímulo e

responder positivamente, a intensidade do estímulo é diminuída de 4 em 4 dB até o observador não perceber mais. Posteriormente, o estímulo aumenta de 4 em 4 dB até o observador perceber novamente. Em seguida, o estímulo é diminuído em 2 dB até alcançar resposta positiva e determinar o limiar. Primeiramente, são determinados os limiares de quatro pontos em 9º de excentricidade. Os resultados desses pontos influenciam a determinação dos estímulos iniciais nos pontos vizinhos. Essa estratégia foi utilizada no presente estudo para o teste azul-amarelo.

Na estratégia *Swedish Interactive Threshold Algorithm* (Sita-Standard), o tempo de teste é reduzido pela metade sem comprometer sua confiabilidade e eficácia, porque utiliza mais informação por unidade de tempo. O número de estímulos apresentados é 29% menor comparado com a estratégia *Full Threshold* e é um paradigma psicofísico mais confiável para medida de limiares localizados. Entre as modificações que proporcionam redução no tempo do teste, a estratégia utiliza informações sobre pontos ao redor e sobre valores de limiares em controles de mesma faixa etária, promove mudanças nos passos do teste dependendo das respostas do observador e elimina a retestagem utilizada em 10 pontos para calcular a flutuação de curto prazo que é feita no Full Threshold (Bengtsson, Olsson, Heijl, & Rootzén, 1997). No equipamento utilizado no presente estudo, essa estratégia só pode ser aplicada com estímulo acromático para a mira III, por isso não foi utilizada no teste azul-amarelo.

Os resultados dos limiares de sensibilidade visual são apresentados em decibéis. O decibel (dB) é uma unidade logarítmica que expressa a razão entre duas

grandezas. No caso de estímulos visuais, compara a intensidade de uma luz apresentada com a intensidade de uma luz referência. A quantidade em dB será igual a 10 vezes o logaritmo decimal da relação entre duas grandezas.

Os valores de intensidade dos estímulos são apresentados em apostilbs (asb). Um asb equivale a, aproximadamente, 0,32 cd/m². A intensidade máxima do estímulo acromático é de 10000 asb, que representa 0 dB. A comparação entre apostilbs e dB é diferente para os estímulos cromáticos, porque 0 dB representa brilho máximo para os estímulos azul e vermelho, embora a intensidade seja menor que 10000 asb. A intensidade da luz de fundo varia conforme o teste, para o teste acromático é, aproximadamente, 31,5 asb (10 cd/m²), e para o teste azul-amarelo é, aproximadamente, 314,2 asb (100 cd/m²). Os valores em asb convertidos para decibéis, facilita a análise dos valores. Por exemplo, um limiar de 0 dB indica que um estímulo com alta intensidade (10000 asb) não foi percebido pelo observador e, portanto, não há sensibilidade visual para detecção daquela intensidade de luz naquele ponto².

Para monitorar a fixação do observador, a mira de fixação, localizada no centro da cúpula, funciona também como uma câmera para o experimentador. Além disso, o *gaze track* promove o monitoramento automático da direção do olhar, e periodicamente, durante a apresentação dos estímulos, é apresentado um estímulo na região da mancha cega, se o observador estiver fixando corretamente não perceberá esse estímulo.

² http://www.opt.indiana.edu/riley/HomePage/Automated_Perimetry/Text_Auto_perm.html

O resultado do exame é dado em valores numéricos (em dB) para os limiares de todos os pontos testados. O índice global *Mean Deviation* (MD) representa a elevação (valores positivos) ou depressão (valores negativos) média de um determinado resultado comparado com o campo visual referência inserido no banco de normas do equipamento. Se o resultado encontra-se afastado dos valores de normalidade um valor indicará a probabilidade de haver na população esse tipo de redução, por exemplo, $p < 2\%$ significa que menos de 2% da população normal demonstra o MD encontrado em determinado teste. Um MD reduzido indica depressão total ou perda significativa em grande parte do campo, por isso é relativamente insensível para detectar defeitos localizados, mas é fortemente afetado por defeitos generalizados.

O índice global *Pattern Standard Deviation* (PSD) representa o afastamento em que a superfície do campo visual de um determinado observador se afasta do campo visual referência, de mesma faixa etária, inserido no banco de normas do equipamento. Um valor baixo de PSD indica que a superfície encontra-se regular e semelhante a superfície do campo visual referência. Um valor alto de PSD indica irregularidade na superfície do campo visual, e também haverá um valor indicando a probabilidade de haver na população esse tipo de alteração, por exemplo, $p < 2\%$ significa que menos de 2% da população normal demonstra o PSD encontrado em determinado teste. É relativamente insensível para detectar reduções generalizadas, mas é fortemente afetado por defeitos localizados.

Dois protocolos de avaliação do campo visual foram aplicados em ambos os grupos: exame acromático (Central 30-2 Sita-Standard) e exame azul-amarelo

(Central 30-2 Full Threshold). Em ambos os testes foram avaliados 77 pontos, um ponto foveal e 19 pontos em cada quadrante (temporal superior e inferior, e nasal superior e inferior), compreendendo uma área de 27° do campo visual central. A tabela 3 apresenta os parâmetros utilizados em cada protocolo utilizado.

Tabela 3. Parâmetros utilizados para os exames de campimetria computadorizada acromático e azul-amarelo.

	exame acromático	exame azul-amarelo
estímulo		
tamanho (graus)	0,43	1,72
tamanho (mm ²)	4	64
cor/ λ (nm)	-	440
duração (mseg)	200	200
fundo		
intensidade (cd/m ²)	10	100

No teste acromático (Central 30-2 Sita-standard) pontos de luz acromática de 4 mm² (0,43° a 30 cm) e intensidades variáveis, são apresentados sobre um fundo de luz acromática de intensidade constante (10 cd/m²). No teste azul-amarelo (Central 30-2 Full Threshold) pontos de luz azul com comprimento de onda de 440 nm de 64 mm² (1,72° a 30 cm) e intensidades variáveis, são apresentados sobre um fundo de luz amarela de intensidade constante (100 cd/m²).

Cada teste é composto por duas etapas. A primeira etapa avalia o limiar de sensibilidade visual na fóvea e a informação dada ao observador é: “manter o olho fixo no centro de quatro pontos luminosos situados abaixo do ponto de fixação central e apertar o botão todas as vezes que perceber uma luz fraca ou forte piscando”.

Após a definição do limiar de sensibilidade foveal, o limiar de sensibilidade para cada região é determinado. É informado ao observador: “o ponto de fixação muda de posição, mais centralizado, e as luzes que antes só apareciam em uma pequena região, agora podem piscar em qualquer região dentro da cúpula, às vezes mais fracas e às vezes mais fortes, e o botão deve ser apertado quando perceber qualquer estímulo luminoso que apareça em qualquer região da cúpula”. Também foi informado ao observador: “olho e cabeça devem permanecer imóveis, mas piscar o olho durante o teste é permitido”.

Ambos os testes foram realizados em sala escura, após adaptação de 20 minutos ao escuro. O observador foi posicionado em frente ao aparelho, mantendo a cabeça reta com o queixo e a testa em apoios apropriados.

A correção óptica adequada foi utilizada para a distância do exame de 30 cm. O olho examinado permaneceu fixando um ponto central localizado dentro da cúpula e o outro olho permaneceu totalmente ocluído. Durante todo o teste, o observador permaneceu segurando um botão de respostas. A ordem dos testes e o primeiro olho testado foi diferente para cada observador e escolhido aleatoriamente, para evitar que o efeito da aprendizagem tivesse influência nos resultados.

Intervalos de descanso entre os testes e entre os olhos, foram dados para evitar o comprometimento do teste devido a fadiga. O tempo de duração do exame varia

conforme o desempenho do observador. A estratégia Sita-Standard, utilizada no teste padrão acromático, possui tempo de duração inferior ao da estratégia Full Threshold, utilizada para o teste azul-amarelo.

3.3 Eletrorretinograma Multifocal

O eletrorretinograma multifocal (ERGmf) é um exame eletrofisiológico para registros de respostas celulares que permite a avaliação, não invasiva, das funções retinianas. O sistema utilizado, *Visual Evoked Response Imaging System VERIS™* Science 5.0 (Electro-Diagnostic Imaging, San Mateo, USA), foi desenvolvido por Erich Sutter e colaboradores (Sutter, 1991; Sutter et al., 1992).

O padrão de estímulos na ERGmf foi designado para compensar as diferenças locais na densidade dos fotorreceptores, através de um arranjo de estímulos hexagonais com tamanhos inversamente proporcionais ao gradiente de densidade dos cones. Na Figura 13, arranjo de estimulação utilizado, os números dentro dos hexágonos indicam a largura (em graus²) para cada elemento de estimulação. O arranjo de estímulos subentende uma área retiniana de, aproximadamente, 50° de largura e 40° de altura da retina central (horizontalmente, 25° a partir da fôvea).

Figura 13. Representação dos 103 elementos hexagonais do arranjo de estimulação utilizado. O número dentro de cada hexágono indica a largura da região retiniana estimulada por cada elemento hexagonal (em graus²). Modificada de Kawabata & dachi-Usami (1997). (Kawabata & dachi-Usami, 1997).

Durante o exame, os 103 elementos hexagonais com alto contraste (99% e luminância média 100 cd/m²), foram apresentados alternadamente numa sequência pseudo-aleatória entre apagado (0,45 cd/m²) e aceso (280 cd/m²), modulada de acordo com a sequência-m binária. Cada hexágono tinha a probabilidade de 50% de aparecer branco ou preto em cada mudança do estímulo. Todos os hexágonos no arranjo foram apresentados com a mesma sequência, mas cada hexágono iniciou a apresentação de

um ponto diferente. A sequência rápida de apresentação dos estímulos, denominada OF, permite uma frequência temporal de 60 Hz ou 1 estímulo a cada 16,3 msec.

Um micro monitor de alta resolução foi utilizado na apresentação dos estímulos. A luminância da região ao redor do arranjo de estímulos foi de 100 cd/m². Um X central foi utilizado como ponto de fixação. O micro monitor de estimulação, permitiu um ajuste óptico, realizado pelo próprio observador, para correção de erros refrativos, e o olho contralateral permaneceu totalmente ocluído.

O acompanhamento da fixação em tempo real durante todo o registro, foi realizado através de uma câmera refratora e de uma câmera de fundo incorporada em miniatura ao micro monitor de estimulação. A qualidade dos registros foi observada durante o exame, e os segmentos contaminados devido à movimentação ocular ou outros artefatos foram rejeitados e reavaliados. O tempo total de medida foi, aproximadamente, 4 minutos divididos em 8 segmentos de estimulação de, aproximadamente, 30 segundos.

Os sinais elétricos foram detectados por um eletrodo bipolar em forma de lente de contato Burian-Allen (Hansen Laboratories, Iowa City, USA). Para os registros do ERGmf, esse eletrodo possui melhor razão sinal-ruído quando comparado com o eletrodo unipolar DTL (Bock, Andrassi, Belitsky, & renz, 1999). O olho examinado foi previamente anestesiado com proparacaína hidrocloridate, e foi utilizada metilcelulose a 2% para proteger a superfície da córnea. O eletrodo de registro foi colocado na superfície da córnea, e um eletrodo terra foi colocado no lóbulo da orelha.

Os sinais elétricos foram amplificados (100.000 vezes) pelo processador de sinais *Grass P511J preamplifier* (Grass Instrument, Quincy, USA). Os registros analisados foram filtrados em frequências de 10 a 300 Hz e digitalizados em 1200 Hz. Os parâmetros de amplificação e filtragem, assim como o efeito de restringir a filtragem, são recomendados pela *International Society of Clinical Electrophysiology of Vision*¹ (ISCEV). Os sinais elétricos amplificados foram registrados por um computador (Macintosh, Apple, Cupertino, USA), e foram convertidos e analisados pelo programa VERIS.

Antes do exame, foi realizada dilatação prévia das pupilas com tropicamina 1% e fenilefrina hydrochloride 2,5%, conforme as recomendações da ISCEV. As luzes da sala permaneceram acesas durante todo o exame. A informação dada ao observador foi “mater o olho fixo no X vermelho central durante todo o teste, e a cabeça em posição reta e imóvel”. O observador também foi informado sobre o tempo de duração do teste e se houvesse qualquer desconforto, o exame seria interrompido imediatamente através da solicitação do observador.

3.4 Análise dos resultados

Os parâmetros analisados em ambos os testes de campo visual (acromático e azul-amarelo) foram: índices globais (*mean deviation e pattern Standard deviation*) gerados automaticamente através da comparação com o banco de normas do equipamento; média dos limiares de sensibilidade para diferentes anéis concentricos

de excentricidades desde 0° (limiar foveal) até 27° do campo visual central (Figura 14); média dos limiares de sensibilidade visual de cada quadrante (Figura 15), temporal superior (1), temporal inferior (2), nasal superior (3) e nasal inferior (4).

Através da análise de correlação entre os padrões de estimulação e os sinais registrados, 103 respostas eletrorretinográficas focais foram extraídas. Três configurações de apresentação das respostas de primeira ordem foram utilizadas para as análises de N1 e P1 (Figura 16) conforme as normas recomendadas pela ISCEV: ondas dos 103 ERGs focais extraídos, apresentadas topograficamente (Figura 17), a partir das médias normalizadas de amplitudes (em nV) e tempo implícito (mseg) que representam as respostas em cada região; médias de densidade de respostas para 6 anéis concêntricos (Figura 18) representando as amplitudes (em nV) e o tempo implícito (em mseg) para cada agrupamento; e densidade de respostas para cada elemento do arranjo de estímulos representada tridimensionalmente (Figura 19).

Figura 14. Diagrama mostrando os anéis concêntricos para 6 regiões analisadas de 0 a 27 graus no campo visual central. Os resultados são representados pela média dos limiares de sensibilidade visual de cada ponto dentro de um dado anel, sendo que o limiar foveal é representado por um único ponto central.

Figura 15. Diagrama mostrando a posição no campo visual para os diferentes quadrantes analisados. Os resultados são representados pela média dos limiares de sensibilidade visual de cada ponto dentro do quadrante. O limiar foveal não foi incluído na análise. O diagrama exemplifica um resultado para o olho direito: 1) quadrante temporal superior; 2) quadrante temporal inferior; 3) quadrante nasal superior; 4) quadrante nasal inferior.

Figura 16. Onda bifásica que representa os registros de primeira ordem do eletroretinograma multifocal, mostrando o método padrão recomendado pela ISCEV para as medidas de amplitude e tempo implícito do primeiro componente negativo (N1) e do primeiro componente positivo (P1). Modificada de Marmor et al. (2003).

Figura 17. Diagrama mostrando a posição na retina para cada onda bifásica de resposta focal analisada.

Figura 18. Diagrama mostrando a posição na retina para os seis anéis concêntricos analisados. Os resultados são representados pela média das respostas de cada hexágono dentro de um dado anel. A resposta foveal é representada pela porção central e os anéis concêntricos correspondem a diferentes excentricidades. Modificada de Kawabata & dachi-Usami (1997).

Figura 19. Gráfico tridimensional da densidade de respostas para 103 elementos hexagonais de estimulação.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa *Statistica 6.0* (StatSoft, Inc., USA). Para comparação de resultados do mesmo grupo, foi utilizado o teste estatístico *Sign*, que é uma alternativa não-paramétrica para o teste t em amostras dependentes. Para comparação entre os grupos, foi utilizado o teste *Mann-Whitney U*, que é uma alternativa não-paramétrica para o teste t em amostras independentes (considerado significativo). Para análises de correlação, adotamos o coeficiente de correlação de *Spearman*. Foram considerados como significativos os valores de $p \leq 0,05$, valores de $Z > 2,0$ e valores de $R > 0,35$. Um sujeito externo ao trabalho sorteou um dos olhos de cada participante da pesquisa. Para todos os parâmetros analisados, os resultados do olho sorteado foram utilizados na análise estatística. Os dados individuais de todos os parâmetros analisados dos participantes da pesquisa de ambos os grupos encontram-se no Apêndice A.

A escolha de testes não-paramétricos para as análises dos resultados é justificada pela distribuição dos dados que foi avaliada através do *Shapiro-Wilk test* (Shapiro, Wilk, & Chen, 1968). Na Figura 20 observa-se que a distribuição dos dados pode ser considerada normal em alguns parâmetros, como nos resultados dos limiares foveais do exame de campimetria computadorizada acromático para o grupo controle (A) e para os pacientes (B), mas a distribuição dos dados não é normal para a maioria dos parâmetros, como nos resultados dos limiares foveais do exame de campimetria computadorizada azul-amarelo (Figura 21) para o grupo controle (A) e para os pacientes (B). A distribuição de algumas variáveis de ambos os grupos foram analisadas e os respectivos histogramas encontram-se no Apêndice B.

Figura 20. Histograma da distribuição de dados para o limiar de sensibilidade foveal medido através do exame de campimetria computadorizada acromático para os sujeitos do grupo controle (A) e para os pacientes (B), mostrando que em alguns parâmetros a distribuição dos dados pode ser considerada normal; p calculado com *Shapiro-Wilk test*.

Figura 21. Histograma da distribuição de dados para o limiar de sensibilidade foveal medido através do exame de campimetria computadorizada azul-amarelo para os sujeitos do grupo controle (A) e para os pacientes (B), mostrando que em muitos parâmetros a distribuição dos dados não é considerada normal; p calculado com *Shapiro-Wilk test*.

4 Resultados

4.1 Campo Visual

Não houve diferença estatística na comparação entre os olhos (olho direito versus olho esquerdo) para os pacientes ($p > 0,05$) e para os controles ($p > 0,45$). Também não houve diferença estatística significativa em relação ao gênero (pacientes, $p > 0,37$; controles, $p > 0,06$) ou para as diferentes faixas etárias ($p > 0,07$).

A comparação dos resultados entre pacientes e controles mostra redução estatisticamente significativa para ambos os testes de campo visual (acromático e azul-amarelo) nos índices globais *mean deviation* - MD ($p < 0,01$) e *pattern standard deviation* - PSD ($p < 0,01$). A tabela 4 apresenta a média $\pm$ desvio padrão dos resultados de controles e pacientes e os valores de Z e de p para a análise estatística dos índices globais.

Tabela 4. Média dos resultados para os índices globais do campo visual acromático e azul-amarelo.

	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de p
campo visual acromático				
<i>mean deviation</i>	$-0,7 \pm 1,2$	$-3,3 \pm 2,8$	5,24	0,001
<i>pattern standard deviation</i>	$1,9 \pm 0,5$	$3,1 \pm 2,0$	3,98	0,001
campo visual azul-amarelo				
<i>mean deviation</i>	$-1,6 \pm 1,7$	$-5,1 \pm 4,0$	4,10	0,001
<i>pattern standard deviation</i>	$2,7 \pm 0,7$	$3,7 \pm 1,1$	4,29	0,001

Dados representados por média $\pm$ desvio padrão (dB); p calculado com *Maan-Whitney U test* (não paramétrico).

Considerando a faixa de normalidade como a média dos resultados dos controles $\pm$ um desvio padrão, no teste acromático 23 dos 35 pacientes (66%) apresentaram resultados para o *mean deviation* abaixo dos limites inferiores, e 18 dos 35 pacientes (51%) apresentaram os resultados para o *pattern standard deviation* abaixo dos limites inferiores. Enquanto para o teste azul-amarelo, resultados abaixo do esperado para o *mean deviation* e o *pattern standard deviation*, foram encontrados em 22 dos 35 pacientes (63%).

Tabela 5. Média das sensibilidades para região foveal e para as médias da sensibilidade em cinco regiões de diferentes excentricidades para o teste acromático e para o teste azul-amarelo.

	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de p
campo visual acromático				
sensibilidade foveal	36,2 $\pm$ 1,6	34,9 $\pm$ 2,2	2.60	0.010
média do anel em 3 graus	32,9 $\pm$ 1,3	30,1 $\pm$ 1,8	4.45	0,001
média do anel em 9 graus	31,9 $\pm$ 1,3	29,7 $\pm$ 2,0	4.96	0,001
média do anel em 15 graus	29,0 $\pm$ 1,5	26,3 $\pm$ 2,8	5.24	0,001
média do anel em 21 graus	28,9 $\pm$ 1,6	25,6 $\pm$ 3,9	4.75	0,001
média do anel em 27 graus	27,1 $\pm$ 2,1	23,1 $\pm$ 4,6	4.29	0,001
	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de p
campo visual azul-amarelo				
sensibilidade foveal	23,1 $\pm$ 3,8	24,8 $\pm$ 3,6	1.60	0.111
média do anel em 3 graus	26,4 $\pm$ 2,1	23,6 $\pm$ 3,5	3.14	0.002
média do anel em 9 graus	25,2 $\pm$ 2,3	22,2 $\pm$ 4,2	3.24	0.002
média do anel em 15 graus	22,1 $\pm$ 2,2	18,6 $\pm$ 4,5	3.32	0,001
média do anel em 21 graus	21,0 $\pm$ 2,5	16,5 $\pm$ 4,8	4.16	0,001
média do anel em 27 graus	18,7 $\pm$ 3,6	13,9 $\pm$ 4,8	4.26	0,001

Dados representados por médias $\pm$ desvio padrão (dB); p calculado com *Maan-Whitney U test* (não paramétrico); nos limiares de sensibilidade foveal para o exame azul-amarelo não houve diferença estatística significativa.

Figura 22. Resultados do teste de campo visual acromático. Média dos limiares em 6 regiões concêntricas. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa em todas as regiões do campo visual ($p < 0,02$).

Figura 23. Resultados do teste de campo visual azul-amarelo. Média dos limiares em 6 regiões concêntricas. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa para os anéis concêntricos ($p < 0,01$), exceto no limiar foveal ($p = 0,11$).

A tabela 5 mostra que para o teste acromático (Figura 22) houve redução significativa da sensibilidade foveal ($p < 0,01$), assim como em todos os anéis concêntricos ($p < 0,01$). Para o teste azul-amarelo (Figura 23), houve redução significativa em todos os anéis concêntricos ($p < 0,01$), exceto para o limiar de sensibilidade foveal ($p = 0,11$).

Para a análise da média dos limiares em cada quadrante, a redução no resultados dos pacientes se confirma (Figura 24) para ambos os testes de campo visual (acromático, $p < 0,01$ e azul-amarelo, $p < 0,05$). A porcentagem de pacientes abaixo dos limites inferiores mostra-se semelhante para os diferentes quadrantes, como esperado, mas também apresenta semelhança entre os testes acromático e azul-amarelo. A tabela 6 apresenta a média $\pm$ desvio padrão dos resultados de controles e pacientes, a diferença entre os resultados e o valor de p para a análise de cada quadrante.

Não houve diferença estatística significativa entre os resultados dos pacientes ($N = 18$; idade média = $43,7 \pm 6,5$; 17 homens) com menor tempo de exposição ao mercúrio (até 10 anos) e os resultados dos pacientes ($N = 17$; idade média = $44,8 \pm 5,4$; 13 homens) com maior tempo de exposição ao mercúrio (mais de 10 anos) para ambos os testes de campo visual ($p > 0,18$).

Tabela 6. Média das sensibilidades em cada quadrante analisado para o exame de campimetria computadorizada acromático e azul-amarelo.

	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de <i>p</i>
campo visual acromático				
quadrante temporal superior	29,0 ± 1,7	26,1 ± 4,0	4.09	0,001
quadrante temporal inferior	28,9 ± 1,2	26,7 ± 2,2	4.93	0,001
quadrante nasal superior	29,5 ± 1,9	27,1 ± 3,3	3.63	0,001
quadrante nasal inferior	30,5 ± 1,6	28,1 ± 2,8	4.43	0,001
campo visual azul-amarelo				
quadrante temporal superior	21,0 ± 2,7	17,1 ± 4,3	3.85	0,001
quadrante temporal inferior	22,8 ± 2,4	19,4 ± 3,9	3.69	0,001
quadrante nasal superior	21,5 ± 2,9	17,1 ± 5,1	3.70	0,001
quadrante nasal inferior	23,8 ± 2,8	21,1 ± 5,0	2.05	0,041

Dados representados por média ± desvio padrão (dB); *p* calculado com *Maan-Whitney U test* (não paramétrico).

Figura 24. Resultados de ambos os testes de campo visual. Média dos limiares para cada quadrante: TS = temporal superior; TI = temporal inferior; NS = nasal superior; NI = nasal inferior. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média ± 1dp dos controles. Os resultados dos 35 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados abaixo dos limites inferiores. Houve redução significativa em todas as regiões do campo visual ($p < 0,05$).

Assim como, não houve diferença estatística significativa entre os resultados dos pacientes (N = 9; idade média = $45,9 \pm 7,1$; 8 homens) com maior tempo de afastamento do mercúrio (mais de 10 anos) e os resultados dos pacientes (N = 26; idade média = $43,6 \pm 5,5$; 22 homens) com menor tempo de afastamento do mercúrio até 10 anos) para ambos os testes de campo visual ($p > 0,09$).

Não houve correlação ($p > 0,05$) entre o tempo de exposição e o tempo de afastamento do mercúrio com os resultados de ambos os testes de campo visual (acromático e azul-amarelo). A concentração de mercúrio na urina medida logo após o afastamento, e a concentração de mercúrio na urina medida na ocasião dos testes não tiveram correlação com os resultados dos exames de campo visual (acromático $p = 0,71$ e azul-amarelo $p = 0,64$).

4.2 Eletrorretinograma multifocal

No grupo dos pacientes, não houve diferença estatística na comparação entre o olho direito e o olho esquerdo ($p > 0,05$), e no grupo controle apenas um dos olhos foi avaliado. Não houve diferença estatística na comparação entre os gêneros para o grupo controle ($p > 0,06$).

Houve redução estatística significativa nos resultados dos pacientes para as amplitudes de N1 ($Z = 2,19$; $p < 0,03$) e P1 ($Z = 2,13$; $p < 0,04$) em 5° , e para as amplitudes de N1 ($Z = 2,07$; $p < 0,04$) e P1 ($Z = 2,01$; $p < 0,05$) em 10° ($p < 0,05$). Em 15° houve redução da amplitude de N1 ($Z = 2,50$; $p < 0,02$). Em 20° os resultados de amplitudes dos pacientes para N1 e para P1 tiveram uma tendência de redução nos valores de amplitude ($p = 0,053$), mas não observou-se significância estatística. Para os valores médios de tempo implícito, os pacientes apresentaram resultados semelhantes aos do grupo controle (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Média dos resultados de amplitude e tempo implícito de N1 para as respostas foveais e para as médias das respostas em cinco regiões concêntricas de diferentes excentricidades.

	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de <i>p</i>
N 1 - amplitude				
resposta foveal	-31,6 ± 10,2	-27,2 ± 7,2	1,65	0,099
média do anel em 5 graus	-18,9 ± 5,5	-15,3 ± 4,4	2,19	0,028
média do anel em 10 graus	-12,9 ± 4,5	-10,1 ± 2,9	2,07	0,038
média do anel em 15 graus	-9,7 ± 3,2	-7,5 ± 2,1	2,50	0,012
média do anel em 20 graus	-7,6 ± 2,8	-6,1 ± 1,7	1,93	0,053
média do anel em 25 graus	-7,0 ± 2,4	-6,3 ± 1,7	0,96	0,335
N 1 - tempo implícito				
resposta foveal	18,2 ± 1,8	18,4 ± 1,5	0,57	0,567
média do anel em 5 graus	17,4 ± 0,7	17,4 ± 1,1	0,11	0,913
média do anel em 10 graus	15,9 ± 0,7	16,2 ± 0,9	1,10	0,271
média do anel em 15 graus	15,2 ± 0,6	15,5 ± 0,8	1,19	0,233
média do anel em 20 graus	15,3 ± 0,6	15,8 ± 0,8	2,19	0,028
média do anel em 25 graus	15,5 ± 0,6	15,8 ± 0,7	0,95	0,339

Dados representados por médias ± desvio padrão (amplitudes em nV e tempo implícito em mseg); *p* calculado com *Maan-Whitney U test* (não paramétrico).

As figuras 27 e 28 mostram as faixas de normalidade obtidas com os resultados de amplitudes de resposta dos controles, através da média ± 1 desvio padrão, e os resultados dos pacientes apresentados individualmente. As figuras 29 e 30 apresentam as faixas de normalidade obtidas com os resultados de tempo implícito dos controles, através da média ± 1 desvio padrão, e os resultados dos pacientes apresentados individualmente.

Tabela 8. Média dos resultados de amplitude e tempo implícito de P1 para as respostas foveais e para as médias das respostas em cinco regiões concêntricas de diferentes excentricidades.

	Controles	Pacientes	Valores de Z	Valores de <i>p</i>
P 1 - amplitude				
resposta foveal	55,8 ± 21,1	43,7 ± 13,7	1,85	0,099
média do anel em 5 graus	31,8 ± 10,9	24,5 ± 6,7	2,13	0,033
média do anel em 10 graus	23,5 ± 8,7	18,2 ± 4,7	2,01	0,045
média do anel em 15 graus	19,7 ± 7,3	15,8 ± 3,8	1,60	0,108
média do anel em 20 graus	16,8 ± 6,5	13,4 ± 3,3	1,46	0,053
média do anel em 25 graus	16,6 ± 6,0	14,8 ± 3,7	0,60	0,335
P 1 - tempo implícito				
resposta foveal	31,2 ± 1,5	31,9 ± 2,2	1,01	0,567
média do anel em 5 graus	30,8 ± 0,7	31,3 ± 1,3	1,35	0,913
média do anel em 10 graus	30,0 ± 0,7	30,1 ± 0,7	0,53	0,271
média do anel em 15 graus	29,7 ± 0,5	29,6 ± 0,6	0,15	0,233
média do anel em 20 graus	29,7 ± 0,5	29,7 ± 0,6	0,24	0,584
média do anel em 25 graus	30,0 ± 0,7	30,1 ± 0,5	0,60	0,339

Dados representados por médias ± desvio padrão (amplitudes em nV e tempo implícito em msec); *p* calculado com *Maan-Whitney U test* (não paramétrico).

A figura 25 representa as ondas bifásicas obtidas para cada anel concêntrico (0° até 25°) através da média dos resultados do grupo controle (em azul) e dos pacientes (em preto). Observa-se alteração no formato da onda do grupo dos pacientes em relação ao grupo controle.

A figura 26 é a representação topográfica da densidade de respostas em 25° da retina central para os pacientes (B) e para os controles (C). Observa-se que as respostas dos pacientes encontram-se reduzidas em todas as regiões analisadas. Através do gráfico da diferença (A) observa-se que a região central parece demonstrar redução.

Figura 25. Resultados das respostas de primeira ordem do eletrorretinograma multifocal para as seis regiões analisadas em anéis concêntricos. Os resultados dos controles estão representados em azul e os resultados dos pacientes estão representados em preto. Podemos observar alterações no formato das ondas bifásicas do grupo dos pacientes em relação ao grupo controle.

Figura 26. Gráfico tridimensional da densidade de respostas para o grupo de pacientes (B) e para o grupo controle (C). Em A podemos observar a diferença de densidade de respostas entre os grupos.

Figura 27. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de amplitude de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites inferiores. Houve redução significativa em 5° ($p < 0,03$), em 10° ($p < 0,04$), e em 15° ($p < 0,02$).

Figura 28. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de amplitude de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites inferiores. Houve redução significativa em 5° ($p < 0,04$), e em 10° ($p < 0,05$).

Figura 29. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de tempo implícito de N1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites superiores. Não houve diferença estatística significativa.

Figura 30. Resultados do eletrorretinograma multifocal para os valores de tempo implícito de P1 para a média das respostas em 6 regiões. Para os limites superiores e inferiores (barras cinzas) considerou-se a média $\pm$ 1dp dos controles. Os resultados dos 32 pacientes estão apresentados individualmente. Observa-se (acima) a % de pacientes com resultados fora dos limites superiores. Não houve diferença estatística significativa.

Não houve diferença estatística significativa entre os resultados dos pacientes com tempo de exposição ao mercúrio de até 10 anos ($N = 16$; idade média = $43,8 \pm 6,2$; 15 homens) e os resultados dos pacientes com tempo de exposição ao mercúrio de mais de 10 anos ($N = 16$; idade média = $45,4 \pm 4,9$; 12 homens) para o ERGmf ($p > 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa entre os resultados dos pacientes com tempo de afastamento do mercúrio de 10 anos ou mais ($N = 9$; idade média = $45,9 \pm 7,1$; 8 homens) e os resultados dos pacientes com tempo de afastamento do mercúrio inferior a 10 anos ($N = 23$; idade média = $44,1 \pm 4,9$; 19 homens) para o ERGmf ($p > 0,06$).

Para os 24 parâmetros analisados (amplitude e tempo implícito de N1 e P1 para seis anéis concêntricos em diferentes excentricidades) não houve correlação entre tempo de exposição ($p > 0,05$) ou afastamento ($p > 0,08$) do mercúrio. Não houve correlação entre os resultados do índice de mercúrio urinário com os resultados obtidos ($p > 0,08$).

5 Discussão

Os resultados apresentados no presente estudo mostram pela primeira vez, ao nosso conhecimento, prejuízos no campo visual relacionados com intoxicação por vapor de mercúrio. Diversos trabalhos que investigaram os aspectos neuro-oftalmológicos na intoxicação mercurial foram realizados nas décadas passadas em sujeitos intoxicados por metilmercúrio através da alimentação devido ao acidente ambiental na Baía de Minamata (Japão) na década de 1950 (Iwata et al., 1986; Mukuno, Ishikawa, & Okamura, 1981; Tokuomi, Uchino, Imamura, Yamanaga, Nakanishi, & Ideta, 1982; Tsutsui, Fukai, Ogata, Murata, & Teruya, 1972; Uchino, Tanaka, Ando, Yonehara, Hara, Mishima, Okajima, & Ando, 1995). Alguns desses trabalhos encontraram constrição do campo visual periférico na intoxicação por metilmercúrio (Korogi et al., 1997; Okajima, 1972; Okamura, 1982), mas até o momento não se conhecia os efeitos dos prejuízos neuro-oftalmológicos causados pelo vapor de mercúrio no campo visual.

No exame de campimetria computadorizada acromático, nossos resultados mostraram que os sujeitos expostos cronicamente ao vapor de mercúrio durante um período de 10 anos, em média, apresentam redução da sensibilidade visual em todas as regiões do campo visual que foram investigadas (27° do campo visual central). A sensibilidade visual para detecção de luz mostrou-se reduzida inclusive para os limiares de sensibilidade foveal, concordando com resultados preliminares de

alterações das funções visuais mediadas pela visão central tanto na intoxicação por metilmercúrio (Grandjean, White, Sullivan, Debes, Murata, Otto, & Weihe, 2001; Rodrigues et al., 2007; Silveira et al., 2003a) como na intoxicação vapor de mercúrio (Cavalleri et al., 1995; Feitosa-Santana et al., 2007a; Rodrigues et al., 2007; Silveira et al., 2003a; Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005).

No exame de campimetria computadorizada acromático, os resultados para as 5 regiões avaliadas em diferentes excentricidades (3°, 9°, 15°, 21° e 27°), além da foveal, mostraram redução significativa nos limiares de sensibilidade visual dos pacientes em relação aos controles. Esses resultados concordam com os trabalhos preliminares que demonstram redução da sensibilidade no campo visual periférico nos pacientes diagnosticados com a doença de Minamata devido a intoxicação por metilmercúrio (Okajima, 1972; Okamura, 1982).

Trabalhos anteriores mostraram lesões corticais na intoxicação por metilmercúrio que podem ocorrer por diferentes mecanismos neurotóxicos (Aschner et al., 2007; Chang, 1977), inclusive nas regiões calcarinas do córtex visual (Charleston et al., 1995). Os prejuízos no campo visual periférico decorrentes da intoxicação por metilmercúrio na doença de Minamata, foram correlacionados com as lesões encontradas nas regiões calcarinas através do exame de Ressonância Magnética (Korogi et al., 1994; Korogi et al., 1997; Korogi et al., 1998).

O sulco calcarino, assim como outros sulcos do córtex cerebral, estão afetados na intoxicação por metilmercúrio devido aos prejuízos degenerativos das células (Hunter et al., 1954). Nas regiões visuais do córtex cerebral, incluindo o sulco calcarino, o metilmercúrio provoca alterações celulares decorrente da intoxicação

mercurial mesmo em doses consideradas subclínicas (Charleston et al., 1994; Charleston et al., 1995). O padrão de distribuição do mercúrio no cérebro de ratos expostos a baixas doses de vapor de mercúrio é semelhante ao padrão encontrado em animais que foram intoxicados por metilmercúrio (Warfvinge, Hua, & Berlin, 1992), mas não se conhece, ao certo, as áreas corticais preferencialmente afetadas na exposição crônica ao vapor de mercúrio.

Os resultados do exame de campimetria computadorizada azul-amarelo confirmam os resultados do exame acromático, exceto para a medida foveal, que mostrou redução da sensibilidade visual em diferentes regiões do campo visual (3°; 9°; 15°; 21° e 27°). Embora não existam correlações estatísticas entre os resultados dos exames de campo visual, a porcentagem de sujeitos que encontram-se fora dos limites de normalidade para cada parâmetro são semelhantes para ambos os testes.

Ao nosso conhecimento, não há trabalhos de avaliação do campo visual com a metodologia azul-amarelo relacionado com intoxicação mercurial, seja por metilmercúrio ou por vapor de mercúrio. Essa metodologia, foi inicialmente desenvolvida para detectar precocemente os prejuízos causados pelo glaucoma (Polo et al., 2001; Sample & Weinreb, 1992), baseada em trabalhos que sugerem maior sensibilidade dos cones sensíveis a comprimentos de onda curtos nas mudanças da pressão intra ocular (Heron, Adams, & Husted, 1988; Wild, 2001).

Trabalho realizado com sujeitos expostos ao vapor de mercúrio em indústrias de reciclagem a níveis considerados dentro dos limites de segurança aceitáveis, mostraram prejuízos mais acentuados no exame acromático em relação ao exame azul-amarelo, sugerindo que os prejuízos encontrados no exame de campimetria

computadorizada azul-amarelo, no caso de intoxicação por vapor de mercúrio, parecem não preceder as alterações encontradas no exame acromático (ver nossos resultados em Barboni et al., 2007b).

No exame azul-amarelo, os resultados dos limiares de sensibilidade foveal dos pacientes e do grupo controle, ao contrário dos resultados do exame acromático, foram semelhantes. Esse dado pode ser explicado devido a escassez de cones sensíveis a comprimentos de onda curtos na região foveal (Calkins, 2001; Curcio, Allen, Sloan, Lerea, Hurley, Klock, & Milam, 1991; Roorda et al., 1999). A escassez de cones S na região foveal pode estar relacionada com a maior variabilidade nos valores obtidos para o limiar foveal no grupo controle (ver limites de normalidade na figura 23), quando comparado com as outras excentricidades avaliadas.

A redução na sensibilidade visual para diferentes regiões do campo visual encontrada através da metodologia psicofísica de campimetria computadorizada, mostra prejuízos no sistema visual decorrentes da intoxicação por vapor de mercúrio. Nesse caso, não se pode especificar as estruturas afetadas, porque a metodologia utilizada não permite isolar regiões da via visual e, conseqüentemente, não permite localizar as regiões específicas que o mercúrio estaria prejudicando preferencialmente.

Um trabalho mostrou que sujeitos expostos ocupacionalmente ao vapor de mercúrio possuem alterações corticais significativas no exame de eletroencefalograma (EEG), os resultados apresentam redução das respostas fisiológicas de atividade encefalográfica para estímulos intermitentes de luz piscante (Urban et al., 2003b). Na intoxicação crônica ao metilmercúrio, foram observados casos de atrofia cerebral e

aumento, compensatório, do fluido cerebral. A atrofia mostrou-se mais evidente na região medial dos lobos occipitais, particularmente nas fissuras calcarinas (Chang, 1977). Não foram encontrados trabalhos na literatura demonstrando prejuízos em regiões específicas da via visual decorrente da exposição ao vapor de mercúrio em humanos.

Utilizando a metodologia eletrofisiológica dos potenciais visuais corticais provocados, que é uma variação do eletroencefalograma quando obtido através de estimulação visual e registros do córtex occipital, os efeitos tóxicos do vapor de mercúrio para o sistema visual humano podem ser avaliados. Através da avaliação monocular para estímulos acromáticos de padrão reverso em forma de tabuleiro de xadrez com frequência temporal de 1,5 Hz, sujeitos ocupacionalmente expostos ao vapor de mercúrio mostraram redução na latência das respostas corticais, ou seja, diminuição na velocidade de condução nervosa, durante o período de exposição (Urban et al., 1996).

Através da avaliação monocular para estímulos acromáticos de padrão reverso em forma de grades senoidais com frequência temporal de 6 Hz, registros de potenciais visuais corticais provocados de varredura foram realizados no mesmo grupo de sujeitos do presente estudo. Os resultados mostraram redução das respostas corticais nas frequências espaciais de 0,8, 2,0 e 4,0 cpg em sujeitos afastados da fonte de exposição do vapor de mercúrio (Costa et al., 2007b; Ventura et al., 2005), concordando com os resultados de Urban et al. (1996) de alterações dos potenciais visuais corticais provocados em sujeitos que encontravam-se expostos ao vapor de mercúrio.

Trabalho realizado com ratos mostrou que o acúmulo de mercúrio no cerebelo, após exposição ao vapor de mercúrio, afeta preferencialmente as células de Purkinje (Warfvinge et al., 1992). De fato, sabe-se que o sistema nervoso central é um alvo crítico para o acúmulo de mercúrio mesmo após exposição a concentrações moderadas de vapor de mercúrio, e que dependendo da região investigada, o acúmulo de mercúrio pode ocorrer preferencialmente em determinados tecidos (Berlin, Jerksell, & Ubisch, 1966). Em primatas não humanos expostos ao vapor de mercúrio durante o período gestacional, o mercúrio acumulou-se em diferentes camadas do lobo occipital (Warfvinge, Hua, & Logdberg, 1994), e na retina o acúmulo de mercúrio ocorreu principalmente no disco óptico, no epitélio pigmentar, nas paredes dos capilares e nos diversos neurônios retinianos (Warfvinge et al., 1996; Warfvinge et al., 2000).

Dois trabalhos realizados com peixes mostraram importantes resultados sobre os mecanismos nos quais o metilmercúrio prejudica as células da retina. Através de registros eletrofisiológicos intracelulares da atividade de neurônios da retina, as respostas de células horizontais monofásicas, que refletem as atividades dos cones, foram estudadas em retina de peixes intoxicados por diferentes doses de metilmercúrio. Houve diminuição das respostas celulares em baixas doses de intoxicação, sugerindo que o sistema dos cones encontra-se prejudicado na intoxicação por metilmercúrio. Nas doses agudas de intoxicação, houve completa eliminação das respostas celulares, mostrando que as células horizontais monofásicas são afetadas de forma dose-dependente pelo metilmercúrio (Tanan et al., 2006). Na avaliação morfológica da retina de peixes intoxicados por metilmercúrio, houve

redução na quantidade de células amácrinas e bipolares, com diferentes sensibilidades para os dois tipos celulares. A redução no número de células observadas é dose-dependente para células amácrinas, mas não para as células bipolares, sugerindo que os diferentes tipos celulares podem ter níveis distintos de sensibilidade na intoxicação mercurial (Bonci et al., 2006).

Um estudo preliminar realizado com o mesmo grupo de sujeitos do presente estudo mostrou pela primeira vez resultados do eletrorretinograma em pacientes intoxicados por vapor de mercúrio. Os resultados obtidos no eletrorretinograma de campo total mostraram redução dos valores de amplitude da onda b para as respostas escotópicas e para a resposta máxima após adaptação ao escuro, também houve redução significativa para os valores de amplitude da soma dos potenciais oscilatórios. Esses resultados sugerem que tanto a retina externa como a retina interna estão envolvidas nos prejuízos visuais de sujeitos expostos ao vapor de mercúrio. Assim como, cones e bastonetes estão envolvidos nos prejuízos retinianos, porque a alteração nos resultados do eletrorretinograma de campo total ocorreram em condições fotópicas e escotópicas. No mesmo trabalho foram avaliados 10 pacientes intoxicados por vapor de mercúrio através da metodologia do eletrorretinograma multifocal, os resultados mostraram redução nas amplitudes de respostas em regiões centrais da retina, o que reflete prejuízos nas respostas mediadas pela via dos cones e confirmam os resultados encontrados no eletrorretinograma de campo total (Ventura et al., 2004).

Outro trabalho mais recente realizou avaliação eletrofisiológica da retina em dois sujeitos expostos ao vapor de mercúrio por trabalharem como mineradores no

garimpo do ouro na Amazônia. Essa atividade é a forma mais comum de intoxicação por vapor de mercúrio no estado do Pará (Brasil). Os resultados encontrados concordam com os resultados de Ventura et al. (2004), mostrando alterações do eletrorretinograma padrão tanto para as amplitudes de respostas como para o tempo implícito, na exposição ao vapor de mercúrio (Costa et al., 2007a).

No presente estudo, o exame de eletrorretinograma multifocal foi aplicado em 32 dos 35 indivíduos que realizaram os exames de campimetria computadorizada. Os resultados do eletrorretinograma multifocal mostraram tendência a diminuição da amplitude de respostas em todas as regiões analisadas para os componentes N1 e P1 que foram analisados de acordo com as normas da ISCEV, enquanto o tempo implícito mostrou-se semelhante entre os dois grupos.

Para os resultados de amplitude e tempo implícito do primeiro componente negativo (N1), houve redução estatisticamente significativa nos valores de amplitude para os anéis de 5°, 10° e 15°. Essa redução da amplitude de N1, sem comprometimento no tempo implícito de resposta, pode estar associada com prejuízos das células bipolares do tipo OFF (Hood, 2000; Hood, Frishman, Saszik, & Viswanathan, 2002). Para os resultados de amplitude e tempo implícito do primeiro componente positivo (P1) houve redução estatisticamente significativa dos valores de amplitude para os anéis de 5° e 10°, que pode estar associada a prejuízos em células que fazem parte do segmento externo da retina, como os fotorreceptores (Hood, 2000; Hood et al., 2002). Os prejuízos causados pela intoxicação ao vapor de mercúrio na retina parecem ser difusos, considerando que a redução de amplitude de respostas de N1 e P1 pode indicar perdas nos diferentes grupos celulares da retina.

A metodologia do eletrorretinograma multifocal foi desenvolvida para se obter registros eletrofisiológicos da retina, com a possibilidade de isolar a contribuição local de determinadas regiões da retina para o registro total e, dessa maneira, construir um mapa topográfico da atividade elétrica da retina através de um procedimento não invasivo em humanos (Sutter, 1991; Sutter et al., 1992). Assim como se observa em muitos registros eletrofisiológicos, os resultados do eletrorretinograma multifocal mostraram grande variabilidade de resultados, principalmente nas respostas foveais, inclusive para o grupo controle. A média dos valores de amplitude dos pacientes encontra-se reduzida em comparação a média dos controles, mesmo nas regiões onde não foram observadas diferenças estatísticas significativas.

Na região paracentral (ou parafoveal) houve diferença estatisticamente significativa dos valores de amplitude de respostas (de 5° até 15° para N1 e de 5° até 10° para P1), indicando que nessas regiões, entre a fóvea e o nervo óptico, pode haver seletividade para os prejuízos que o vapor de mercúrio causa na retina. Segundo Warfvinge et al. (1996), que avaliou depósitos de mercúrio na retina de primatas não humanos após exposição ao vapor de mercúrio, uma quantidade considerável de mercúrio foi encontrada nas células ganglionares, nas paredes dos capilares, e em outros tipos de células, dependendo do nível de intoxicação, na região entre a fóvea e o disco óptico. A região paracentral mostrou a maior quantidade de acúmulo de mercúrio na retina desses animais, com diminuição da quantidade de mercúrio acumulado nas regiões periféricas da retina (Warfvinge et al., 1996).

Na exposição crônica ao mercúrio, as alterações visuais podem não ser identificadas através do exame oftalmológico, porque a acuidade visual e os meios

ópticos parecem estar preservados. Não foram encontrados estudos mostrando prejuízos de acuidade visual ou alterações na biomicroscopia decorrentes da intoxicação mercurial. Um trabalho realizado com sujeitos intoxicados por mercúrio orgânico, descreveu depósitos de pigmentos em volta do disco óptico, hiperemia e contornos mal definidos no disco óptico, observados no exame de fundo de olho (Sabelaish et al., 1976). No presente estudo nenhuma dessas manifestações oculares foram observadas durante a avaliação oftalmológica.

O grupo de pacientes avaliados no presente estudo foram expostos ao vapor de mercúrio por um período de 10 anos, em média, mas na ocasião dos testes estavam afastados do local de trabalho por um período de 7,5 anos, em média. Os resultados aqui apresentados sugerem que a exposição crônica ao vapor de mercúrio causa prejuízos visuais que permanecem mesmo anos após o afastamento da fonte expositora, confirmando os resultados de avaliação longitudinal da visão de cores, no mesmo grupo de pacientes do presente estudo, que mostrou prejuízos semelhantes na visão de cores em duas avaliações realizadas com três anos de intervalo, sugerindo que alguns prejuízos sensoriais causados pelo vapor de mercúrio parecem ser irreversíveis (Feitosa-Santana, Simoes, Paramei, Costa, Silveira, & Ventura, 2007b).

Não houve correlação entre os resultados dos exames com o tempo de exposição ao vapor de mercúrio, com o tempo de afastamento da fonte expositora, com a concentração urinária de mercúrio na época da exposição ou após cessada a exposição, o que pode estar relacionado com as características individuais de cada organismo. A proporção de oxidação do vapor de mercúrio depende, entre outros fatores, da concentração de catalase no tecido e da produção endógena de hidrogênio

peroxidase, dessa forma, a intoxicação por vapor de mercúrio pode ser mais grave ou menos grave dependendo da susceptibilidade do organismo (Atchison et al., 1994; Barregard et al., 1992; Magos, 1967; WHO, 2003).

Embora alguns autores demonstraram evidências da relação entre as concentrações de mercúrio no ambiente de trabalho e na urina de trabalhadores expostos ao vapor de mercúrio (Roels, Abdeladim, Ceulemans, & Lauwerys, 1987), outros autores encontraram prejuízos visuais sem correlação com as concentrações de mercúrio urinário na época da exposição ou após cessada a exposição (Cavalleri & Gobba, 1998; Costa et al., 2007b; Feitosa-Santana et al., 2007a; Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005).

O estudo realizado nessa dissertação buscou investigar as alterações visuais, em diferentes regiões do campo visual, em indivíduos que foram expostos cronicamente ao vapor de mercúrio, além de investigar as relações entre os aspectos perceptuais, avaliados psicofisicamente através do exame de campimetria computadorizada, e as medidas objetivas da atividade retiniana, através dos registros eletrofisiológicos.

Os aspectos neuro-ofthalmológicos na intoxicação por metilmercúrio foram inicialmente investigados por Okajima et al. (1972) no Japão, com as medidas de campo visual nos sujeitos com a doença de Minamata. A perda de porções significativas do campo visual periférico constitui um achado típico da doença de Minamata. Em alguns estudos esses prejuízos foram descritos como constrição do campo visual (Iwata, 1973; Iwata et al., 1986), em outros estudos esses prejuízos foram considerados como depressão do campo visual periférico (Okamura, 1982).

As medidas do campo visual para investigar os aspectos neuro-oftalmológicos da intoxicação mercurial também foram realizadas por (Sabelaish et al., 1976), em sujeitos contaminados por compostos organomercuriais no Iraque no início da década de 1970. Os resultados de constrição do campo visual encontrados nesses sujeitos, estão de acordo com os resultados encontrados nos sujeitos com a doença de Minamata.

As avaliações do campo visual em sujeitos intoxicados por mercúrio encontradas na literatura estão relacionadas com intoxicação por metilmercúrio. Sabendo que o nível de interação do mercúrio com o organismo, compreendendo sua absorção, distribuição, metabolismo e excreção, assim como sua toxicidade, variam em função da forma química, das vias de contaminação, da lipossolubilidade, da dose e do tempo de exposição (WHO, 1991; WHO, 2003), buscou-se investigar os prejuízos de campo visual decorrentes da exposição crônica ao vapor de mercúrio. Os nossos resultados de redução da sensibilidade em regiões centrais e paracentrais do campo visual pode refletir os diferentes mecanismos patológicos entre a intoxicação por metilmercúrio, com evidências de redução da sensibilidade visual no campo periférico, e a intoxicação por vapor de mercúrio.

Embora não existem correlações estatísticas entre os resultados dos exames de campo visual e do exame de eletrorretinograma multifocal, a redução no limiar de sensibilidade para as regiões do campo visual e a redução da amplitude de respostas no eletrorretinograma multifocal ocorrem, principalmente, na região paracentral. Para ambos os testes, a maior porcentagem de sujeitos com resultados fora dos limites da normalidade ocorreu nos parâmetros entre 3° e 15° de excentricidade.

Baseado em trabalho que mostrou alterações corticais em primatas não humanos relacionadas com a exposição ao vapor de mercúrio (Warfvinge et al., 1994), nossos resultados sugerem que parte das alterações de campo visual, encontradas no presente estudo, podem estar relacionadas com alterações no córtex visual. No entanto, os resultados obtidos através do eletrorretinograma multifocal sugerem que parte dos prejuízos de campo visual causados pela exposição ao vapor de mercúrio possui origem retiniana, concordando com os resultados preliminares de avaliação do eletrorretinogram de campo total e o trabalho preliminar de avaliação do eletrorretinograma multifocal (Ventura et al., 2004).

O mercúrio é uma potente neurotoxina que causa prejuízos sensoriais, aparentemente, irreversíveis. A quantidade de mercúrio liberado anualmente para o ambiente como resultado da atividade humana pode alcançar 2/3 do total de mercúrio encontrado normalmente no ambiente. Em áreas específicas onde há atividade industrial com utilização do mercúrio, essa quantidade pode ser 200000 vezes maior (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999). Considerando esses dados, milhares de pessoas podem encontrar-se expostas a altos níveis de mercúrio no ambiente de trabalho. O nível de mercúrio encontrado na atmosfera deveria ser muito baixo para que não houvesse risco para saúde das pessoas, entretanto, a liberação de mercúrio tem resultado em níveis atuais que são de 3 a 6 vezes mais altos que os níveis estimados na atmosfera dois séculos atrás.

Os resultados apresentados nessa dissertação estão de acordo com os diversos trabalhos preliminares citados durante o texto, que mostram os potenciais riscos da exposição ao mercúrio para o sistema visual.

6. Conclusões

De acordo com os objetivos delimitados para este estudo, as conclusões obtidas foram as seguintes:

- 1) Os sujeitos expostos ocupacionalmente ao vapor de mercúrio durante um período de 10 anos (em média) apresentam redução da sensibilidade visual em diferentes regiões do campo visual, mesmo após 7 anos (em média) de afastamento da fonte expositora.
- 2) Os resultados do eletrorretinograma multifocal, sugerem que parte dos prejuízos visuais causados pela exposição crônica ocupacional ao vapor de mercúrio, possui origem retiniana, confirmando resultados preliminares que mostraram alterações para o eletrorretinograma de campo total e para o eletrorretinograma padrão.

Referências

- Abdenmour, C., Khelili, K., Boulakoud, M. S., Nezzal, A., Boubsil, S., & Slimani, S. (2002). Urinary markers of workers chronically exposed to mercury vapor. *Environmental Research*, 89, 245-249.
- American Conference of Governmental Industrial hygienists (ACGIH). (2001). Threshold limit value for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. *Cincinnati*.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1999). Toxicological profile for mercury. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Albrecht, J., Jagle, H., Hood, D. C., & Sharpe, L. T. (2002). The multifocal electroretinogram (mfERG) and cone isolating stimuli: variation in L- and M-cone driven signals across the retina. *Journal of Vision*, 2, 543-558.
- Aline, C. J., Supek, S., George, J. S., Ranken, D., Lewine, J., Sanders, J., Best, E., Tiee, W., Flynn, E. R., Wood, C. C. (1996). Retinotopic organization of human visual cortex: departures from the classical model. *Cerebral Cortex*, 6, 354-361.
- Altmann, L., Sveinsson, K., Kramer, U., Weishoff-Houben, M., Turfeld, M., Winneke, G. & Wiegand, H. (1998). Visual functions in 6-year-old children in relation to lead and mercury levels. *Neurotoxicology and Teratology*, 20, 9-17.
- Aschner, M. (1986). Changes in axonally transported proteins in the rat visual system following systemic methyl mercury exposure. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 59, 151-157.
- Aschner, M. & Aschner, J. L. (1990). Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 14, 169-176.
- Aschner, M., Rodier, P. M., & Finkelstein, J. N. (1987). Increased axonal transport in the rat optic system after systemic exposure to methyl mercury: differential effects in local vs systemic exposure conditions. *Brain Research*, 401, 132-141.
- Aschner, M., Syversen, T., Souza, D. O., Rocha, J. B. T., & Farina, M. (2007). Involvement of glutamate and reactive oxygen species in methylmercury

- neurotoxicity. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 285-291.
- Atchison, W. D. & Hare, M. F. (1994). Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity. *The FASEB Journal*, 8, 622-629.
- Azevedo, F. A. (2003). *Toxicologia do mercúrio*. São Carlos; São Paulo: InterTox.
- Azzopardi, P. & Cowey, A. (1996). The overrepresentation of the fovea and adjacent retina in the striate cortex and dorsal lateral geniculate nucleus of the macaque monkey. *Neuroscience*, 72, 627-639.
- Barboni, M. T. S., Costa, M. F., Moura, A. L. A., Feitosa-Santana, C., Gualtieri, M., Lago, M., Medrado-Faria, M. A., Silveira, L. C. L. & Ventura, D. F. (2007a). Visual field losses in workers exposed to mercury vapor. *Environmental Research*, no prelo.
- Barboni, M. T. S., Feitosa-Santana, C., Zachi, E. C., Lago, M., Teixeira, R. A., Taub, A., Costa, M. F., Ventura, D. F. (2007b). Visual dysfunctions in workers exposed to mercury vapor below the safe levels. In: *19th Symposium of the International Color Vision Society (ICVS 2007)*. Belém (PA).
- Barregard, L., Sallsten, G., Schutz, A., Attewell, R., Skerfving, S., & Jarvholm, B. (1992). Kinetics of mercury in blood and urine after brief occupational exposure. *Archives of Environmental Health*, 47, 176-179.
- Bast-Pettersen, R., Ellingsen, D. G., Efskind, J., JordsKogen, R., & Thomassen, Y. (2005). A neurobehavioral study of chloralkali workers after the cessation of exposure to mercury vapor. *Neurotoxicology*, 26, 427-437.
- Bearse Jr, M. A., Shimada, Y., & Sutter, E. E. (2000). Distribution of oscillatory components in the central retina. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 185-205.
- Bengtsson, B., olsson, J., Heijl, A., & Rootzén, H. (1997). A new generation of algorithms for computerized threshold perimetry SITA. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 75, 368-375.
- Berezovsky, A., Pereira, J. M., Sacai, P. Y., Watanabe, S. E. S., & Salomao, S. R. (2005). Physiological loss of retinal central function assessed by multifocal electroretinogram. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46.
- Berlin, M., Jerksell, L. G., & Ubisch, H. (1966). Uptake and retention of mercury in the mouse brain: A comparison of exposure to mercury vapor and intravenous injection of mercuric salt. *Archives of Environmental Health*, 12, 33-42.
- Bock, M., Andrassi, M., Belitsky, L., & renz, B. (1999). A comparison of two multifocal ERG systems. *Documenta Ophthalmologica*, 97, 157-178.

- Bonci, D. M. O., de Lima, S. M. A., Grotzner, S. R., Oliveira-Ribeiro, C. A., Hamassaki, D. E., & Ventura, D. F. (2006). Losses of immunoreactive parvalbumin amacrine and immunoreactive alfa-protein kinase C bipolar cells caused by methylmercury chloride intoxication in the retina of the tropical fish *Hoplias malabaricus*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39, 405-410.
- Brown, K. T. (1968). The electroretinogram: its components and their origins. *Vision Research*, 8, 633-677.
- Burbacher, T. M., Grant, K. S., Mayfield, D. B., Gilbert, S. G., & Rice, D. C. (2005). Prenatal methylmercury exposure affects spatial vision in adult monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 208, 21-28.
- Calkins, D. J. (2001). Seeing with S cones. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20, 255-287.
- Canto-Pereira, L. H. M., Lago, M., Costa, M. F., Rodrigues, A. R., Saito, C. A., Silveira, L. C. L. & Ventura, D. F. (2005). Visual impairment on dentists related to occupational mercury exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 517-522.
- Castoldi, A. F., Coccine, T., Ceccatelli, S., & Manzo, L. (2001). Neurotoxicity and molecular effects of methylmercury. *Brain Research Bulletin*, 55, 197-203.
- Cavalleri, A., Belotti, L., Gobba, F., Luzzana, G., Rosa, P., & Seghizzi, P. (1995). Colour vision loss in workers exposed to elemental mercury vapour. *Toxicology Letters*, 77, 351-356.
- Cavalleri, A. & Gobba, F. (1998). Reversible color vision loss in occupational exposure to metallic mercury. *Environmental Research*, 77, 173-177.
- Chang, L. W. (1977). Neurotoxic effects of mercury - A review. *Environmental Research*, 14, 329-373.
- Chang, L. W. & Hartmann, H. A. (1972a). Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication II. Pathological changes in the nerve fibers. *Acta neuropathologica*, 20, 316-334.
- Chang, L. W. & Hartmann, H. A. (1972b). Blood-brain barrier dysfunction in experimental mercury intoxication. *Acta neuropathologica*, 21, 179-184.
- Charleston, J. S., Body, R. L., Mottet, N. K., Vahter, M. E., & Burbacher, T. M. (1995). Autometallographic determination of inorganic mercury distribution in the cortex of the calcarine sulcus of the monkey *macaca fascicularis* following long-term subclinical exposure to methylmercury and mercuric chloride. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 132, 325-333.

- Charleston, J. S., Bolender, R. P., Mottet, N. K., Body, R. L., Vahter, M. E., & Burbacher, T. M. (1994). Increases in the number of reactive glia in the visual cortex of macaca fascicularis following subclinical long-term methyl mercury exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 129, 196-206.
- Clarkson, T. W. (1989). Mercury. *Journal of the American College of Toxicology*, 8, 1291-1296.
- Cornsweet, T. (1970). *Visual Perception*. Oxford: Academic Press.
- Costa, G. M., Anjos, L. M., Souza, G. S., Gomes, B. D., Saito, C. A., Pinheiro, M. C. N., Ventura, D. F., Silva-Filho, M., & Silveira, L. C. L. (2007). Mercury toxicity in Amazon gold miners: visual dysfunction assessed by retinal and cortical electrophysiology. *Environmental Research*, no prelo.
- Costa, M. F., Tomaz, S., de Souza, J. M., Silveira, L. C. L., & Ventura, D. F. (2007). Electrophysiological evidence for impairment of contrast sensitivity in mercury vapor occupational intoxication. *Environmental Research*, no prelo.
- Curcio, C. A., Allen, K. A., Sloan, K. R., Lerea, C. L., Hurley, J. B., Klock, I. B., & Milam, A. H. (1991). Distribution and morphology of human cone photoreceptors stained with anti-blue opsin. *Journal of Comp. Neurology*, 312, 610-624.
- Daniel, P. M. & Whitteridge, D. (1959). The representation of the visual field on the calcarine cortex in baboons and monkeys. *Journal of Physiology*, 148 suppl, 33-34.
- Daniel, P. M. & Whitteridge, D. (1961). The representation of the visual field on the cerebral cortex in monkeys. *Journal of Physiology*, 159, 203-221.
- Davson, H. (1980a). Neurophysiology of perception. In: H. Davson (Ed.), *Physiology of the eye* (pp. 542-630). New York: Churchill Livingstone.
- Davson, H. (1980b). Retinal structure and organization. In: H. Davson (Ed.), *Physiology of the eye* (pp. 167-177). New York: Churchill Livingstone.
- Dougherty, R. F., Koch, V. M., Brewer, A. A., Fischer, B., Modersitzki, J., & Wandell, B. A. (2003). Visual field representations and locations of visual areas V1/2/3 in human visual cortex. *Journal of Vision*, 3, 586-598.
- Ellingsen, D. G., Bast-Pettersen, R., Efskind, J., & Thomassen, Y. (2001). Neuropsychological effects of low mercury vapor exposure in chloralkali workers. *Neurotoxicology*, 22, 249-258.
- Ellingsen, D. G., Morland, T., Andersen, A. & Kjuus, H. (1993). Relation between exposure related indexes and neurological and neurophysiological effects in

- workers previously exposed to mercury vapor. *British Journal of Industrial Medicine*, 50, 736-744.
- Elliott, D. B., North, I., & Flanagan, J. (1997). Confrontation visual field tests. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 17, S17-S24.
- Erie, J. C., Butz, J. A., Good, J. A., Erie, E. A., Burritt, M. F., & Cameron, J. D. (2005). Heavy metal concentrations in human eyes. *American Journal of Ophthalmology*, 139, 888-893.
- Feitosa-Santana, C. (2005). *Reconstrução do espaço de cores em pacientes com discromatopsia adquirida: diabéticos tipo 2 e intoxicados por vapor de mercúrio*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.
- Feitosa-Santana, C., Costa, M. F., Lago, M., & Ventura, D. F. (2007a). Long-term loss of color vision after exposure to mercury vapor. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 409-414.
- Feitosa-Santana, C., Simoes, A. L., Paramei, G. V., Costa, M. F., Silveira, L. C. L., & Ventura, D. F. (2007b). Irreversible color vision losses in patients with chronic mercury vapor intoxication. In: *19th Symposium of the International Color Vision Society (ICVS 2007)*, Belém, PA.
- Fox, P. T., Miezin, F. M., Allman, J. M., Van Essen, D. C., & Raichle, M. E. (1987). Retinotopic organization of human visual cortex mapped with Positron-Emission Tomography. *The Journal of Neuroscience*, 7, 913-922.
- Galan, F. (1968). Normal fields of vision with goldmann perimetry. *Bibliotheca Ophthalmologica*, 52.
- Gilpin, L. B., Stewart, W. C., Hunt, H. H., & Broom, C. D. (1990). Threshold variability using different goldmann stimulus sizes. *Acta Ophthalmologica*, 68, 674-676.
- Gobba, F. (2000). Color vision: a sensitive indicator of exposure to neurotoxins. *Neurotoxicology*, 21, 857-862.
- Gobba, F. & Cavalleri, A. (2003). Color vision impairment in workers exposed to neurotoxic chemicals. *Neurotoxicology*, 24, 693-702.
- Gobba, F. & Cavalleri, A. (2000). Evolution of color vision loss induced by occupational exposure to chemicals. *Neurotoxicology*, 21, 777-781.
- Goto, Y., Shigematsu, J., Tobimatsu, S., Sakamoto, T., Kinukawa, N., & Kato, M. (2001). Different vulnerability of rat retinal cells to methylmercury exposure. *Current Eye Research*, 23, 171-178.

- Gouras, P. (1970). Electroretinography: Some basic principles. *Investigative Ophthalmology*, 9, 557-569.
- Grandjean, P., White, R. F., Sullivan, K., Debes, F., Murata, K., Otto, D. A., & Weihe, P. (2001). Impact of contrast sensitivity performance on visually presented neurobehavioral tests in mercury-exposed children. *Neurotoxicology and Teratology*, 23, 141-146.
- Halbach, S. & Clarkson, T. W. (1978). Enzymatic oxidation of mercury vapor by erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 523, 522-531.
- Harada, M. (1995). Minamata Disease - Methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Critical Reviews in Toxicology*, 25, 1-24.
- Hargreaves, R. J., Evans, J. G., Janota, I., Magos, L., & Cavanagh, J. B. (1988). Persistent mercury in nerve cells 16 years after metallicmercury poisoning. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 14, 443-452.
- Heron, G., Adams, A. J., & Husted, R. (1988). Central visual fields for short wavelength sensitive pathways in glaucoma and ocular hypertension. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 29, 64-72.
- Hood, D. C. (2000). Assessing retinal function with the multifocal technique. *Progress in Retinal and Eye Research*, 19, 607-646.
- Hood, D. C., Frishman, L. J., Saszik, S., & Viswanathan, S. (2002). Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, 1673-1685.
- Hood, D. C. & Zhang, X. (2000). Multifocal ERG and VEP responses and visual fields: comparing disease-related changes. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 115-137.
- Hotchkiss, M. L., Robin, A. L., Quigley, H. A., & Pollack, I. P. (1985). A comparison of peritest automated perimetry and goldmann perimetry. *Archives of Ophthalmology*, 103, 397-403.
- Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. (1960). Receptive fields of optic nerve fibres in the spider monkey. *Journal of Physiology London*, 154, 572-580.
- Hunter, D. & Russell, D. S. (1954). Focal cerebellar and cerebellar atrophy in a human subject due to organic mercury compounds. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 17, 235-241.

- Hursh, J. B., Greenwood, M. R., Clarkson, T. W., Allen, J., & Demuth, S. (1980). The effect of ethanol on the fate of mercury vapor inhaled by man. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 214, 520-527.
- Hursh, J. B., Sichak, S. P., & Clarkson, T. W. (1988). "In vitro" oxidation of mercury by blood. *Pharmacology & Toxicology*, 63, 266-273.
- Igata, A. (1993). Epidemiological and Clinical Features of Minamata Disease. *Environmental Research*, 63, 157-169.
- Ishikawa, S., Okamura, R., & Mukuno, K. (1979). A simple grating test for contrast sensitivity (Arden grating test) with Minamata disease. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 83, 336-343.
- Iwata, K. (1973). Neuroophthalmological findings and their transition of organic mercury poisoning, "Minamata disease", in Agano area of Niigata Prefecture. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 77, 1788-1834.
- Iwata, K. & Abe, H. (1986). Neuroophthalmological and pathological studies of organic mercury poisoning, "Minamata Disease" in Japan. In T.Tsubaki & H. Takahashi (Eds.), *Recent Advances in Minamata Disease Studies. Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan* (pp. 58-74). Tokyo: Kodansha.
- Kark, R. A. P. (1994). Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication. In: P. J. Vinken, G. W. Bruyn, & F. de Wolff (Eds.). *Intoxications of the nervous system: Part I*. Amsterdam: Elsevier Science.
- Kawabata, H. & dachi-Usami, E. (1997). Multifocal electroretinogram in myopia. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 38, 2844-2851.
- Keating, D., Parks, S., & Evans, A. (2000). Technical aspects of multifocal ERG recording. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 77-98.
- Keltner, J. & Johnson, C. (1995). Short-wavelength automated perimetry in neuro-ophthalmologic disorders. *Archives of Ophthalmology*, 113, 475-481.
- Kishi, R., Doi, R., Fukushi, Y., Satoh, H., Satoh, T., Ono, A., Moriwaka, F., Tashiro, K., Takahata, N., & The mercury workers study group (1993). Subjective symptoms and neurobehavioral performances of ex-mercury minners at an average of 18 years after the cessation of chronic exposure to mercury vapor. *Environmental Research*, 62, 289-302.
- Kolb, H. (2003). How the Retina Works. *American Scientist*, 91, 28-35.

- Kondo, M. & Miyake, Y. (2000). Assessment of local cone on- and off-pathway function using multifocal ERG technique. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 139-154.
- Kondo, M., Miyake, Y., Horiguchi, M., Suzuki, S., & Tanikawa, A. (1998). Recording multifocal electroretinogram on and off responses in humans. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 39, 574-580.
- Kondo, M., Miyake, Y., Kondo, N., Uedo, S., Takakuwa, H., & Terasaki, H. (2004). Peripheral cone dystrophy: a variant of cone dystrophy with predominant dysfunction in the peripheral cone system. *Ophthalmology*, 111, 732-739.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Hirai, T., Ikushima, I., Kitajima, M., Sugahara, T., Shigematsu, Y., Okajima, T., & Mukuno, K. (1997). Representation of the visual field in the striate cortex: comparison of MR findings with visual field deficits in organic mercury poisoning (Minamata disease). *AJNR American Journal of Neuroradiology*, 18, 1127-1130.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Okajima, T., & Eto, K. (1998). MR findings of Minamata disease - Organic mercury poisoning. *JMRI Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 8, 308-316.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Shinzato, J., & Okajima, T. (1994). MR findings in seven patients with organic mercury poisoning (Minamata disease). *AJNR American Journal of Neuroradiology*, 15, 1575-1578.
- Kosta, L., Byrne, A. R., & Zelenko, V. (1975). Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature*, 254, 238-239.
- Kretschmann, U., Bock, M., Gockeln, R., & Zrenner, E. (2000). Clinical applications of multifocal electroretinography. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 99-113.
- Kretschmann, U., Seeliger, M. W., Ruether, K., Usui, T., Apfelstedt-Sylla, E., & Zrenner, E. (1998). Multifocal electroretinography in patients with Stargardt's macular dystrophy. *British Journal of Ophthalmology*, 82, 267-275.
- Kretschmann, U., Stilling, R., Ruther, K., & Zrenner, E. (1999). Familial macular cone dystrophy: diagnostic value of multifocal ERG and two-color threshold perimetry. *Graefe's Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 237, 429-432.
- Kunimoto, M. (1994). Methylmercury induces apoptosis of rat cerebellar neurons in primary culture. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 204, 310-317.

- Kurtenbach, A., Heine, J., & Jagle, H. (2004). Multifocal electroretinogram in trichromat and dichromat observers under cone isolating conditions. *Visual Neuroscience*, 21, 249-255.
- Lago, M. (2005). *Sensibilidade ao contraste de luminância e cromático em pacientes intoxicados por vapor de mercúrio: evolução em dois anos*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.
- Langworth, S., Almkvist, O., Soderman, E., & Wikstrom, B. O. (1992). Effects of occupational exposure to mercury vapor on the central nervous system. *British Journal of Industrial Medicine*, 49, 545-555.
- Lebel, J., Mergler, D., Branches, F., Lucotte, M., Amorim, M., Larribe, F. & Dolbec, J. (1998). Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. *Environmental Research*, 79, 20-32.
- Lebel, J., Mergler, D., Lucotte, M., Amorim, M., Dolbec, J., Miranda, D., Arantes, G., Rheault, I. & Pichet, P. (1996). Evidence of early nervous system dysfunction in Amazonian populations exposed to low-levels of methylmercury. *Neurotoxicology*, 17, 157-167.
- Leonhardt, R., Pekel, M., Platt, B., Haas, H. L., & Busselberg, D. (1996). Voltage-activated calcium channel currents of rat DRG neurons are reduced by mercuric chloride (HgCl_2) and methylmercury (CH_3HgCl). *Neurotoxicology*, 17, 85-92.
- Levine, M. W. (2000). Light and the eye. In: *Fundamentals of Sensation and Perception* (pp. 28-47). Chicago: Oxford University Press.
- Magos, L. (1967). Mercury-blood interaction and mercury uptake by the brain after vapor exposure. *Environmental Research*, 1, 323-337.
- Magos, L. & Clarkson, T. W. (2006). Overview of the clinical toxicity of mercury. *Annals Clinical Biochemistry*, 43, 257-268.
- Magos, L., Halbach, S., & Clarkson, T. W. (1978). The effects of dose of elemental mercury and first-pass circulation time on exhalation and organ distribution of inorganic mercury in rats. *Biochimica et Biophysica Acta*, 991, 85-89.
- Magour, S. (1986). Studies on the inhibition of brains synaptosomal Na^+/K^+ -ATPase by mercury chloride and methyl mercury chloride. *Archives of Toxicology Supplement*, 9, 393-396.
- Marmor, M. F., Hood, D. C., Keating, D., Kondo, M., Seeliger, M. W., & Miyake, Y. (2003). Guidelines for basic multifocal electroretinography (mfERG). *Documenta Ophthalmologica*, 106, 105-115.

- Mavrikakis, I., Sfikakis, P. P., Mavrikakis, E., Rougas, K., Nikolaou, A., Kostopoulos, C., Mavikrakis, M. (2003). The incidence of irreversible retinal toxicity in patients treated with hydroxychloroquine: a reappraisal. *Ophthalmology*, 110, 1321-1326.
- McDonagh, J., Stephen, L. J., Dolan, F. M., Parks, S., Dutton, G. N., Kelly, K., Keating, D., Sills, G. J., Brodie, M. J. (2003). Peripheral retinal dysfunction in patients taking vigabatrin. *Neurology*, 61, 1690-1694.
- Medrado-Faria, M. A. (2003). Mercuralismo metálico crônico ocupacional. *Revista de Saude Publica*, 37, 116-127.
- Merigan, W. H. (1979). Effects of toxicants on visual systems. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 1, 15-22.
- Meyer-Baron, M., Schaeper, M., & Seeber, A. (2002). A meta-analysis for neurobehavioural results due to occupational mercury exposure. *Archives of Toxicology*, 76, 127-136.
- Mukuno, K., Ishikawa, S., & Okamura, R. (1981). Grating test of contrast sensitivity in patients with Minamata disease. *British Journal of Ophthalmology*, 65, 284-290.
- Nielsen-Kudsk, F. (1965). Absorption of mercury vapor from the respiratory tract in man. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 23, 250-262.
- Okajima (1972). Studies on the visual field of Minamata disease. *Japanese Medical Journal*, 2510.
- Okamura, R. (1982). Neuroophthalmological findings of organic mercury poisoning II. Visual field and eye movement. In: *Reports of studies on Minamata disease in Japan* (pp. 48-49). Japan Public Health Society Press.
- Pandit, R. J., Gales, K., & Griffiths, P. G. (2001). Effectiveness of testing visual fields by confrontation. *Lancet*, 358, 1339-1340.
- Pinheiro, M. C. N., Crespo-Lopez, M. E., Vieira, J. L. F., Oikawa, T., Guimaraes, G. A., Araújo, C. C., Amoras, W. W., Ribeiro, D. R., Herculano, A. M., do Nascimento, J. L. M. & Silveira, L. C. L. (2007). Mercury pollution and childhood in Amazon riverside villages. *Environment International*, 33, 56-61.
- Pinheiro, M. C. N., Muller, R. C. S., Sarkis, J. E., Vieira, J. L. F., Oikawa, T., Gomes, M. S. V., Guimaraes, G. A., do Nascimento, J. L. M. & Silveira, L. C. L. (2005). Mercury and selenium concentrations in hair samples of women in fertile age from Amazon riverside communities. *Science of the Total Environment*, 349, 284-288.

- Pinheiro, M. C. N., Oikawa, T., Vieira, J. L. F., Gomes, M. S. V., Guimaraes, G. A., Crespo-Lopez, M. E., Muller, R. C. S., Amoras, W. W., Ribeiro, D. R. G., Rodrigues, A. R. & Cortes, M. I. T. (2006). Comparative study of human exposure to mercury in riverside communities in the Amazon region. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39, 411-414.
- Polo, V., Larrosa, J. M., Pablo, L. E., Fernandez, F. J., & Honrubia, F. M. (2001). Extension and depth of perimetric defects: Comparison of short-wavelength automated perimetry vs conventional perimetry. *Annals of Ophthalmology*, 33, 221-224.
- Reader, A. L. & Harper, D. G. (1976). Confrontation visual field testing. *Journal of the American Medical Association*, 236, 250.
- Rice, D. C. & Gilbert, S. G. (1990). Effects of developmental exposure to methyl mercury on spatial and temporal visual function in monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 102, 151-163.
- Rice, D. C. & Gilbert, S. G. (1982). Early chronic low-level methylmercury poisoning in monkeys impairs spatial vision. *Science*, 216, 759-761.
- Rice, D. C. & Hayward, S. (1999). Comparison of visual function at adulthood and during aging in monkeys exposed to lead or methylmercury. *Neurotoxicology*, 20, 767-784.
- Riggs, L. A. (1986). Electroretinography. *Vision Research*, 26, 1443-1459.
- Rodieck, R. W. (1998). *The first steps in seeing*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Rodrigues, A. R., Botelho de Souza, C. R., Braga, A. M., Rodrigues, P. S. S., Silveira, A. T., Damin, E. T. B., Côrtes, M. I. T., Castro, A. J. O., Mello, G. A., Vieira, J. L. F., Pinheiro, M. C. N., Ventura, D. F., Silveira, L. C. L. (2007). Mercury toxicity: contrast sensitivity and color discrimination of subjects exposed to mercury. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 415-424.
- Roels, H., Abdeladim, S., Ceulemans, E., & Lauwerys, R. (1987). Relationships between the concentration of mercury in air and in blood or urine in workers exposed to mercury vapour. *Annals of Occupational Hygiene*, 31, 135-145.
- Roorda, A. & Williams, D. R. (1999). The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature*, 397, 520-522.
- Sabelaish, S. & Hilmi, G. (1976). Ocular manifestations of mercury poisoning. *Bulletin World Health Organization*, 53 suppl, 83-86.

- Saint-Amour, D., Roy, M. S., Bastien, C., Ayotte, P., Dewailly, E., Despres, C., Gingras, S., Muckle, G. (2006). Alterations of visual evoked potentials in preschool Inuit children exposed to methylmercury and polychlorinated biphenyls from a marine diet. *Neurotoxicology*, 27, 567-578.
- Sample, P. A. (2000). Short-Wavelength Automated Perimetry: It's role in the clinic and for understanding ganglion cell function. *Progress in Retinal and Eye Research*, 19, 369-383.
- Sample, P. A. & Weinreb, R. N. (1992). Progressive color visual field loss in glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 33, 2068-2071.
- Satoh, H. (2000). Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Industrial Health*, 38, 153-164.
- Schiefer, U., Patzold, J., & Dannheim, F. (2005). Conventional techniques of visual field examination. Part 2: confrontation visual field testing - kinetic perimetry. *Ophthalmologie*, 102, 821-827.
- Schwartz S. H. (2004). The Duplex retina. In: Schwartz S.H. (Ed.), *Visual Perception - a clinical orientation* (pp. 23-58). New York: McGraw-Hill.
- Shapiro, S. S., Wilk, M. B., & Chen, H. J. (1968). A comparative study of various tests of normality. *Journal of the American Statistical Association*, 63, 1343-1372.
- Sichak, S. P., Mavis, R. D., Finkelstein, J. N., & Clarkson, T. W. (1986). An examination of the oxidation of mercury vapor by rat brain homogenate. *Journal of Biochemistry and Toxicology*, 1, 53-68.
- Silveira, L. C. L., Damin, E. T. B., Pinheiro, M. C. N., Rodrigues, A. R., Moura, A. L. A., Côrtes, M. I. T. & Mello, G. A. (2003a). Visual dysfunction following mercury exposure by breathing mercury vapour or by eating mercury-contaminated food. In: J. D. Mollon, J. Pokorny & K. Knoblauch (Eds.). *Normal and defective color vision* (pp. 409-417). London: Oxford Press.
- Silveira, L. C. L., Saito, C. A., Lee, B. B., Kremers, J., da Silva, M., Kilavik, B. E., Yamada, E. S., & Perry, V. W. (2003b). Morphology and physiology of primate M- and P-cells. *Roots of Visual Awareness*, 144, 21-46.
- Silveira, L. C. L., Ventura, D. F., & Pinheiro, M. C. N. (2003c). Toxicidade Mercurial - Avaliação do sistema visual em indivíduos expostos a níveis tóxicos de mercúrio. *Ciência e Cultura*, 56, 36-38.
- Sirois, J. E. & Atchison, W. D. (1996). Effects of mercurials on ligand- and voltage-gated ion channels: a review. *Neurotoxicology*, 17, 63-84.

- Sutter, E. E. (2000). The interpretation of multifocal binary kernels. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 49-75.
- Sutter, E. E. (1991). The fast m-transform: a fast computation of cross-correlations with binary m-sequences. *Siam. J. Comput.*, 20, 686-694.
- Sutter, E. E. & Marcus A. Bearse Jr (1999). The optic nerve head component of the human ERG. *Vision Research*, 39, 419-436.
- Sutter, E. E. & Tran, D. (1992). The field topography of ERG components in man 1 The photopic luminance response. *Vision Research*, 32, 433-446.
- Tanan, C. L., Ventura, D. F., de Souza, J. M., Grotzner, S. R., Mela, M., Gouveia, A., Oliveira-Ribeiro, C. A. (2006). Effects of mercury intoxication on the response of horizontal cells of the retina of thraira fish (*Hoplias malabaricus*). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39, 987-995.
- Tessier-Lavigne, M., Mobbs, P., & Attwell, D. (1985). Lead and mercury toxicity and the rod light response. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 26, 1117-1123.
- Toimela, T. & Tahti, H. (2004). Mitochondrial viability and apoptosis induced by aluminum, mercuric mercury and methylmercury in cell lines of neural origin. *Archives of Toxicology*, 78, 565-574.
- Tokuomi, H., Uchino, M., Imamura, S., Yamanaga, H., Nakanishi, R., & Ideta, T. (1982). Minamata disease (organic mercury poisoning): Neuroradiologic and electrophysiologic studies. *Neurology*, 32, 1369-1375.
- Tovee, M. J. (1996). *An introduction to the visual system*. Cambridge University Press.
- Trobe, J. D., Acosta, P. C., Krischer, J. P., & Trick, G. L. (1981). Confrontation visual field techniques in the detection of anterior visual pathway lesions. *Annals of Neurology*, 10, 28-34.
- Tsutsui, J., Fukai, S., Ogata, H., Murata, T., & Teruya, M. (1972). Neuro-ophthalmological studies on Minamata disease (methyl mercury poisoning). *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 76, 504-512.
- Uchino, M., Tanaka, Y., Ando, Y., Yonehara, T., Hara, A., Mishima, I., Okajima, T., & Ando, M. (1995). Neurologic features of chronic Minamata disease (organic mercury-poisoning) and incidence of complications with aging. *Journal of Environmental Science and Health Part B - Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 30, 699-715.

- Urban, P., Gobba, F., Nerudova, J., Lukas, E., Cabelkova, Z., & Cikrt, M. (2003a). Color discrimination impairment in workers exposed to mercury vapor. *Neurotoxicology*, 24, 711-716.
- Urban, P., Lukas, E., Benicky, L., & Moscovicova, E. (1996). Neurological and electrophysiological examination on workers exposed to mercury vapors. *Neurotoxicology*, 17, 191-196.
- Urban, P., Nerudova, J., Cabelkova, Z., Krajca, V., Lukas, E., & Cikrt, M. (2003b). EEG photic driving in workers exposed to mercury vapors. *Neurotoxicology*, 24, 23-33.
- Ventura, D. F., Costa, M. T. V., Costa, M. F., Berezovsky, A., Salomao, S. R., Simoes, A. L., Lago, M., Pereira, L. H. M. C., Faria, M. A. M., de Souza, J. M., & Silveira, L. C. L. (2004). Multifocal and full-field electroretinogram changes associated with color-vision loss in mercury vapor exposure. *Visual Neuroscience*, 21, 421-429.
- Ventura, D. F., Simoes, A. L., Tomaz, S., Costa, M. F., Lago, M., Costa, M. T. V., Canto-Pereira, L. H. M., de Souza, J. M., Faria, M. A. M., & Silveira, L. C. L. (2005). Colour vision and contrast sensitivity losses of mercury intoxicated industry workers in Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 523-529.
- Vroom, F. Q. & Greer, M. (1972). Mercury vapour intoxication. *Brain*, 95, 305-318.
- Walsh, T. J. (1996). *Visual fields: examination and interpretation*. (Second ed.) American Academy of Ophthalmology.
- Warfvinge, K. & Bruun, A. (2000). Mercury distribution in the squirrel monkey retina after in utero exposure to mercury vapour. *Environmental Research*, 83, 102-109.
- Warfvinge, K. & Bruun, A. (1996). Mercury accumulation in the Squirrel monkey eye after mercury vapour exposure. *Toxicology*, 107, 189-200.
- Warfvinge, K., Hua, J., & Berlin, M. (1992). Mercury distribution in the rat brain after mercury vapor exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 117, 46-52.
- Warfvinge, K., Hua, J., & Logdberg, B. (1994). Mercury distribution in cortical areas and fiber systems of the neonatal and maternal adult cerebrum after exposure of pregnant squirrel monkeys to mercury vapor. *Environmental Research*, 67, 196-208.
- World Health Organization (WHO). (1976). Conference on intoxication due to alkylmercury - treated seed. Baghdad, Iraq.

- World Health Organization (WHO). (1991). Inorganic mercury: Environmental Health Criteria. Geneva.
- World Health Organization (WHO). (2003). Elemental mercury and inorganic mercury compounds: human health aspects.
- Wild, J. M. (2001). Short wavelength automated perimetry. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 79, 546-559.
- Zachi, E. C., Taub, A., Medrado-Faria, M. A., & Ventura, D. F. (2007). Neuropsychological dysfunction related to earlier occupational exposure to mercury vapor. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 425-433.
- Zavariz, C. & Glina, D. M. R. (1992). Avaliação clínico-neuro-psicológica de trabalhadores expostos a mercúrio metálico em indústria de lâmpadas elétricas. *Revista de Saúde Publica*, 26, 356-365.

Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Humana

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

Of.0606/CEPH-22/02/06

Senhora Professora,

O Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (CEPH-IP) aprovou, em reunião de 06/12/05, o projeto intitulado “Estudo Eletrofisiológico e Psicofísico em indivíduos intoxicados por vapor de mercúrio”, a ser desenvolvido pela Mestranda Mirella Telles Salgueiro Barboni, sob a orientação de V.Sa. no Programa de Pós-Graduação Neurociências e Comportamento.

Atenciosamente,

Edely Tereza Murda
Analista Acadêmica – CEPH-IP

Ilma. Sra.
Professora Titular Dora Selma Fix Ventura
Programa de Pós-Graduação Neurociências e Comportamento
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade de São Paulo
Instituto de Psicologia
Departamento de Psicologia Experimental

Setor de Eletrofisiologia e Psicofísica Visual Clínica

São Paulo, ____ de _____ de 200__.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO PSICOFÍSICO E ELETROFISIOLOGICO DA VISÃO

Pesquisadores: Mirella Telles Salgueiro Barboni, Profa. Dora Fix Ventura, Prof. Marcelo F. da Costa

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo sobre campo visual e eletroretinograma multifocal. Será realizado um teste em que você irá nos informar se consegue perceber luz. As luzes serão apresentadas em diferentes regiões dentro de uma cúpula redonda. Você será solicitado a apertar um botão quando perceber a luz. Em outro teste, serão utilizados dois colírios para dilatação da pupila. Será colocada uma lente de contato com eletrodo no olho que será testado. Essa lente será previamente esterilizada e o olho anestesiado por colírio. Nesse teste você terá que olhar para uma câmera, onde diferentes imagens serão apresentadas. Será utilizado um tampão adesivo antialérgico para testar cada olho separadamente. A avaliação leva aproximadamente 3 horas e pode ser feita em duas sessões. Os testes não oferecem qualquer risco. Além disso, será solicitada a coleta de urina no dia do exame para avaliar a concentração de mercúrio na urina. Os dados pessoais serão sigilosos e seu nome não será divulgado. Caso seja detectada qualquer alteração na visão, você será encaminhado(a) para o setor de oftalmologia do HU – Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, situado aqui no Campus Universitário. Você pode esclarecer suas dúvidas sobre qualquer aspecto deste estudo, bem como desistir a qualquer momento que desejar. A sua participação na pesquisa é totalmente voluntária. Sua assinatura neste termo de consentimento, após ter lido a informação descrita acima (ou alguém ter lido para você), indica que você concorda em realizar os testes e permite a utilização dos resultados para a pesquisa científica realizada neste laboratório.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Nome do Paciente

Documento de identidade

Data de nascimento

Endereço

Bairro

Cidade

Estado

CEP

Telefones

Apêndice A – Tabela de dados brutos dos pacientes e do grupo controle

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo controle para o exame de campimetria computadorizada acromático															
N	Idade	Sexo	Olho	MD WW	PSD WW	F WW	3° WW	9° WW	15° WW	21° WW	27° WW	TS WW	TI WW	NS WW	NI WW
1	30	F	OE	-0.52	2.00	33.00	34.25	32.22	29.57	27.60	25.50	30.38	29.31	28.46	30.15
2	46	F	OD	0.97	1.66	39.00	34.50	33.63	31.40	31.70	29.71	30.77	31.54	32.31	33.00
3	53	M	OE	-1.55	3.01	35.00	32.50	30.88	26.80	28.10	28.00	29.69	28.69	28.00	27.85
4	48	M	OE	-0.91	1.87	38.00	32.50	31.88	29.70	28.10	27.00	29.08	31.08	28.46	29.92
5	49	M	OE	0.26	1.45	36.00	32.75	32.38	29.80	29.55	27.50	31.00	28.62	30.23	31.46
6	60	F	OD	2.21	1.55	36.00	34.50	34.50	29.90	31.35	29.50	31.38	29.54	32.15	33.00
7	30	M	OD	-0.35	1.99	38.00	33.50	32.13	29.40	30.70	29.75	29.77	28.77	31.77	32.08
8	39	F	OE	0.35	1.87	36.00	32.75	32.13	30.50	30.00	29.50	29.08	30.85	30.31	32.69
9	46	F	OD	-0.79	1.95	38.00	33.00	32.38	28.65	27.85	26.83	27.00	29.05	28.84	29.05
10	38	F	OE	0.12	1.34	38.00	34.75	33.38	29.05	30.40	30.50	30.54	29.62	31.15	31.23
11	41	M	OD	-1.70	2.04	39.00	32.50	30.75	28.15	28.00	27.50	30.00	26.62	28.46	30.23
12	47	M	OE	-0.54	1.51	36.00	32.50	31.88	29.15	28.80	27.50	29.62	29.46	28.36	31.00
13	39	F	OE	0.13	1.78	37.00	35.00	31.75	29.35	30.80	27.50	30.00	30.31	30.54	32.00
14	49	M	OE	0.12	1.79	39.00	32.25	32.13	29.30	29.80	27.58	29.92	28.69	30.69	31.15
15	45	M	OD	-0.59	1.40	35.00	31.75	33.00	33.00	28.60	26.50	29.31	28.54	30.15	30.54
16	47	M	OD	-1.45	1.79	35.00	32.75	30.88	30.88	27.50	24.00	29.00	28.08	28.77	29.08
17	42	M	OE	-0.33	1.74	36.00	33.00	32.25	29.15	29.65	27.75	29.21	29.89	28.68	29.68
18	39	F	OD	1.42	1.12	37.00	34.75	34.50	31.05	31.45	31.00	32.31	29.85	32.85	33.08
19	44	F	OE	-0.64	1.96	36.00	33.50	31.88	28.95	28.30	26.00	28.85	29.15	28.38	31.62
20	45	M	OD	-2.44	1.72	35.00	31.75	30.75	27.10	26.00	24.00	27.00	26.92	27.31	29.15
21	29	M	OD	-2.39	3.44	36.00	33.00	31.88	29.10	27.10	23.29	26.32	28.63	26.89	27.11
22	31	M	OD	0.64	1.74	39.00	34.25	34.13	30.95	30.75	29.96	31.31	29.62	32.92	32.62
23	37	F	OE	-3.74	2.64	35.00	30.50	29.63	25.35	25.75	24.83	25.46	27.15	24.38	29.23
24	35	M	OD	-0.22	2.04	36.00	32.25	32.50	29.90	30.70	27.50	30.85	29.38	31.85	31.08
25	32	M	OE	-1.05	2.34	37.00	33.25	32.13	28.60	29.55	27.08	27.84	29.89	27.21	31.00
26	52	M	OD	-0.83	1.39	33.00	31.50	30.25	28.55	28.65	27.00	28.85	27.92	29.46	30.08
27	55	M	OE	-1.11	1.93	33.00	33.50	31.00	26.95	27.60	23.00	25.85	29.00	29.00	29.46
28	39	F	OD	-0.16	1.42	36.00	33.25	31.88	29.30	30.20	28.92	30.15	28.85	31.15	31.23
29	49	F	OD	-0.24	1.94	36.00	31.75	31.75	29.05	29.10	26.79	27.16	29.32	28.53	30.11
30	48	F	OD	-2.68	2.28	35.00	29.75	30.13	27.20	26.40	24.00	26.46	25.85	29.38	28.46
31	42	M	OD	-2.96	1.58	35.00	29.75	28.88	27.15	27.50	26.00	27.38	27.62	28.00	28.00
32	55	M	OD	-0.10	1.43	36.00	32.75	32.00	28.75	28.40	28.00	29.15	27.69	29.69	31.15
33	58	M	OD	-0.96	1.76	36.00	33.75	31.13	27.40	27.75	24.00	27.92	28.08	29.23	29.00
34	33	M	OD	-1.76	1.88	37.00	32.50	31.25	27.75	28.55	27.42	28.23	29.08	29.00	29.54
M	43.29	M 21	OD 20	-0.70	1.86	36.24	32.84	31.88	29.03	28.89	27.09	29.02	28.90	29.49	30.47
dp	8.33	F 13	OE 14	1.24	0.47	1.63	1.29	1.27	1.53	1.57	2.11	1.70	1.23	1.86	1.56

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo controle para o exame de campimetria computadorizada azul-amarelo															
N	Idade	Sexo	Olho	MD BY	PSD BY	F BY	3° BY	9° BY	15° BY	21° BY	27° BY	TS BY	TI BY	NS BY	NI BY
1	30	F	OE	-1.62	3.21	15.00	26.50	24.63	22.05	20.95	14.00	23.08	21.15	23.46	22.62
2	46	F	OD	-1.92	4.19	24.00	28.25	28.13	25.20	22.40	18.88	22.15	25.85	23.31	27.92
3	53	M	OE	0.32	2.38	16.00	25.00	25.63	21.55	21.80	23.50	22.38	21.54	22.15	24.54
4	48	M	OE	-2.55	2.78	23.00	24.00	23.38	20.10	19.95	15.50	17.23	21.23	20.62	24.31
5	49	M	OE	-1.26	1.85	19.00	25.75	25.50	21.70	20.00	16.00	21.08	22.31	20.92	23.54
6	60	F	OD	2.24	3.10	30.00	26.75	25.88	22.90	23.35	24.50	23.15	22.15	25.62	24.38
7	30	M	OD	0.20	2.46	30.00	31.25	31.13	26.70	25.00	23.46	25.85	25.92	27.38	29.15
8	39	F	OE	-0.70	2.80	28.00	27.75	27.38	22.55	22.35	25.00	16.31	21.62	19.08	23.15
9	46	F	OD	-3.02	2.43	22.00	23.00	24.88	19.75	19.00	20.00	20.15	22.38	18.50	22.29
10	38	F	OE	-1.51	2.02	21.00	27.25	26.88	23.00	22.30	22.00	21.38	23.00	24.15	26.08
11	41	M	OD	-2.43	2.34	24.00	26.50	24.38	22.35	20.00	19.50	20.62	23.38	19.54	24.77
12	47	M	OE	0.08	2.54	28.00	29.00	26.63	23.20	21.30	22.00	22.08	24.15	22.57	24.36
13	39	F	OE	-0.56	1.70	28.00	28.50	26.38	24.20	23.80	18.50	23.46	24.77	24.00	26.62
14	49	M	OE	-1.51	2.02	24.00	25.75	21.00	21.15	20.40	19.00	25.62	27.00	25.85	26.31
15	45	M	OD	-2.93	3.62	24.00	25.75	24.00	20.74	20.40	14.00	21.92	21.92	21.00	21.38
16	47	M	OD	-2.15	3.18	23.00	27.00	22.38	22.15	18.80	15.00	20.23	23.62	18.69	22.77
17	42	M	OE	-2.78	2.33	27.00	23.75	25.13	22.20	20.20	15.00	18.85	22.62	18.07	21.21
18	39	F	OD	-3.83	2.29	18.00	26.25	23.50	21.00	19.40	18.00	17.62	17.85	21.23	21.08
19	44	F	OE	-2.55	2.63	20.00	20.25	19.75	16.65	14.00	14.00	14.62	16.31	15.77	19.08
20	45	M	OD	-0.86	2.00	20.00	27.00	25.50	22.90	21.35	23.00	21.85	23.62	22.77	24.54
21	29	M	OD	-3.36	3.10	26.00	27.50	26.75	23.45	20.05	15.00	20.62	23.92	22.43	23.64
22	31	M	OD	0.62	1.96	26.00	29.75	28.38	26.50	26.55	24.38	26.15	26.38	26.77	29.00
23	37	F	OE	-5.15	3.63	22.00	26.50	22.88	19.35	19.45	15.00	19.00	20.38	18.92	22.46
24	35	M	OD	-0.04	2.55	27.00	27.00	28.13	26.40	25.05	22.00	25.62	27.00	25.85	26.31
25	32	M	OE	-5.55	2.62	22.00	24.25	23.75	21.70	18.80	17.50	18.00	20.62	20.21	22.21
26	52	M	OD	-1.18	2.13	20.00	23.50	24.63	20.70	19.30	18.00	18.31	20.69	21.85	23.00
27	55	M	OE	0.46	3.60	19.00	26.75	23.38	20.70	23.75	22.00	21.15	24.15	20.15	25.54
28	39	F	OD	-1.50	2.69	23.00	27.00	23.38	22.20	22.55	21.75	19.31	23.08	20.46	25.15
29	49	F	OD	-2.32	2.40	19.00	25.50	23.88	20.65	19.10	17.00	19.31	20.38	19.57	15.43
30	48	F	OD	-0.04	2.07	23.00	26.75	26.63	22.90	21.55	16.50	21.54	23.15	23.08	25.15
31	42	M	OD	-3.88	3.87	22.00	26.00	24.38	20.35	18.40	16.38	20.85	23.31	18.62	19.54
32	55	M	OD	-2.76	3.79	22.00	25.50	24.88	18.45	16.35	14.00	20.08	19.54	15.85	21.46
33	58	M	OD	0.82	2.29	28.00	27.00	24.63	22.95	21.05	15.00	22.46	23.54	21.46	23.69
34	33	M	OD	-1.06	2.67	24.00	27.75	28.50	23.45	23.85	21.42	22.77	25.00	22.54	26.77
M	43.29	M 21	OD 20	-1.60	2.68	23.15	26.35	25.18	22.11	20.96	18.73	21.02	22.75	21.54	23.81
dp	8.33	F 13	OE 14	1.73	0.64	3.79	2.04	2.28	2.17	2.52	3.58	2.70	2.41	2.88	2.82

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo experimental para o exame de campimetria computadorizada acromático

N	Idade	Sexo	Olho	MD WW	PSD WW	F WW	3° WW	9° WW	15° WW	21° WW	27° WW	TS WW	TI WW	NS WW	NI WW
1	37	M	OD	-3.84	2.45	37.00	29.00	28.13	25.35	26.40	24.79	24.31	26.00	27.46	28.08
2	54	F	OD	-3.55	3.31	36.00	29.00	29.63	25.90	25.30	22.96	28.31	28.77	27.08	29.92
3	45	M	OD	-4.46	3.19	34.00	30.50	29.63	24.85	23.25	18.00	23.23	26.08	25.00	26.14
4	50	M	OE	-2.44	2.53	35.00	32.25	31.88	26.30	22.75	16.00	25.62	26.46	25.85	26.85
5	49	M	OD	-14.57	9.32	31.00	28.25	21.75	13.90	11.90	8.46	10.31	20.31	13.08	18.08
6	49	M	OE	-2.24	2.00	36.00	31.25	29.50	26.90	27.20	23.50	27.62	26.31	27.38	29.69
7	43	M	OE	-1.54	1.98	35.00	30.75	30.75	27.35	28.15	27.58	28.62	27.62	28.92	29.46
8	41	M	OD	-4.94	3.75	37.00	29.50	27.88	26.10	23.95	21.42	25.15	26.77	25.15	26.54
9	46	M	OE	-1.33	1.29	34.00	31.75	30.38	28.45	27.90	26.58	28.77	27.00	29.46	29.92
10	37	M	OE	-4.68	2.09	28.00	29.00	28.25	25.60	25.80	23.29	27.69	25.08	27.08	25.31
11	42	F	OE	-2.18	2.08	35.00	31.75	31.13	28.45	27.35	23.79	29.23	28.23	28.23	29.08
12	49	M	OE	-1.71	1.83	35.00	32.50	30.00	26.95	27.40	23.00	26.85	27.77	27.92	30.00
13	48	M	OD	-0.61	1.48	36.00	31.75	30.88	28.60	28.75	27.71	28.08	28.46	29.92	30.54
14	37	M	OE	0.23	1.74	36.00	34.50	32.63	30.00	30.50	29.42	30.77	29.62	32.46	30.85
15	47	M	OD	-4.03	3.44	36.00	31.25	28.50	25.25	24.56	16.50	26.69	26.00	23.77	28.15
16	35	M	OE	-9.37	9.58	30.00	32.00	27.63	22.85	15.75	11.42	17.85	24.23	24.77	19.38
17	38	M	OE	-1.33	1.51	37.00	33.00	32.13	28.65	27.85	25.50	29.15	28.15	29.62	29.92
18	36	M	OE	-7.34	2.61	35.00	27.75	26.13	23.30	22.05	20.25	23.08	22.92	23.38	25.00
19	52	M	OD	-2.64	2.35	35.00	30.50	29.50	26.75	26.70	23.00	27.46	27.54	26.08	28.69
20	44	M	OD	-3.53	2.29	35.00	29.00	28.88	26.15	26.40	24.46	27.46	26.69	27.00	26.38
21	40	M	OD	-0.90	1.85	36.00	34.75	32.75	28.25	28.65	25.00	28.23	29.38	30.46	30.00
22	56	M	OE	-1.23	1.97	36.00	30.25	30.88	27.35	27.50	26.38	28.23	26.69	29.31	29.69
23	45	M	OE	-1.75	1.81	34.00	31.50	30.50	27.15	28.40	26.00	27.54	27.46	29.54	29.38
24	48	M	OE	-0.93	2.31	37.00	31.75	30.38	27.95	28.95	27.92	29.54	28.62	28.23	29.62
25	34	M	OE	-2.53	2.72	36.00	32.75	31.38	27.45	27.00	24.88	26.62	27.77	29.31	29.46
26	45	M	OD	-1.86	1.73	35.00	28.75	29.50	27.70	28.60	27.00	28.31	28.15	27.92	29.23
27	38	F	OD	-2.49	4.33	35.00	32.75	31.00	28.50	27.30	21.88	28.31	28.54	29.62	28.54
28	45	F	OE	-3.79	4.57	35.00	31.75	29.25	26.10	24.30	23.42	26.23	24.15	28.92	26.77
29	35	M	OE	-4.01	1.99	34.00	28.50	28.75	25.95	25.92	25.63	26.08	26.15	26.62	27.77
30	47	M	OE	-6.12	7.68	37.00	33.00	29.75	21.65	17.55	17.50	17.92	20.46	22.77	27.62
31	47	M	OD	-3.14	2.73	30.00	32.00	29.88	25.85	25.20	24.25	24.38	26.08	27.38	28.92
32	47	F	OD	-3.54	2.91	35.00	28.50	29.38	26.35	25.50	23.63	27.62	25.69	26.46	27.31
33	51	M	OE	-3.44	3.99	38.00	29.00	29.38	25.75	24.70	24.08	23.08	28.00	24.92	28.62
34	39	M	OD	-1.95	1.88	34.00	31.25	30.50	28.70	28.65	26.67	28.31	28.46	30.00	29.85
35	51	M	OD	-1.89	4.20	36.00	32.25	31.13	27.30	27.05	27.55	28.15	28.31	27.23	29.77
M	44.20	M 30	OD 16	-3.30	3.07	34.89	30.97	29.70	26.28	25.58	23.13	26.14	26.68	27.09	28.02
dp	5.92	F 5	OE 19	2.75	2.00	2.15	1.80	1.99	2.77	3.84	4.62	3.97	2.18	3.27	2.77

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo experimental para o exame de campimetria computadorizada azul-amarelo

N	Idade	Sexo	Olho	MD BY	PSD BY	F BY	3° BY	9° BY	15° BY	21° BY	27° BY	TS BY	TI BY	NS BY	NI BY
1	37	M	OD	-3.10	2.24	23.00	26.00	24.13	22.10	20.10	18.13	19.46	22.00	20.77	25.46
2	54	F	OD	-10.18	4.87	25.00	19.00	17.00	11.80	9.40	6.96	13.85	14.54	9.15	11.38
3	45	M	OD	-6.70	5.56	29.00	27.75	21.50	14.55	15.05	12.50	14.31	20.31	13.23	19.31
4	50	M	OE	-2.58	3.96	27.00	24.50	19.88	16.15	12.05	9.00	11.23	16.00	15.08	20.85
5	49	M	OD	-12.45	5.20	19.00	17.25	16.68	11.75	5.25	3.00	8.85	12.38	9.92	10.92
6	49	M	OE	-7.08	2.65	22.00	21.25	18.63	15.84	15.15	15.50	14.46	16.15	15.54	18.23
7	43	M	OE	-4.97	5.73	22.00	22.00	21.75	17.55	17.35	15.83	19.77	21.15	10.46	22.00
8	41	M	OD	-5.56	3.33	26.00	25.25	22.63	19.10	16.80	13.00	18.38	20.92	16.00	21.62
9	46	M	OE	-5.48	4.30	21.00	19.75	21.13	19.45	17.55	11.71	17.69	17.15	19.77	21.38
10	37	M	OE	-8.37	3.37	20.00	18.00	19.00	17.90	15.65	13.00	16.54	17.46	18.31	16.54
11	42	F	OE	-7.93	4.37	24.00	22.00	20.00	17.05	12.50	10.88	14.62	19.08	12.62	18.23
12	49	M	OE	-3.81	3.30	24.00	22.75	22.38	18.40	16.60	13.00	15.31	20.69	16.15	22.54
13	48	M	OD	-1.59	3.38	27.00	25.50	25.88	22.75	18.60	15.83	20.46	22.31	20.92	23.69
14	37	M	OE	-2.11	4.39	31.00	28.00	28.63	24.50	19.50	16.54	22.23	20.54	24.69	26.46
15	47	M	OD	-13.33	3.76	24.00	19.50	12.13	10.00	8.65	5.00	12.00	10.69	8.46	11.00
16	35	M	OE	-2.74	4.09	31.00	27.75	28.38	23.20	21.15	15.38	22.85	25.23	19.85	26.31
17	38	M	OE	-5.35	3.55	31.00	27.00	23.38	19.65	16.00	14.00	18.15	17.54	18.15	21.62
18	36	M	OE	-4.11	2.96	25.00	26.00	22.75	22.30	19.70	15.92	20.54	20.62	20.23	25.23
19	52	M	OD	-4.86	2.12	22.00	22.00	21.13	16.10	16.20	13.63	15.08	18.46	15.00	20.31
20	44	M	OD	-5.22	2.69	19.00	21.25	21.63	18.35	17.15	15.17	18.38	20.00	16.00	20.08
21	40	M	OD	-2.57	2.59	25.00	27.75	25.88	20.85	20.00	17.50	19.00	23.31	21.15	23.85
22	56	M	OE	-2.76	3.93	20.00	23.25	22.63	19.90	16.95	13.58	18.62	19.54	16.92	22.69
23	45	M	OE	0.52	2.11	20.00	26.75	26.88	23.25	23.05	21.25	22.69	23.69	23.46	26.15
24	48	M	OE	-0.78	3.11	27.00	24.00	23.50	22.20	22.10	18.96	20.54	23.85	20.92	24.69
25	34	M	OE	-2.37	2.53	25.00	26.50	24.75	23.05	22.55	20.50	22.85	22.46	22.77	25.54
26	45	M	OD	2.12	2.81	27.00	25.50	27.38	25.85	25.45	23.63	25.38	24.92	25.92	27.23
27	38	F	OD	-9.35	5.69	32.00	23.25	22.63	14.25	10.95	10.79	10.69	15.62	14.38	19.54
28	45	F	OE	-12.76	3.83	21.00	17.15	14.50	10.85	8.35	5.63	8.54	10.77	11.23	13.69
29	35	M	OE	-0.98	2.62	23.00	27.50	27.00	23.05	23.25	21.29	21.46	23.85	23.08	28.00
30	47	M	OE	-7.21	4.19	26.00	24.25	21.13	15.10	13.55	11.50	13.69	16.85	17.62	16.38
31	47	M	OD	-0.61	3.60	26.00	25.50	25.63	21.45	21.95	19.29	18.15	22.31	23.38	26.54
32	47	F	OD	-5.03	2.85	22.00	21.00	21.63	18.55	16.10	13.83	16.15	20.23	17.15	19.54
33	51	M	OE	-13.08	4.75	28.00	16.25	11.63	8.90	8.55	6.71	10.46	13.62	3.92	11.46
34	39	M	OD	-2.59	5.62	27.00	27.75	27.38	25.60	18.10	12.88	20.69	24.54	20.85	26.54
35	51	M	OD	-2.09	4.49	26.00	27.50	24.13	20.35	15.45	13.50	17.08	20.77	16.69	24.54
M	44.20	M 30	OD 16	-5.06	3.73	24.77	23.61	22.15	18.62	16.48	13.85	17.15	19.42	17.14	21.13
dp	5.92	F 5	OE 19	3.96	1.06	3.56	3.52	4.21	4.50	4.83	4.80	4.28	3.92	5.09	4.98

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo controle para os valores de amplitude de N1 e P1 no exame de eletrorretinograma multifocal															
N	Idade	Sexo	Olho	F N1	5° N1	10° N1	15° N1	20° N1	25° N1	F P1	5° P1	10° P1	15° P1	20° P1	25° P1
1	48	M	OD	-21.00	-13.30	-7.60	-6.40	-4.90	-5.50	40.00	21.40	14.60	12.80	11.70	12.80
2	26	F	OD	-41.60	-25.10	-15.80	-12.40	-10.20	-8.60	74.40	47.10	32.30	25.20	20.40	18.60
3	46	F	OD	-16.80	-12.40	-7.20	-5.30	-4.20	-3.80	35.40	19.50	13.20	12.70	9.40	9.10
4	39	F	OE	-57.60	-27.00	-19.20	-11.80	-8.00	-4.40	97.80	47.40	31.20	25.40	19.10	13.70
5	50	F	OD	-34.70	-22.30	-14.50	-12.30	-11.40	-11.40	62.70	37.60	29.70	27.10	25.20	26.00
6	42	M	OD	-41.60	-22.50	-18.70	-12.70	-10.30	-8.40	58.30	42.70	31.10	27.50	24.50	22.20
7	47	M	OE	-22.10	-11.30	-7.50	-5.00	-3.40	-3.20	41.10	16.80	10.80	9.50	8.70	9.10
8	52	F	OE	-24.50	-13.00	-7.80	-6.50	-5.50	-5.90	35.60	21.90	14.00	12.00	11.20	12.70
9	47	F	OE	-28.70	-15.40	-11.60	-8.80	-6.40	-5.70	51.70	28.80	23.40	18.10	14.70	15.60
10	42	M	OD	-30.10	-18.20	-13.60	-9.60	-7.60	-8.30	58.60	28.80	23.10	17.50	13.70	17.20
11	45	F	OE	-32.20	-20.30	-14.00	-10.30	-8.60	-7.80	81.70	38.40	28.80	24.10	21.70	20.00
12	25	F	OD	-24.80	-17.20	-10.20	-9.10	-6.70	-7.00	54.10	25.80	18.40	14.10	11.50	12.90
13	35	M	OD	-41.30	-23.00	-14.60	-11.50	-7.70	-7.00	96.80	46.70	28.80	22.90	17.10	15.90
14	41	F	OE	-35.40	-21.30	-12.60	-8.00	-5.60	-6.20	34.10	21.40	18.20	15.30	12.50	14.00
15	32	M	OE	-37.60	-22.70	-18.10	-12.90	-10.40	-11.20	59.40	40.90	35.70	29.60	25.20	27.70
16	36	F	OD	-40.40	-31.20	-23.10	-18.70	-15.30	-11.60	89.80	50.50	43.40	37.80	33.10	30.90
17	53	M	OD	-16.00	-11.40	-8.60	-6.80	-5.50	-6.30	40.80	23.50	15.60	13.30	11.80	13.00
18	50	F	OD	-28.50	-16.50	-9.40	-7.50	-5.20	-5.00	37.30	21.30	15.70	13.50	10.50	11.20
19	55	M	OD	-33.40	-16.40	-10.80	-9.00	-5.70	-4.90	43.70	28.10	19.00	15.80	13.50	12.00
20	45	M	OE	-36.30	-23.20	-15.30	-11.60	-9.40	-8.40	48.00	36.20	27.50	23.00	20.40	19.40
21	58	M	OD	-18.30	-13.60	-9.80	-8.10	-7.10	-6.20	29.60	22.00	18.10	16.80	15.80	15.20
M	43.52	M 10	OD 13	-31.57	-18.92	-12.86	-9.73	-7.58	-6.99	55.76	31.75	23.46	19.71	16.75	16.63
dp	8.90	F 11	OE 8	10.23	5.55	4.45	3.23	2.84	2.38	21.14	10.91	8.70	7.30	6.47	5.95
Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo controle para os valores de tempo implícito de N1 e P1 no exame de eletrorretinograma multifocal															
N	Idade	Sexo	Olho	F N1	5° N1	10° N1	15° N1	20° N1	25° N1	F P1	5° P1	10° P1	15° P1	20° P1	25° P1
1	48	M	OD	19.80	17.70	16.70	14.60	14.60	15.60	32.30	31.20	29.20	29.20	29.20	29.20
2	26	F	OD	17.70	16.70	15.60	14.60	14.60	15.60	30.20	30.20	30.20	29.20	29.20	30.20
3	46	F	OD	17.70	16.70	14.60	15.60	14.60	14.60	32.30	31.20	29.20	29.20	29.20	30.20
4	39	F	OE	17.70	17.70	15.60	14.60	14.60	15.60	30.20	30.20	29.20	29.20	29.20	29.20
5	50	F	OD	18.80	18.80	15.60	15.60	15.60	15.60	33.30	30.20	30.20	30.20	30.20	30.20
6	42	M	OD	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	15.60	31.20	30.20	29.20	30.20	30.20	30.20
7	47	M	OE	20.80	17.70	14.60	14.60	15.60	15.60	29.20	30.20	29.20	29.20	29.20	29.20
8	52	F	OE	18.80	17.70	15.60	14.60	15.60	15.60	31.20	30.20	30.20	30.20	30.20	30.20
9	47	F	OE	21.90	18.80	16.70	15.60	15.60	15.60	31.20	31.20	30.20	30.20	30.20	30.20
10	42	M	OD	18.80	17.70	15.60	15.60	15.60	15.60	29.20	31.20	31.20	30.20	30.20	31.20
11	45	F	OE	15.60	16.70	15.60	15.60	15.60	15.60	29.20	31.20	29.20	29.20	29.20	29.20
12	25	F	OD	14.60	16.70	15.60	15.60	15.60	15.60	29.20	30.20	29.20	29.20	30.20	31.20
13	35	M	OD	16.70	18.80	15.60	14.60	15.60	15.60	33.30	30.20	29.20	29.20	29.20	29.20
14	41	F	OE	15.60	17.70	15.60	14.60	14.60	14.60	32.30	30.20	30.20	29.20	29.20	30.20
15	32	M	OE	18.80	16.70	15.60	15.60	14.60	14.60	30.20	31.20	30.20	29.20	29.20	29.20
16	36	F	OD	16.70	16.70	15.60	14.60	14.60	15.60	30.20	30.20	30.20	30.20	29.20	30.20
17	53	M	OD	19.80	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	32.30	31.20	30.20	30.20	30.20	31.20
18	50	F	OD	18.80	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	32.30	32.30	31.20	30.20	30.20	30.20
19	55	M	OD	19.80	17.70	17.70	16.70	16.70	16.70	34.40	32.30	31.20	30.20	30.20	30.20
20	45	M	OE	17.70	16.70	15.60	14.60	14.60	14.60	31.20	31.20	30.20	29.20	29.20	29.20
21	58	M	OD	17.70	16.70	16.70	15.60	15.60	16.70	30.20	31.20	30.20	30.20	30.20	30.20
M	43.52	M 10	OD 13	18.17	17.43	15.87	15.22	15.27	15.51	31.20	30.83	29.96	29.68	29.68	30.01
dp	8.90	F 11	OE 8	1.77	0.74	0.74	0.60	0.59	0.56	1.52	0.69	0.70	0.51	0.51	0.68

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo experimental para os valores de amplitude de N1 e P1 no exame de eletrorretinograma multifocal															
N	Idade	Sexo	Olho	F N1	5° N1	10° N1	15° N1	20° N1	25° N1	F P1	5° P1	10° P1	15° P1	20° P1	25° P1
1	37	M	OD	-24.40	-21.10	-12.50	-8.00	-6.40	-6.00	51.90	31.20	22.00	18.50	16.30	16.10
2	54	F	OD	-19.20	-13.80	-8.80	-7.40	-5.90	-5.90	38.50	17.10	15.90	15.50	12.80	14.00
3	45	M	OD	-22.40	-13.20	-8.90	-5.90	-4.70	-5.50	43.50	22.10	16.00	14.10	11.50	13.30
4	50	M	OE	-26.30	-17.20	-11.10	-8.50	-7.10	-8.40	55.10	26.70	21.00	17.30	15.80	21.30
5	49	M	OD	-30.40	-10.50	-8.30	-5.30	-4.80	-5.50	34.10	19.90	12.40	11.40	10.10	12.40
6	49	M	OE	-45.50	-19.10	-12.50	-9.70	-7.60	-7.50	61.60	33.60	19.50	16.80	15.20	17.60
7	43	M	OE	-18.90	-7.40	-4.80	-3.40	-3.20	-3.00	21.70	11.50	7.70	6.60	6.20	6.50
8	41	M	OD	-33.40	-16.40	-10.00	-6.80	-5.70	-6.30	58.50	31.40	19.20	13.80	12.60	14.40
9	46	M	OE	-18.70	-9.00	-5.10	-3.00	-3.60	-3.30	25.40	13.00	8.80	8.90	6.60	7.50
10	37	M	OE	-25.60	-12.10	-7.30	-6.80	-5.30	-5.50	30.40	19.10	13.30	14.30	11.00	12.60
11	42	F	OE	-23.60	-17.00	-11.60	-9.40	-8.20	-7.50	39.70	25.60	21.90	17.80	16.00	17.20
12	49	M	OE	-31.10	-16.30	-12.40	-8.90	-6.60	-6.30	59.30	28.90	21.50	16.60	14.10	14.20
13	48	M	OD	-14.70	-9.40	-7.70	-7.70	-7.00	-6.60	17.60	15.30	17.00	17.00	17.10	16.70
14	37	M	OE	-28.50	-13.70	-9.00	-5.70	-4.40	-4.30	31.20	17.90	11.80	10.30	8.70	9.00
15	47	M	OD	-33.50	-15.30	-11.40	-7.90	-6.20	-6.50	56.50	33.00	22.80	18.70	16.30	18.90
16	35	M	OE	-30.10	-14.00	-8.10	-5.30	-4.60	-5.00	44.30	19.00	13.90	12.00	10.40	11.30
17	38	M	OE	-31.00	-18.00	-12.80	-10.00	-7.30	-7.30	30.10	23.40	17.50	18.90	15.70	17.10
18	36	M	OE	-28.10	-19.30	-11.30	-8.20	-6.80	-6.70	42.00	26.40	19.00	16.30	14.20	15.60
19	52	M	OD	-24.20	-14.30	-7.80	-5.80	-5.10	-6.00	42.20	26.90	20.90	18.10	15.30	16.20
20	44	M	OD	-20.90	-9.50	-6.40	-5.80	-4.00	-4.90	32.30	17.20	14.00	12.00	8.90	10.30
21	40	M	OD	-22.40	-20.00	-12.30	-7.50	-5.20	-5.40	54.20	26.20	19.10	16.30	13.30	13.60
22	56	M	OE	-26.50	-17.70	-8.20	-5.90	-4.30	-4.80	37.20	21.10	15.60	13.00	13.10	14.70
23	45	M	OE	-39.10	-23.40	-14.50	-10.50	-9.20	-9.40	78.80	35.30	26.80	21.20	17.90	20.50
24	48	M	OE	-18.00	-9.70	-7.70	-6.60	-5.40	-6.10	26.00	19.20	15.90	14.60	12.50	14.70
25	45	M	OD	-31.60	-16.70	-13.40	-10.10	-7.00	-7.60	39.70	24.10	20.60	17.50	15.40	15.40
26	38	F	OD	-44.40	-24.20	-16.00	-11.80	-9.00	-9.20	55.50	37.90	26.70	22.10	18.60	18.90
27	45	F	OE	-28.80	-15.20	-9.90	-8.00	-6.50	-7.50	44.10	27.40	17.50	14.10	12.20	13.70
28	47	M	OE	-21.60	-10.50	-7.70	-7.20	-6.70	-6.90	38.30	22.20	16.40	15.80	12.60	13.90
29	47	M	OD	-23.40	-17.10	-12.10	-9.10	-6.10	-6.90	62.40	30.30	23.40	20.70	14.80	15.40
30	47	F	OD	-33.60	-22.00	-16.20	-11.30	-10.50	-10.30	55.00	31.50	25.50	24.70	20.60	23.50
31	39	M	OD	-24.10	-11.40	-8.20	-5.50	-4.50	-4.10	43.80	21.70	15.50	12.80	10.80	11.00
32	51	M	OD	-27.00	-15.50	-10.20	-7.80	-6.00	-6.70	47.50	29.10	22.10	16.50	13.10	15.10
M	44.59	M 30	OD 16	-27.22	-15.31	-10.13	-7.53	-6.09	-6.34	43.70	24.54	18.16	15.76	13.43	14.77
dp	5.54	F 5	OE 19	7.15	4.36	2.88	2.10	1.67	1.65	13.69	6.65	4.74	3.84	3.32	3.73

Dados demográficos e resultados individuais dos sujeitos do grupo experimental para os valores de tempo implícito de N1 e P1 no exame de eletrorretinograma multifocal															
N	Idade	Sexo	Olho	F N1	5° N1	10° N1	15° N1	20° N1	25° N1	F P1	5° P1	10° P1	15° P1	20° P1	25° P1
1	37	M	OD	18.80	17.70	15.60	15.60	15.60	15.60	28.10	31.20	30.20	29.20	29.20	30.20
2	54	F	OD	18.80	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	32.30	32.30	31.20	30.20	30.20	30.20
3	45	M	OD	19.80	16.70	15.60	15.60	15.60	15.60	31.20	31.20	30.20	29.20	29.20	30.20
4	50	M	OE	17.70	15.60	15.60	15.60	15.60	15.60	35.40	31.20	29.20	28.10	28.10	29.20
5	49	M	OD	19.80	16.70	16.70	16.70	15.60	15.60	34.40	31.20	29.20	29.20	30.20	30.20
6	49	M	OE	20.80	19.80	17.70	16.70	16.70	15.60	30.20	31.20	29.20	29.20	30.20	30.20
7	43	M	OE	19.80	17.70	15.60	15.60	15.60	16.70	30.20	32.30	29.20	29.20	29.20	30.20
8	41	M	OD	19.80	18.80	17.70	16.70	16.70	16.70	36.50	33.30	31.20	30.20	30.20	31.20
9	46	M	OE	19.80	19.80	17.70	15.60	16.70	17.70	35.40	33.30	30.20	29.20	29.20	30.20
10	37	M	OE	20.80	17.70	15.60	16.70	15.60	14.60	30.20	33.30	30.20	30.20	30.20	30.20
11	42	F	OE	18.80	16.70	15.60	15.60	15.60	15.60	31.20	32.30	30.20	30.20	30.20	30.20
12	49	M	OE	19.80	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	30.20	30.20	30.20	30.20	29.20	30.20
13	48	M	OD	15.60	15.60	15.60	15.60	16.70	15.60	31.20	29.20	30.20	30.20	30.20	30.20
14	37	M	OE	19.80	17.70	16.70	14.60	15.60	14.60	28.10	32.30	30.20	29.20	29.20	30.20
15	47	M	OD	17.70	17.70	16.70	16.70	17.70	16.70	34.40	32.30	31.20	30.20	30.20	30.20
16	35	M	OE	18.80	17.70	16.70	15.60	14.60	15.60	30.20	28.10	30.20	29.20	29.20	30.20
17	38	M	OE	17.70	16.70	15.60	14.60	15.60	14.60	30.20	32.30	30.20	30.20	29.20	30.20
18	36	M	OE	18.80	16.70	16.70	14.60	16.70	15.60	33.30	31.20	29.20	29.20	29.20	29.20
19	52	M	OD	18.80	18.80	16.70	16.70	16.70	16.70	33.30	30.20	30.20	30.20	30.20	30.20
20	44	M	OD	19.80	17.70	17.70	16.70	16.70	16.70	32.30	30.20	29.20	29.20	30.20	30.20
21	40	M	OD	17.70	16.70	15.60	14.60	15.60	16.60	31.20	30.20	29.20	29.20	29.20	30.20
22	56	M	OE	15.60	15.60	15.60	14.60	15.60	15.60	34.40	30.20	30.20	29.20	30.20	30.20
23	45	M	OE	17.70	16.70	15.60	14.60	15.60	15.60	33.30	32.30	30.20	30.20	30.20	30.20
24	48	M	OE	16.70	15.60	16.70	15.60	15.60	15.60	30.20	31.20	31.20	30.20	30.20	30.20
25	45	M	OD	17.70	17.70	15.60	14.60	15.60	15.60	32.30	32.30	31.20	30.20	30.20	31.20
26	38	F	OD	16.70	16.70	14.60	13.50	13.50	14.60	29.20	30.20	29.20	29.20	29.20	29.20
27	45	F	OE	17.70	16.70	14.60	14.60	14.60	14.60	30.20	29.20	29.20	29.20	29.20	29.20
28	47	M	OE	19.80	17.70	14.60	15.60	15.60	16.70	34.40	32.30	29.20	30.20	30.20	30.20
29	47	M	OD	17.70	17.70	15.60	15.60	15.60	15.60	29.20	30.20	30.20	29.20	29.20	29.20
30	47	F	OD	17.70	17.70	15.60	14.60	14.60	15.60	30.20	30.20	30.20	30.20	30.20	30.20
31	39	M	OD	16.70	18.80	16.70	15.60	15.60	15.60	34.40	30.20	30.20	29.20	29.20	30.20
32	51	M	OD	15.60	17.70	16.70	15.60	15.60	15.60	32.30	33.30	31.20	30.20	30.20	30.20
M	44.59	M 30	OD 16	18.40	17.39	16.15	15.49	15.75	15.75	31.86	31.27	30.08	29.63	29.70	30.11
dp	5.54	F 5	OE 19	1.47	1.08	0.89	0.83	0.80	0.74	2.23	1.33	0.71	0.57	0.58	0.47

Apêndice B – Histograma da distribuição de dados para alguns parâmetros

Apêndice C – Publicação de parte dos resultados obtidos na dissertação

Visual field losses in workers exposed to mercury vapor^{☆, ☆ ☆}

Mirella Telles Salgueiro Barboni^{a,b,*}, Marcelo Fernandes da Costa^{a,b},
Ana Laura de Araújo Moura^{a,b}, Cláudia Feitosa-Santana^{a,b}, Mirella Gualtieri^{a,b},
Marcos Lago^{a,b}, Marcília de Araújo Medrado-Faria^c, Luiz Carlos de Lima Silveira^{d,e},
Dora Fix Ventura^{a,b}

^a*Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, SP, Brazil*

^b*Núcleo de Apoio à Pesquisa em Neurociências e Comportamento, Universidade de São Paulo, SP, Brazil*

^c*Serviço de Saúde Ocupacional do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, SP, Brazil*

^d*Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brazil*

^e*Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brazil*

Received 1 February 2007; received in revised form 29 April 2007; accepted 9 July 2007

Abstract

Visual field losses associated with mercury (Hg) exposure have only been assessed in patients exposed to methylmercury. Here we evaluate the automated visual field in 35 ex-workers (30 males; 44.20 ± 5.92 years) occupationally exposed to mercury vapor and 34 controls (21 males; 43.29 ± 8.33 years). Visual fields were analyzed with the Humphrey Field Analyzer II (model 750i) using two tests: the standard automated perimetry (SAP, white-on-white) and the short wavelength automated perimetry (SWAP, blue-on-yellow) at 76 locations within a 27° central visual field. Results were analyzed as the mean of the sensitivities measured at the fovea, and at five successive concentric rings, of increasing eccentricity, within the central field. Compared to controls, visual field sensitivities of the experimental group measured using SAP were lower for the fovea as well as for all five eccentricity rings ($p < 0.05$). Sensitivities were significantly lower in the SWAP test ($p < 0.05$) for four of the five extra-foveal eccentricity rings; they were not significant for the fovea ($p = 0.584$) or for the 15° eccentricity ring ($p = 0.965$). These results suggest a widespread reduction of sensitivity in both visual field tests. Previous reports in the literature describe moderate to severe concentric constriction of the visual field in subjects with methylmercury intoxication measured manually with the Goldman perimeter. The present results amplify concerns regarding potential medical risks of exposure to environmental mercury sources by demonstrating significant and widespread reductions of visual sensitivity using the more reliable automated perimetry.

© 2007 Published by Elsevier Inc.

Keywords: Mercury vapor; Neurotoxicology; Vision; Visual field; Automated perimetry

[☆] *Financial support:* This study was supported by grants to DFV from the Brazilian Agencies FAPESP (Projeto Temático 02/12733-8), CNPq (523303/95-5), and to DFV and LCLS from CAPES/PROCAD (0019/01-1). It is also supported by the FINEP research grant IBN-Net “Rede Instituto Brasileiro de Neurociência” (01.06.0842-00). MTSB, CFS and MG have FAPESP graduate fellowships, respectively for Master’s (05/57897-6) and Doctoral (05/53974-6) and 04/15926-7 work. LCLS and DFV are CNPq Research Fellows.

^{☆☆} We declare that this study was approved by the Ethics Committee of the Institute of Psychology of the University of São Paulo (São Paulo, SP, Brazil) on December 06, 2005, Project #0606.

*Corresponding author. Av. Prof. Mello Moraes, 1721, Bloco A, Sala D9, 05508-900 São Paulo, SP, Brazil.

E-mail address: mirellabarboni@usp.br (M.T.S. Barboni).

1. Introduction

Mercury intoxication is characterized by lung and renal impairment, and neuromuscular disorders including tremor and weakening of the muscles, as well as neuropsychological changes such as irritability, fatigue, loss of self-confidence, depression, anxiety, delirium, insomnia, apathy, loss of memory, headache, and general pain (Hunter and Russell, 1954).

The nervous system is considered to be a critically vulnerable organ for mercury vapor toxicity in humans (Bast-Pettersen et al., 2005; Chang and Hartmann, 1972a, b;

Chang, 1977; Ellingsen et al., 1993, 2001; Kishi et al., 1993; Urban et al., 1996, 2003). High brain mercury concentrations have been found in humans who died several years after the cessation of exposure to elemental mercury (Hargreaves et al., 1988; Kosta et al., 1975). The lung absorption of mercury vapor is about 80%, and two-thirds of this is immediately transported to other tissues via the blood stream (Nielsen-Kudsk, 1965; Magos and Clarkson, 2006). Mercury penetrates into the nervous tissue through the blood–brain barrier and enters the nerve cells (Chang and Hartmann, 1972b). The neurotoxic effect can be explained by damage caused to the cell membrane structure by mercury ions forming cross-linkages with membrane proteins, and by inhibition of certain associated enzymes. In addition, intracellular mercury can induce apoptosis, which may be an important factor in the pathophysiology of neurodegenerative diseases (Toimela and Tahti, 2004).

Mercury vapor is known to have a toxic effect on the human visual system. The visual impairment is detectable at the cortical level (Ventura et al., 2005) but its origin may lie mostly in the losses seen in mercury intoxication (Ventura et al., 2004). In adult monkeys exposed to mercury vapor by inhalation, autometallographic techniques show that mercury accumulates in the ocular tissues and remains there for a long period of time (Warfvinge and Bruun, 1996). In the retina, mercury accumulates in both glia and neurons, with some differences in accumulation being noted between central and peripheral retinal regions (Warfvinge and Bruun, 1996).

In humans, mercury vapor intoxication leads to impairment of different visual functions that have been demonstrated by psychophysical and electrophysiological methods (Silveira et al., 2003; Ventura et al., 2004). The visual deficits include a decrease of contrast sensitivity in children and adults (Altmann et al., 1998; Silveira et al., 2003; Ventura et al., 2005; Rodrigues et al., 2007), and mild to pronounced color discrimination losses (Cavalleri et al., 1995; Cavalleri and Gobba, 1998; Gobba, 2000; Silveira et al., 2003; Ventura et al., 2005; Feitosa-Santana et al., 2007; Rodrigues et al., 2007) and alterations in subjective color space (Feitosa-Santana et al., 2006).

Previous visual field measurements of patients exposed to methylmercury ingested in food revealed moderate to severe concentric visual field constriction in patients with Minamata disease, and this impairment was significantly correlated with magnetic resonance imaging showing lesions in the calcarine cortex (Korogi et al., 1997). There are likely to be differences between methylmercury and mercury vapor intoxication, since the kinetics and bio-transformation of mercury depends on its chemical and physical form (WHO, 2003). Thus, the objective of the present study was to measure the visual field sensitivity by psychophysical perimetry in individuals previously exposed to mercury vapor.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

We evaluated 35 retired workers of fluorescent lamp factories of São Paulo (Brazil) (30 male, mean = 44.2 ± 5.92 years, range from 34 to 56 years), which were sent to us by the Occupational Health Service, School of Medicine, University of São Paulo (Table 1). The subjects had been placed on disability retirement following official diagnosis of mercury intoxication. Their average exposure time to mercury vapor was 10.11 ± 4.74 years and the average number of years away from exposure was 7.53 ± 4.4 years. A control group was comprised of 34 healthy age-matched individuals (21 male, mean = 43.29 ± 8.33 years, range from 30 to 60 years).

Inclusion criteria were that participants had to have Snellen VA 20/25 or better, an absence of ophthalmologic disease or diseases that affect the visual system (i.e. diabetes, multiple sclerosis), and had to be non smokers. Subjects with history of alcoholism, occupational exposure to other toxic substances or with congenital color vision deficiencies were excluded.

All subjects (patients and controls) underwent a complete ophthalmologic examination and an anamnesis.

Informed consent was obtained from all subjects. The procedures complied with the tenets of the Declaration of Helsinki and were approved by the Ethics Committee (Project # 0606) of the Institute of Psychology of the University of São Paulo (Brazil).

2.2. Equipment and procedure

There are different methods to perform measurement of visual field sensitivities such as manual kinetic perimetry using a Goldmann perimeter that allows analysis of the entire visual field, and automated static perimetry that provides a reliable, accurate, and reproducible method of visual field testing, but is restricted to 30° or 60°. In the present study, we used the Humphrey Field Analyzer II-model 750i (Humphrey Instruments, San Leandro, California, USA) to measure light sensitivity against a contrast-illuminated background. Two tests were performed in random order for different subjects. One was *standard automated perimetry* (SAP) that utilizes the Swedish Interactive Threshold Algorithm (SITA). We used the Standard central 30-2 strategy. At each visual field location, a 0.43° (4mm², viewed at 30cm; Goldmann III) spot of white light is presented on a 10 cd/m² white background for 200 ms. This test is usually termed “conventional perimetry” or “white-on-white perimetry”. The other test used was *short wavelength automated perimetry* (SWAP), using the Full Threshold central 30-2 strategy, usually termed “blue-on-yellow perimetry”. For this test, the stimuli were blue (440 nm) 1.72° (64 mm² viewed at 30cm; Goldmann V) spots of light presented for 200 ms on a 100 cd/m² yellow background. The SWAP protocol preferentially stimulates S-cones by utilizing a blue stimulus presented on a high luminance yellow background to adapt the M and L-cones and to saturate the activity of the rods (Wild, 2001).

All experimental observers were optically corrected for the test distance. The observer's task was to press a button to indicate the presence of the light spot whenever it was detected. Visual field locations of reduced sensitivity relative to controls required brighter stimuli to reach threshold, and had lower decibel (dB) sensitivity values. Similarly, higher dB values represented more sensitive retinal locations (where 1 dB = 0.1 log unit). Sequences of test stimuli were presented randomly throughout the entire visual field, and the sensitivity at each location was determined by the standard Humphrey staircase procedure: the spot intensity was increased in steps of 4 dB until the patient responded with a ‘yes’ (seen), then it was decreased in steps of 2 dB until the patient responded ‘no’ (not seen). After two such reversals, the visual threshold was calculated as the average of the four measurements.

Prior to measuring the full array of visual field locations, foveal sensitivity was measured using the Humphrey's 4–2 bracketing strategy with a 30 dB initial stimulus intensity. Once the foveal test was completed, the subject was asked to fixate on the central target and thresholds were

Table 1

Demographic information and mean deviation index of the SAP and SWAP tests for the 35 mercury-intoxicated patients

ID	Sex	Age (years)	Drafted eye	VA	Exp	Away	Hg	MD SAP	MD SWAP
1	M	37	OD	20/20	4	11	1.00	-3.84	-3.10
2	F	54	OD	20/20	12	20	1.00	-3.55	-10.23
3	M	45	OD	20/20	13	2	1.00	-4.46	-6.70
4	M	50	OS	20/20	8	2	1.00	-2.44	-9.59
5	M	49	OD	20/20	7	15	1.50	-14.57	-12.45
6	M	49	OS	20/20	8	8	1.00	-2.24	-7.08
7	M	43	OS	20/25	10	5	1.00	-1.54	-3.42
8	M	41	OD	20/20	9	7	1.00	-4.94	-6.46
9	M	46	OS	20/20	8	6	4.30	-1.33	-5.48
10	M	37	OS	20/25	7	10	1.00	-4.68	-8.37
11	F	42	OS	20/20	11	5	1.00	-2.18	-7.93
12	M	49	OS	20/20	5	11	1.00	-1.71	-3.81
13	M	48	OD	20/20	12	3	1.00	-0.61	-2.96
14	M	37	OS	20/20	8	5	1.00	0.23	-2.11
15	M	47	OD	20/20	24	2	1.00	-4.03	-13.33
16	M	35	OS	20/20	7	8	1.00	-9.37	-11.86
17	M	38	OS	20/25	14	2	1.40	-1.33	-5.35
18	M	36	OS	20/20	6	7	1.00	-7.34	-4.11
19	M	52	OD	20/25	9	9	1.00	-2.64	-4.86
20	M	44	OD	20/20	25	3	1.00	-3.53	-5.42
21	M	40	OD	20/20	10	5	1.00	-0.90	-4.11
22	M	56	OS	20/20	11	10	1.30	-1.23	-2.76
23	M	45	OS	20/20	12	16	1.00	-1.75	0.52
24	M	48	OS	20/20	7	9	1.30	-0.93	1.37
25	M	34	OS	20/20	9	6	1.80	-2.53	-2.37
26	M	45	OD	20/20	12	9	1.00	-1.86	2.12
27	F	38	OD	20/20	12	5	2.10	-2.49	-9.35
28	F	45	OS	20/20	1	5	1.00	-3.79	-14.61
29	M	35	OS	20/25	15	5	1.00	-4.01	-12.76
30	M	47	OS	20/20	17	4	1.00	-6.12	-0.98
31	M	47	OD	20/25	10	15	4.50	-3.14	-7.21
32	F	47	OD	20/20	10	6	1.00	-3.54	-1.14
33	M	51	OS	20/20	8	7	1.00	-3.44	-8.49
34	M	39	OD	20/20	7	13	3.30	-1.95	-2.59
35	M	51	OD	20/20	8	9	1.00	-1.89	-2.09
Mean		44.20			10.11	7.53	2.39	-3.30	-5.69
(SD)		5.92			4.74	4.40	1.30	2.75	4.28
Min		34.00			1.00	2.00	1.00	-14.57	-14.61
Max		56.00			25.00	20.00	4.50	0.23	0.52

ID = subject identification; VA = visual acuity; OD = right eye (oculum destrum); OS = left eye (oculum sinistrum); Exp. = exposure duration; Away = time away from exposure to the mercury source; Hg = mean urinary concentration of Hg- $\mu\text{g/g}$ creatinine-at the time of visual field testing; MD SAP = mean deviation for standard automated perimetry; MD SWAP = mean deviation for short wavelength automated perimetry.

measured at different locations in the visual field by the presentation of small spots of light of different intensity. SAP involves determining the minimum luminance necessary for the patient to detect the presentation of a static white light stimulus of constant size presented at various locations of the visual field. In automated perimetry, the test algorithms make use of an empirical model of the "hill of vision" of normal observers. The significance of overall deviations or patterns of deviations across the visual field (the perimetry global indices) is quantified with respect to the mean and variance of the visual field data of normal, age-matched observers.

The SITA program used in the SAP test reduces test time by approximately 50% when compared with the full threshold program used in SWAP test, because the number of stimuli presented is 29% smaller in normal fields (Bengtsson et al., 1997). It is a more reliable psychophysical paradigm to measure localized threshold. Reliability and efficiency of the SITA algorithm is enhanced by (1) use of information about surrounding points, (2) use of information about threshold values in age-matched controls, (3) reacting to changes in the pacing of the test, (4) elimination of retest trials for the 10 points used to calculate short-term fluctuation in the

full threshold algorithm used in SWAP, (5) an improved method of evaluating false positive and false negative reliability parameters, and (5) use of a maximum likelihood procedure for 18–20 estimates of threshold (Bengtsson et al., 1997). The SITA program was used only in SAP, and the traditional full threshold strategy was performed in SWAP (Johnson et al., 1992).

The results were expressed as mean deviation (MD) which is a location-weighted mean of the values in the total deviation plot. It is essentially a distilled value that represents the average height of the entire "hill of vision". Negative values represent depressed sensitivity (sensitivity loss). MD is relatively insensitive to localized defects and is strongly affected by generalized trends. The results were also expressed in pattern standard deviation (PSD) which represents the unevenness of the "hill of vision" surface. PSD is calculated by taking a location-weighted standard deviation of all sensitivity values. PSD is insensitive to the overall average height and is strongly affected by localized defects.

Both eyes of the patients and the controls were tested monocularly, with the right eye and left eye measures done in random order. Each test

was performed in one or two sessions interleaved with rest periods in order to avoid fatigue effects (Hudson et al., 1994). The tests were performed in an otherwise dark room and fixation was monitored by the experimenter throughout the test. If fixation deviations reached 20%, or if false-positive or false-negative errors reached 33%, the session was terminated and the test was repeated on a different day.

The mercury intoxication level in the patients was assayed by measuring Hg in urinary creatinine. Mercury level, in $\mu\text{g Hg/g}$ urinary creatinine, was measured using atomic absorption spectrophotometry that involves reduction, aeration, and reading of mercury vapor absorption at 253.7 nm in a quartz cell (Hatch and Ott, 1968; Wittmann, 1981). For the purposes of the statistical analyses, data from all subjects with urine Hg concentration $< 1 \mu\text{g/g}$ of creatinine were treated as if their levels were equal to $1 \mu\text{g Hg/g}$ urinary creatinine.

2.3. Analysis

The results were analyzed with the program Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., USA). For each subject, eight measures were calculated: the two global indices MD and PSD, foveal threshold, and the mean of the sensitivities measured at each of the five concentric eccentricity rings (Fig. 1). Statistical analysis was performed on the data from only one eye of each subject, and was randomly chosen. We used the nonparametric Mann–Whitney Test to compare the sensitivity data between groups. For the correlation analyses, we used the Spearman R correlation coefficient. In all analyses, p -values < 0.05 were considered to be statistically significant.

3. Results

The mean mercury level measured in the patients was $41.15 \pm 1.72 \mu\text{g Hg/g}$ urinary creatinine for as long as 1 year after exposure, and $2.39 \pm 1.3 \mu\text{g Hg/g}$ urinary creatinine

(normal levels) at the time of examination, which was performed $7.53 (\pm 4.4)$ years following exposure.

The Mann–Whitney test shows no statistical difference for any visual field parameters between the patients with VA 20/20 and VA 20/25 (SAP $p > 0.255$ and SWAP $p > 0.314$), implying that any differences in visual field measures were not due to acuity differences.

We found no correlation of visual field sensitivity, expressed by the MD with any of the following measures: exposure time (SAP $p = 0.626$ and SWAP $p = 0.841$), time away from exposure (SAP $p = 0.649$ and SWAP $p = 0.371$), urinary Hg concentration at the time of exposure or up to 1 year after exposure (SAP $p = 0.702$ and SWAP $p = 0.644$), or with urinary Hg concentration at the time of the test (SAP $p = 0.259$ and SWAP $p = 0.967$). We also found no correlation between the average sensitivity measured for each eccentricity ring and any of the above parameters.

The global indices for all patients are summarized in Table 1, along with patient's demographic and acuity data. Table 2 shows that, compared to controls, we found a significant reduction in both tests for MD ($p < 0.001$) and PSD ($p < 0.001$). Both groups showed sensitivity reductions compared to the standard Humphrey norms, but the sensitivity reduction found in our experimental group is significantly greater than the reduction found in the control group.

Table 3 shows that, for the SAP, we found significant sensitivity reduction for the experimental group relative to the control group at all examined regions: foveal threshold, $p = 0.009$; each of the five successive concentric rings, $p < 0.001$. This was also true for the SWAP ($p < 0.001$), except for the foveal threshold ($p = 0.277$) and for the 15° ring ($p = 0.965$) (Fig. 2).

We found no statistical differences between genders (male vs. female for controls, $p > 0.061$; male vs. female for patients, $p > 0.371$), or a dependence on age. Patients and controls were binned into three age groups: 30–40, 41–50, 51–60 years. For both, the patients and controls, no

Fig. 1. Diagram showing the visual field position of the six areas that were analyzed. Results were expressed as the mean of the sensitivities measured for each point inside a given ring. The foveal threshold is represented by the central position, and concentric rings indicate the test loci at increasing eccentricities.

Table 2

Global indices results of visual field examinations of patients ($n = 35$) and controls ($n = 34$) using the Humphrey Central 30–2 SITA-Standard white-on-white test (SAP) and Central 30–2 Full Threshold blue-on-yellow test (SWAP)

	Patients	Controls	p -Value
<i>SAP (white-on-white)</i>			
MD	-3.30 ± 2.75	-0.70 ± 1.24	< 0.001
PSD	3.07 ± 2.00	1.86 ± 0.47	< 0.001
<i>SWAP (blue-on-yellow)</i>			
MD	-5.69 ± 4.28	-1.60 ± 1.73	< 0.001
PSD	3.85 ± 1.16	2.68 ± 0.64	< 0.001

MD = mean deviation; PSD = pattern standard deviation. Data are given as mean $\pm$ SD in dB. p -Values for comparisons were calculated with the nonparametric Mann–Whitney test.

Table 3

Mean of the sensitivities measured in the fovea and at each of five concentric eccentricity rings

	Patients	Controls	<i>p</i> -Value
<i>SAP (white-on-white)</i>			
<i>F</i>	34.89 ± 2.15	36.24 ± 1.63	= 0.009
3°	30.97 ± 1.80	32.84 ± 1.29	< 0.001
9°	29.70 ± 1.89	31.88 ± 1.27	< 0.001
15°	26.28 ± 2.77	29.03 ± 1.53	< 0.001
21°	25.58 ± 3.84	28.89 ± 1.57	< 0.001
27°	23.13 ± 4.62	27.09 ± 2.11	< 0.001
<i>SWAP (blue-on-yellow)</i>			
<i>F</i>	24.23 ± 3.47	23.15 ± 3.79	= 0.277*
3°	23.40 ± 3.47	26.35 ± 2.04	< 0.001
9°	21.70 ± 4.14	25.18 ± 2.28	< 0.001
15°	18.06 ± 4.72	22.11 ± 2.17	= 0.965*
21°	15.92 ± 5.17	20.96 ± 2.52	< 0.001
27°	13.59 ± 5.10	18.73 ± 3.58	< 0.001

F: foveal threshold; 3°, 9°, 15°, 21°, 27°: eccentricity rings. Data are given as mean ± SD in dB. *p*-Values for comparisons were calculated with the nonparametric Mann–Whitney test. *Note that for the SWAP test, foveal sensitivity and mean sensitivities from the 15° ring were not statistically different from controls.

significant differences in any of the measures were found (minimum *p*-value was 0.073).

4. Discussion

We measured visual sensitivity at 76 locations in the central 27° of the visual field in a group of retired workers that were exposed to mercury vapor in their working environment (fluorescent lamp factories). These workers had been previously diagnosed, their working conditions and general pathological symptoms described (Medrado-Faria, 2003; Zavariz and Glina, 1992), and several aspects of their neuropsychological conditions and visual functions quantified (Ventura et al., 2004, 2005; Feitosa-Santana et al., 2006, 2007; Zachi et al., 2007). The effects of mercury intoxication were severe enough that these workers had been placed on disability retirement.

To our knowledge, the present study is the first to document visual field impairment caused by mercury vapor intoxication using automated perimetry. We showed that visual sensitivity is reduced in subjects exposed to mercury vapor, both in the fovea and peripheral regions of the visual field.

Previous studies have shown that methylmercury intoxication via ingestion decreases the sensitivity in the periphery of the visual field—so-called “concentric visual field constriction” (Hunter et al., 1940; Hunter and Russell, 1954; Korogi et al., 1997; Sabelaish and Hilmi, 1976). Results of recent nuclear magnetic resonance imaging suggests that the visual field impairment due to mercury intoxication is well correlated with the damage to the anterior portion of the calcarine cortex at the junction of the calcarine and parieto-occipital fissures where the peripheral visual field is represented (Korogi et al., 1994,

Fig. 2. Visual field results. Mean sensitivity at the fovea and for the locations within five concentric eccentricity rings, from 3 to 27 degrees of visual angle. Normative data are shown by upper and lower limits (gray bars) and the data from the eyes of 35 patients are plotted individually as filled diamonds. (A) SAP we found significant sensitivity reduction for the experimental group relative to the control group at all examined regions: foveal threshold, $p = 0.009$; each of the five successive concentric rings $p < 0.001$. (B) SWAP we found significant sensitivity reduction for the experimental group relative to the control group at all examined regions ($p < 0.001$), except for the foveal threshold ($p = 0.277$) and the 15° ring ($p = 0.965$).

1997, 1998). Concentric visual field constriction is found in 100% of cases of Minamata disease (Chang, 1977; Harada, 1995) and has been explained by lesions in the calcarine cortex (Korogi et al., 1997), in agreement with histological findings in monkeys exposed to methylmercury and mercuric chloride (Charleston et al., 1995).

In the early 1970s, there was an outbreak of organo-mercury poisoning in Iraqi farmers who consumed treated

grain. The visual field changes in most of the Iraqi patients examined also had the shape of concentric constriction at all quadrants, and no improvement was found on follow-up examination (Sabelaish and Hilmi, 1976).

Mercury is trapped within the retinal capillary walls and its retention is stable throughout a long period of time (Warfvinge and Bruun, 1996). It quickly penetrates into the nervous tissue through the blood–brain barrier, crosses the neuronal membrane and, as the result of digestion of damaged mercury containing organelles, is sequestered into lysosome dense bodies (Danscher and Schroder, 1979; Graeme and Pollack, 1998). Exposure to mercury vapor has been shown to produce mercury deposits in primate retinas (Warfvinge and Bruun, 1996; Warfvinge and Bruun, 2000). In these studies, the eyes of monkeys exposed to mercury vapor had a high amount of metal found in the optic disc, retinal pigment epithelium, capillary walls, and neural retina. Mercury does not accumulate evenly throughout the retinal layers. For instance, the ganglion cell layer showed mercury deposits in moderate amounts. A detailed topographical analysis showed mercury deposits in the central and mid-peripheral parts of the retina, but not in the peripheral retina (Warfvinge and Bruun, 1996, 2000).

Our results are in agreement with other measurements made in the same subjects (Ventura et al., 2004, 2005; Feitosa-Santana et al., 2007), and with persistent effects on neurobehavioral function for several years after the mercury vapor exposure (Kishi et al., 1993; Zachi et al., 2007). Our previous psychophysical and electrophysiological studies of the central vision in this group of patients showed a moderate to severe impairment of several visual functions. They exhibited psychophysical losses of achromatic contrast sensitivity, chromatic contrast sensitivity, and color discrimination, as well as losses in contrast sensitivity measured by visual evoked potential (Ventura et al., 2004, 2005; Feitosa-Santana et al., 2007). In addition, their full field electroretinograms were altered and their multifocal electroretinograms have decreased amplitudes revealing a loss of the retinal response in the fovea and within the 25 central degrees (Ventura et al., 2004).

In SAP or white-on-white perimetry, we found a reduction in visual sensitivity at all eccentricities from the fovea out to 27° in the periphery. These results are consistent with the decrease of central retinal response found in the multifocal electroretinogram evaluation, and with the losses in functions mediated by central vision such as color discrimination and spatial contrast sensitivity (Ventura et al., 2004, 2005).

The SWAP or blue-on-yellow perimetry has been used for evaluation of different neuro-ophthalmologic disorders (Keltner and Johnson, 1995). It was originally designed to evaluate the retinal damage in glaucoma since this protocol is designed to target visual processing in the inner retina (Sample, 2000; Polo et al., 2001; Wild, 2001). In the inner retina, some ganglion cells depolarize in response to blue light (which preferentially activates the shortwavelength-

sensitive cones) and hyperpolarize in response to yellow light (which activates equally the long and middle wavelength-sensitive cones). These cells are classified as +S–(M+L) (Dacey and Lee, 1994; Lee et al., 1989; Silveira et al., 1999).

Our results from the blue-on-yellow analysis measured in the SWAP protocol revealed that, except for the fovea and for the 15° ring, there were losses in the mercury-exposed group compared with control group at all eccentricities measured. The fact that the foveal blue-on-yellow sensitivity of mercury-exposed group was similar to that of the control group is not surprising given the lack of short-wavelength cones within the central 3–4° (Curcio et al., 1991; Roorda and Williams, 1999; Calkins, 2001). With respect to the lack of difference between controls and mercury exposed patients in the SWAP protocol, several authors have shown that the blue–yellow mechanism is more robust than the red–green as one moves from the fovea to the periphery (Mullen and Kingdom, 2002) and perhaps this lack of effect suggests that it is less affected at the periphery.

Electroencephalographic changes have been observed in people with chronic exposure to mercury vapor (Urban et al., 2003). In the primary visual cortex (V1), electrophysiological measurement of luminance contrast sensitivities using the visual evoked potential showed that there is impairment in the response to all spatial frequencies as a result of mercury intoxication (Ventura et al., 2005). Similarly, psychophysical measurement of luminance and chromatic contrast sensitivity, as well color vision, show diffuse losses, leading to the conclusion that there is a generalized impairment in the visual pathways as a result of mercury intoxication (Ventura et al., 2005).

In addition, the impairment of function in the periphery, mid-periphery, and central retina found by full field and multifocal electroretinography could explain reductions in sensitivity found throughout the visual field by SAP evaluation (Ventura et al., 2004).

To our knowledge, the present study constitutes the first assessment of visual field in subjects exposed to mercury vapor. We find that significant losses of sensitivity in both the central and peripheral parts of the visual field persist in patients even after more than an average of 7 years following cessation of exposure. This visual impairment may have a cortical origin, as demonstrated in studies of methylmercury intoxication, but there is also a significant retinal involvement in these losses, since the same patients had demonstrable losses of retinal function in a previous study (Ventura et al., 2004). Previous reports in the literature describe moderate to severe concentric constriction of the visual field in subjects with methylmercury intoxication measured manually with the Goldman perimeter. The present results amplify concerns regarding potential medical risks of exposure to environmental mercury sources by demonstrating significant and widespread reductions of visual sensitivity using the more reliable automated perimetry.

Acknowledgment

We are grateful to Russell D. Hamer for assistance in editing the manuscript.

References

- Altmann, L., Sveinsson, K., Kramer, U., Weishoff-Houben, M., Turfeld, M., Winneke, G., et al., 1998. Visual functions in 6-year-old children in relation to lead and mercury levels. *Neurotoxicol. Teratol.* 20, 9–17.
- Bast-Petersen, R., Ellingsen, D.G., Efskind, J., Jordskogen, R., Thomassen, Y., 2005. A neurobehavioral study of chloralkali workers after the cessation of exposure to mercury vapor. *Neurotoxicology* 26, 427–437.
- Bengtsson, B., Olsson, J., Heijl, A., Rootzén, H., 1997. A new generation of algorithms for computerized threshold perimetry, SITA. *Acta Ophthalmol. Scand.* 75, 368–375.
- Calkins, D.J., 2001. Seeing with S cones. *Prog. Retinal Eye Res.* 20, 255–287.
- Cavalleri, A., Gobba, F., 1998. Reversible color vision loss in occupational exposure to metallic mercury. *Environ. Res.* 77, 173–177.
- Cavalleri, A., Belotti, L., Gobba, F., Luzzana, G., Rosa, P., Seghizzi, P., 1995. Colour vision loss in workers exposed to elemental mercury vapour. *Toxicol. Lett.* 77, 351–356.
- Chang, L.W., 1977. Neurotoxic effects of mercury—a review. *Environ. Res.* 14, 329–373.
- Chang, L.W., Hartmann, H.A., 1972a. Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication II. Pathological changes in the nerve fibers. *Acta Neuropathol.* 20, 316–334.
- Chang, L.W., Hartmann, H.A., 1972b. Blood–brain barrier dysfunction in experimental mercury intoxication. *Acta Neuropathol.* 21, 179–184.
- Charleston, J.S., Body, R.L., Mottet, N.K., Vahter, M.E., Burbacher, T.M., 1995. Autometallographic determination of inorganic mercury distribution in the cortex of the calcarine sulcus of the monkey macaca fascicularis following long-term subclinical exposure to methylmercury and mercuric chloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 132, 325–333.
- Curcio, C.A., Allen, K.A., Sloan, K.R., Lerea, C.L., Hurley, J.B., Klock, I.B., et al., 1991. Distribution and morphology of human cone photoreceptors stained with anti-blue opsin. *J. Comparative Neurol.* 312, 610–624.
- Dacey, D.M., Lee, B.B., 1994. The ‘blue-on’ opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. *Nature* 367, 731–735.
- Dansch, G., Schroder, H.D., 1979. Histochemical demonstration of mercury induced changes in rat neurons. *Histochemistry* 60, 1–7.
- Ellingsen, D.G., Bast-Petersen, R., Efskind, J., Thomassen, Y., 2001. Neuropsychological effects of low mercury vapor exposure in chloralkali workers. *Neurotoxicology* 22, 249–258.
- Ellingsen, D.G., Morland, T., Andersen, A., Kjuus, H., 1993. Relation between exposure related indexes and neurological and neurophysiological effects in workers previously exposed to mercury-vapor. *Br. J. Ind. Med.* 50, 736–744.
- Feitosa-Santana, C., Costa, M.F., Lago, M., Ventura, D.F., 2007. Long-term loss of color vision after exposure to mercury vapor. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 409–414.
- Feitosa-Santana, C., Paramei, G., Bimler, D., Costa, M.F., Lago, M., Oiwa, N.N., Ventura, D.F., 2006. Color space distortions in patients with vapor mercury intoxication. *Perception* 35 (Suppl. S), 185–186.
- Gobba, F., 2000. Color vision: a sensitive indicator of exposure to neurotoxins. *Neurotoxicology* 21, 857–862.
- Graeme, A.K., Pollack, C.V., 1998. Heavy metal toxicity, part I: arsenic and mercury. *J. Emerg. Med.* 16, 45–56.
- Harada, M., 1995. Minamata disease-methylmercury poisoning in Japan caused by environmental-pollution. *Crit. Rev. Toxicol.* 25, 1–24.
- Hargreaves, R.J., Evans, J.G., Janota, I., Magos, L., Cavanagh, J.B., 1988. Persistent mercury in nerve cells 16 years after metallic mercury poisoning. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 14, 443–452.
- Hatch, W.R., Ott, W.L., 1968. Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. *Analyt. Chem.* 40, 2085.
- Hudson, C., Wild, J.M., Oneill, E.C., 1994. Fatigue effects during a single session of automated static threshold perimetry. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35, 268–280.
- Hunter, D., Russell, D.S., 1954. Focal cerebellar and cerebellar atrophy in a human subject due to organic mercury compounds. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 17, 235–241.
- Hunter, D., Bomford, R.R., Russell, D.S., 1940. Poisoning by methyl mercury compounds. *Quart. J. Med.* 9, 193–213.
- Johnson, C.A., Chauhan, B.C., Shapiro, L.R., 1992. Properties of staircase procedures for estimating thresholds in automated perimetry. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33, 2966–2974.
- Keltner, J., Johnson, C., 1995. Short-wavelength automated perimetry in neuro-ophthalmologic disorders. *Arch. Ophthalmol.* 113, 475–481.
- Kishi, R., Doi, R., Fukushima, Y., Satoh, H., Satoh, T., Ono, A., et al., 1993. Subjective symptoms and neurobehavioral performances of ex-mercury miners at an average of 18 years after the cessation of chronic exposure to mercury vapor. *Environ. Res.* 62, 289–302.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Shinzato, J., Okajima, T., 1994. MR findings in 7 patients with organic mercury-poisoning (Minamata-Disease). *Am. J. Neuroradiol.* 15, 1575–1578.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Hirai, T., Ikushima, I., Kitajima, M., Sugahara, T., et al., 1997. Representation of the visual field in the striate cortex: comparison of MR findings with visual field deficits in organic mercury poisoning (Minamata disease). *Am. J. Neuroradiol.* 18, 1127–1130.
- Korogi, Y., Takahashi, M., Okajima, T., Eto, K., 1998. MR findings of Minamata disease-Organic mercury poisoning. *J. Magn. Reson. Imaging* 8, 308–316.
- Kosta, L., Byrne, A.R., Zelenko, V., 1975. Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature* 254, 238–239.
- Lee, B.B., Martin, P.R., Valberg, A., 1989. Nonlinear summation of M- and L-cone inputs to phasic retinal ganglion cells of the macaque. *J. Neurosci.* 9, 1433–1442.
- Magos, L., Clarkson, T.W., 2006. Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann. Clin. Biochem.* 43, 257–268.
- Medrado-Faria, M.A., 2003. Chronic occupational metallic mercurialism. *Rev. Saúde Pública* 37, 116–127.
- Mullen, K.T., Kingdom, F.A.A., 2002. Differential distributions of red–green and blue–yellow cone opponency across the visual field. *Vis. Neurosci.* 19, 109–118.
- Nielsen-Kudsk, F., 1965. Absorption of mercury vapor from the respiratory tract in man. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 23, 250–262.
- Polo, V., Larrosa, J.M., Pablo, L.E., Fernandez, F.J., Honrubia, F.M., 2001. Extension and depth of perimetric defects: comparison of short-wavelength automated perimetry vs conventional perimetry. *Ann. Ophthalmol.* 33, 221–224.
- Roorda, A., Williams, D.R., 1999. The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature* 397, 520–522.
- Rodrigues, A.R., Botelho de Souza, C.R., Braga, A.M., Rodrigues, P.S.S., Silveira, A.T., Damin, E.T.B., Côrtes, M.I.T., Castro, A.J.O., Mello, G.A., Vieira, J.L.F., Pinheiro, M.C.N., Ventura, D.F., Silveira, L.C.L., 2007. Mercury toxicity: contrast sensitivity and color discrimination of subjects exposed to mercury. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 415–424.
- Sabelaish, S., Hilmi, G., 1976. Ocular manifestations of mercury poisoning. *Bull. World Health Organ.* 53 (suppl), 83–86.
- Sample, P.A., 2000. Short-wavelength automated perimetry: it's role in the clinic and for understanding ganglion cell function. *Prog. Retinal Eye Res.* 19, 369–383.
- Silveira, L.C.L., Lee, B.B., Yamada, E.S., Kremers, J., Hunt, D.M., Martin, P.R., Gomes, F.L., 1999. Ganglion cells of a short wavelength sensitive cone pathway in New World monkeys: morphology and physiology. *Vis. Neurosci.* 16, 333–343.
- Silveira, L.C.L., Damin, E.T.B., Pinheiro, M.C.N., Rodrigues, A.R., Moura, A.L.A., Côrtes, M.I.T., Mello, G.A., 2003. Visual dysfunction

- following mercury exposure by breathing mercury vapour or by eating mercury-contaminated food. In: Mollon, J.D., Pokorny, J., Knoblauch, K. (Eds.), *Normal and Defective Colour Vision*. Oxford University Press, Oxford, England, pp. 407–417.
- Toimela, T., Tahti, H., 2004. Mitochondrial viability and apoptosis induced by aluminum, mercuric mercury and methylmercury in cell lines of neural origin. *Arch. Toxicol.* 78, 565–574.
- Urban, P., Lukas, E., Benicky, L., Moscovicova, E., 1996. Neurological and electrophysiological examination on workers exposed to mercury vapors. *Neurotoxicology* 17, 191–196.
- Urban, P., Nerudova, J., Cabelkova, Z., Krajca, V., Lukas, E., Cikrt, M., 2003. EEG photic driving in workers exposed to mercury vapors. *Neurotoxicology* 24, 23–33.
- Ventura, D.F., Costa, M.T.V., Costa, M.F., Berezovsky, A., Salomão, S.R., Simoes, A.L., et al., 2004. Multifocal and full-field electroretinogram changes associated with color-vision loss in mercury vapor exposure. *Vis. Neurosci.* 21, 421–429.
- Ventura, D.F., Simões, A.L., Tomaz, S., Costa, M.F., Lago, M., Costa, M.T.V., et al., 2005. Colour vision and contrast sensitivity losses of mercury intoxicated industry workers in Brazil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 19, 523–529.
- Warfvinge, K., Bruun, A., 1996. Mercury accumulation in the squirrel monkey eye after mercury vapour exposure. *Toxicology* 107, 189–200.
- Warfvinge, K., Bruun, A., 2000. Mercury distribution in the squirrel monkey retina after in utero exposure to mercury vapour. *Environ. Res.* 83, 102–109.
- Wild, J.M., 2001. Short wavelength automated perimetry. *Acta Ophthalmol. Scand.* 79, 546–559.
- Wittmann, Z., 1981. Determination of mercury by atomic-absorption spectrophotometry. *Talanta* 28, 271–273.
- World Health Organization (WHO), 2003. *Elemental mercury and inorganic mercury compounds: human health aspects*. Geneva.
- Zachi, E.C., Taub, A., Medrado-Faria, M.A., Ventura, D.F., 2007. Neuropsychological dysfunction related to earlier occupational exposure to mercury vapor. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 425–433.
- Zavariz, C., Glina, D.M.R., 1992. Neuro-psychological clinical assessment of workers in an electric lamp factory exposed to metallic mercury. *Rev. Saúde Pública* 26, 356–365.