

Elisa Maria Siqueira Lombardi

Associação entre biomarcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos e alterações da função pulmonar em pacientes com silicose

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia

Orientador: Dr. Ubiratan de Paula Santos

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 3018/11, de 13 de outubro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Elisa Maria Siqueira Lombardi

Associação entre biomarcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos e alterações da função pulmonar em pacientes com silicose

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia

Orientador: Dr. Ubiratan de Paula Santos

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 3018/11, de 13 de outubro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Lombardi, Elisa Maria Siqueira
Associação entre biomarcadores inflamatórios e
polimorfismos genéticos e alterações da função
pulmonar em pacientes com silicose / Elisa Maria
Siqueira Lombardi. -- São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.
Orientador: Ubiratan de Paula Santos.

Descritores: 1.Silicose 2.Pneumoconiose 3.Sílica
cristalina 4.Biomarcadores 5.Mediadores
inflamatórios 6.Interleucinas 7.Testes de função
respiratória 8.Predisposição genética para doença
9.Polimorfismo genético

USP/FM/DBD-500/22

Responsável: Erivalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pais Nicola e Marina, minha devoção eterna por vossa dedicação, desde o início e sempre.

Ao meu companheiro Maurício e minha filha Giovana, pela presença constante nos momentos necessários.

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Ubiratan de Paula Santos, agradeço pela disponibilidade permanente desde a confecção do projeto de pesquisa em 2014, consecução do financiamento para a pesquisa, auxílio e orientação na organização e sistematização das ações para execução prática do projeto e pela transmissão de conhecimento de alto padrão científico desde o início da minha residência médica em 2008. Este foi um dos motivos pelos quais decidi escolher o tema deste projeto e acompanhar o serviço durante nove anos após término da especialização.

À minha banca da qualificação: Professores Eduardo Algranti, Gustavo Faibischew Prado, André Albuquerque e André Nathan, por apontarem erros e acertos do meu trabalho, sempre de maneira técnica, gentil e construtiva.

À Equipe da Pós-Graduação e da Administração da Disciplina de Pneumologia: Luana, Alessandra, Solange e Lúcia sempre disponíveis para auxiliar em questões burocráticas durante a execução do projeto.

À Dra. Leila Antonângelo e à técnica Caroline Faria do laboratório de Análises Especiais (LIM03) que possibilitaram a realização das análises dos marcadores inflamatórios com agilidade e primazia.

À Dra. Lisete Ribeiro e aos técnicos do laboratório de Pleura (Milena, Carlos e Aline) do Incor que contribuíram com compromisso e organização para o preparo e armazenagem das amostras e às pesquisadoras do laboratório de Genética Molecular (LIM40), Fernanda e Isabela, pela prontidão na realização das análises.

Às auxiliares administrativas do setor de radiologia do Incor (Aline), da Comissão científica (Alessandra) e técnica de função pulmonar (Fabiane), que contribuíram para a manutenção organizada da logística de encaminhamento dos participantes para a realização dos exames.

À minha colega de pós-graduação, Lavínia Clara, que sempre compartilhou conhecimento e me auxiliou em momentos de dificuldade, tanto prática como emocionalmente, durante esses anos.

Meu especial agradecimento aos voluntários deste estudo, principalmente aos pacientes, que com suas dificuldades e limitações, contribuíram de maneira assídua durante toda a coleta de dados.

Ao Ministério Público do Trabalho, PRT da 2ª Região, nas pessoas das procuradoras Dra. Eliane Lucina e Dra. Mariana Flesch Fortes, pelo apoio que possibilitou o custeio de exames que tornaram possível a realização do estudo.

“Toda a ciência, mesmo a divina ciência, é uma sublime história de detetive. Mas ela não é para detectar porque o homem está morto, mas o obscuro segredo do porquê ele está vivo.”

Gilbert Keith Chesterton

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos: de acordo com List of Journals Indexed in *Index Medicus*.

Nomenclatura de medicamentos: de acordo com as denominações Comuns Brasileiras 2009. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 38/2009. Diário Oficial da União, Brasília (DF). 2009 08 jul.

SUMÁRIO

Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de símbolos	
Lista de siglas e abreviaturas	
Resumo	
Summary	
INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Definição e epidemiologia	1
1.2. Riscos de exposição	2
1.3. Fisiopatologia.....	4
1.4. Formas de apresentação clínico-patológicas, alterações funcionais, e diagnóstico.....	6
1.5. Marcadores e silicose.....	12
1.6. Tratamento.....	16
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Geral	16
2.2. Específicos.....	17
3. HIPÓTESE.....	17
4. MÉTODOS.....	17
4.1. Tipo do estudo	17
4.2. Indivíduos participantes.....	17
4.3. Critérios de inclusão.....	18
4.4. Critérios de exclusão.....	18
4.5. Procedimentos	19
4.5.1. Avaliação clínica e ocupacional	19
4.5.2. Exames de imagem	21
4.5.3. Exames de função pulmonar	22

4.5.4. Exames para avaliar marcadores sanguíneos e polimorfismos genéticos	22
4.5.5. Teste de exercício	23
4.5.6. Análises estatísticas	24
5. RESULTADOS.....	25
5.1. Características demográficas e antropométricas.....	26
5.2. Análises comparativas das variáveis clínicas nos grupos avaliados.....	29
5.3. Análises comparativas das variáveis do teste de função pulmonar, do teste de caminhada de 6 minutos e dos exames de imagem, entre os grupos estudados	31
5.4. Análises comparativas dos marcadores sanguíneos dos grupos avaliados	37
5.6. Marcadores inflamatórios associados à presença de silicose e grandes opacidades	43
5.7. Marcadores inflamatórios e função pulmonar	46
5.8. Análises dos polimorfismos genéticos dos grupos avaliados	48
5.9. Polimorfismos associados à silicose e à função pulmonar	51
6. DISCUSSÃO	52
6.1. Avaliação clínica e sobre antecedentes de comorbidades	53
6.2. Função pulmonar, capacidade de exercício e imagem.....	55
6.3. Marcadores inflamatórios	56
6.4. Polimorfismos genéticos e suas possíveis associações com alterações na função pulmonar em indivíduos com silicose	63
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	65
8. CONCLUSÕES	65
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
10. ANEXOS.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Atividades relacionadas à exposição à sílica (1).	3
Figura 2. Atividades relacionadas à exposição à sílica (2).....	4
Figura 3. Patogênese da Silicose.....	5
Figura 4. Achados radiológicos da Silicose Subaguda (ou Acelerada)..	8
Figura 5. Achados radiológicos da Silicose Crônica Complicada.....	9
Figura 6. Achados radiológicos da Silicose Crônica com Fibrose Maciça Progressiva.....	10
Figura 7. Achados histopatológicos da silicose aguda e crônica.	11
Figura 8. Fluxograma de captação e exclusão de participantes	26
Figura 9. Gráficos das médias das variáveis do TC6M ao longo do tempo, comparação entre os grupos.....	35
Figura 10. Níveis de marcadores hematológicos de acordo com o estatus de exposição à sílica.....	39
Figura 11. Níveis de marcadores inflamatórios de acordo com o estatus de exposição à sílica.....	39
Figura 12. Níveis de marcadores inflamatórios de acordo com o estatus de exposição à sílica.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais ramos de atividades com risco de exposição à sílica.....	3
Tabela 2. Características de imagem, funcionais e histopatológicas das formas clínicas de silicose	7
Tabela 3. Classificação dos escores de exposição dos participantes	20
Tabela 4. Marcadores sanguíneos e polimorfismos genéticos avaliados	23
Tabela 5. Características gerais dos participantes, segundo exposição à sílica.	27
Tabela 6. Distribuição dos participantes segundo ramo de atividades (%).....	28
Tabela 7. Prevalência de sintomas respiratórios e escore de dispneia entre os grupos (%).	29
Tabela 8. Comparação dos sinais vitais e oximetria obtidos na avaliação clínica entre os grupos avaliados.	30
Tabela 9. Comparação de parâmetros da função pulmonar completa entre os grupos avaliados.	31
Tabela 10. Distribuição de frequência de achados na prova de função pulmonar entre os grupos avaliados.	32
Tabela 11. Resultados da avaliação comparativa entre os grupos do desempenho no Teste de caminhada de 6 minutos.	35
Tabela 12. Dados de exames laboratoriais gerais, comparação entre os grupos avaliados.....	37
Tabela 13. Marcadores inflamatórios, comparação entre os grupos	37
Tabela 14. Análise comparativa da função pulmonar em indivíduos com silicose, segundo ausência ou presença de grandes opacidades.....	41
Tabela 15. Análise comparativas dos marcadores em indivíduos com silicose crônica segundo ausência ou presença de grandes opacidades	42
Tabela 16. Valores de ASC, sensibilidade e especificidade de marcadores inflamatórios associados à presença de silicose.	43
Tabela 17. Valores de ASC, sensibilidade e especificidade de marcadores inflamatórios associados à presença de grandes opacidades.....	44
Tabela 18. Variáveis associadas à presença de silicose, comparação entre grupo de expostos sem e com silicose.....	45

Tabela 19. Correlação entre marcadores e variáveis da função pulmonar (%pred) no grupo com silicose (N=97)	46
Tabela 20. Marcadores inflamatórios associados à pior função pulmonar (G2+G3, N: 247)	47
Tabela 21. Análises comparativas das frequências de genes codificadores da família glutationa-S-transferase: <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i> , entre os grupos avaliados.....	49
Tabela 22. Análises comparativas das frequências de genes <i>XRCC1-194</i> , <i>XRCC1-399</i> , <i>XRCC3</i> e <i>XPB</i> , entre os grupos avaliados.	49
Tabela 23. Distribuição das frequências genotípicas, alélicas (minor allele frequency, MAF) e resultado das análises do Equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i> nos grupos G2+G3 (N=236).	50
Tabela 24. Polimorfismos associados a piores parâmetros de função pulmonar em indivíduos expostos à sílica, com e sem silicose (N=246)	51

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcento
cm	centímetro
dL	decilitro
Hb	hemoglobina
Kg	quilograma
µg	micrograma
m	metro
m ²	metro quadrado
m ³	metro cúbico
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
mmHg	milímetro de mercúrio
ng	nanograma
pg	picograma

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADN	ácido desoxirribonucléico
ApoAI	xvpolipoproteína subtipo AI
ApoAII	xvpolipoproteína subtipo AII
ApoCII	xvpolipoproteína subtipo CII
ApoCIII	apolipoproteínas subtipo CIII
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
ASC	área sob a curva
CAT	<i>COPD Assessement Test</i>
CCL24	eotaxina-2
CEA	antígeno carcinoembrionário
CEP	comissão de ética em pesquisa
CNV	<i>copy number variation</i>
CVF	capacidade vital forçada
DHL	desidrogenase láctica
DLco	difusão de monóxido de carbono
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
ECHRS	<i>European Community Health Research Survey</i>
EHW	Equilíbrio de <i>Hardy Weinberg</i>
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
FEF _{25-75%}	fluxo expiratório forçado médio entre 25% e 75%
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GST	glutaciona S-transferase
GSTM1	glutaciona S-transferase sem1
GSTP1	glutaciona S-transferase pi1
GSTT1	glutaciona S-transferase theta1
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
HDL	High-density lipoprotein
IL	interleucina
IL-1 β	interleucina 1-beta
IL-1ra	antagonista de receptor de interleucina1
IL-6	interleucina-6

IL-8	interleucina-8
IL-10	interleucina-10
IMC	índice de massa corporal
LDH	lactato desidrogenase
LMR	razão linfócitos/monócitos
MCP-1	proteína quimiotática de monócitos-1 (CCL2)
MIP-4	proteína inflamatória de macrófagos-4
MMP-9	metaloproteinase-9
MPO	mieloperoxidase
MRCM	<i>Medical Research Council Modificado</i>
NLR	razão neutrófilos/linfócitos
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica
PAS	pressão arterial sistólica
PCR	proteína C Reativa
PLR	razão plaquetas/linfócitos
Raw	resistência de vias aéreas
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polimorphism</i>
sTNF1RI	receptor solúvel de TNF subtipo I
sTNF1RII	receptor solúvel de TNF subtipos II
sVCAM	molécula de adesão celular vascular solúvel tipo 1
TGF- β	fator de crescimento tumoral beta
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
VEF ₁	volume expiratório forçado no primeiro segundo
XPD	<i>Xeroderma Pigmentosum Complementary Group D</i>
XRCC1	<i>X-Ray repair Cross-Complementing group 1</i>
XRCC3	<i>X-Ray repair Cross-Complementing group 3</i>

RESUMO

Lombardi, SEM. Associação entre biomarcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos e alterações da função pulmonar em pacientes com silicose. [Tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

INTRODUÇÃO: A silicose é a pneumoconiose mais prevalente no mundo e causa importante de incapacidade e morte. Estudos sugerem a associação de marcadores inflamatórios e de polimorfismos genéticos a maior risco de desenvolvimento de silicose e declínio acentuado na função pulmonar. No entanto, estas associações ainda estão pouco esclarecidas, bem como sua aplicabilidade na prevenção e na prática clínica. **OBJETIVOS:** Avaliar a associação de marcadores inflamatórios e de polimorfismos genéticos à frequência e tipo de alterações da função pulmonar e à forma de apresentação da silicose através de exame de imagem, em indivíduos expostos à sílica sem e com silicose. **MÉTODOS:** Foram incluídos homens expostos à sílica com (G3) e sem silicose (G2) e não expostos (G1). Todos foram submetidos a questionários respiratórios, avaliação clínica, ocupacional, função pulmonar completa, radiografia de tórax (todos os participantes), tomografia de tórax (exceto os controles não expostos), teste de caminhada de 6 minutos, análises de marcadores inflamatórios sistêmicos e determinação de polimorfismos genéticos da família da glutathione S-transferase (*GST*) e de genes de reparação de DNA (*XRCC1*, *XRCC3*, *XPD*), em amostras de sangue. Foram realizadas análises descritivas comparando as frequências de alterações clínicas, funcionais, de imagem, desempenho no exercício, marcadores inflamatórios e polimorfismos entre os grupos e análises de regressão logística múltipla para identificação de marcadores associados ao diagnóstico de silicose, a pior função pulmonar e imagem radiológica com grandes opacidades. **RESULTADOS:** Foram avaliados 297 indivíduos do sexo masculino dos quais, 51 controles não expostos (G1), 149 expostos à sílica sem silicose (G2) e 97 com silicose (G3). Indivíduos com silicose apresentaram maior média de idade, maior índice de exposição à sílica, maior frequência de infecções respiratórias prévias (bacterianas e micobacterianas), maior frequência de sintomas respiratórios (com destaque para sibilância), maiores níveis de pressão arterial sistêmica à avaliação clínica, piores parâmetros de função pulmonar, maior frequência de alterações de

imagem radiológica, pior capacidade de exercício e maiores valores de marcadores inflamatórios em comparação aos outros dois grupos. Aqueles com presença de grandes opacidades tiveram ainda piores parâmetros de função pulmonar, pior distância percorrida no teste de caminhada e valores mais elevados de marcadores inflamatórios em comparação àqueles sem grandes opacidades. Indivíduos expostos à sílica sem silicose apresentaram prevalência aumentada de espessamento de vias aéreas em comparação aos não expostos ajustado para tabagismo. A prevalência de distúrbio ventilatório obstrutivo (DVO) foi maior do que o esperado para a população normal no grupo de expostos sem silicose, com risco 14 vezes maior em comparação aos não expostos. Nas análises múltiplas, os marcadores: razão plaquetas/linfócitos (PLR), lactato desidrogenase (LDH), receptor solúvel de fator de necrose tumoral tipo II (sTNFRII), proteína inflamatória de macrófagos (MIP-4) e BORG Dispneia (TC6min) estiveram, entre os expostos, associados positivamente à presença de silicose e a LDH e o sTNFRII associados positivamente à presença de grandes opacidades. Os marcadores associados a pior função pulmonar foram LDH, sTNFRII, razão neutrófilos/linfócitos (NLR), fibrinogênio, proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e BORG D. Indivíduos heterozigotos e homozigotos polimórficos para o gene *GSTP1* apresentaram associação com melhor função pulmonar. Os marcadores associados ao maior número de variáveis com pior desfecho em expostos à sílica com e sem silicose foram LDH e sTNFRII. **CONCLUSÕES:** Marcadores inflamatórios sistêmicos e desempenho no teste de caminhada estão associados a presença de silicose e pior função pulmonar em indivíduos expostos à sílica com e sem silicose. Foi observada associação protetiva do polimorfismo genético (*GSTP1*) para a função pulmonar em indivíduos com silicose. LDH e sTNFRII foram os marcadores com associações mais significativas a diagnóstico de silicose, severidade radiológica e pior função pulmonar. Estes marcadores, se confirmados os presentes achados em estudos longitudinais, podem ser úteis para o monitoramento de pacientes expostos à sílica, na detecção precoce da silicose e de indivíduos com maior risco de pior evolução radiológica e da função pulmonar.

Palavras chave: Silicose. Pneumoconiose. Sílica cristalina. Biomarcadores. Mediadores inflamatórios. Interleucinas. Função pulmonar. Suscetibilidade genética. Polimorfismo genético.

SUMMARY

Lombardi, EMS. Association between inflammatory biomarkers and genetic polymorphisms and alterations in lung function in patients with silicosis. [Thesis] Sao Paulo: Faculty of Medicine, University of Sao Paulo; 2021.

INTRODUCTION: Silicosis is the most prevalent pneumoconiosis in the world and an important cause of disability and death. Studies suggest the association of inflammatory markers and genetic polymorphisms with a higher risk of developing silicosis and a marked decline in lung function. However, these associations are still poorly understood, as well as their applicability in prevention and clinical practice. **OBJECTIVES:** To evaluate the association of inflammatory markers and genetic polymorphisms with the frequency and type of changes in lung function and the presentation of silicosis by imaging tests, in individuals exposed to silica without and with silicosis. **METHODS:** Men especially exposed to silica with (G3) and without silicosis (G2) and unexposed (G1) were included. All were submitted to respiratory questionnaires, clinical and occupational evaluation, complete pulmonary function, chest radiography (all participants), control tomography (except unexposed controls), 6-minute walk test, analysis of systemic protectors and determination of genetic polymorphisms of the glutathione S-transferase (*GST*) family and DNA repair genes (*XRCC1*, *XRCC3*, *XPD*), in blood samples. Descriptive analyzes were performed comparing the frequencies of clinical, functional, imaging changes, exercise performance, inflammatory markers and polymorphisms between groups and multiple logistic regression analyzes were performed to identify markers associated with the diagnosis of silicosis, worse lung function and radiological imaging with large opacities. **RESULTS:** A total of 297 male individuals were evaluated, including 51 unexposed controls (G1), 149 exposed to silica without silicosis (G2) and 97 with silicosis (G3). Individuals with silicosis had a higher average age, a higher rate of exposure to silica, a higher frequency of previous respiratory infections (bacterial and mycobacterial), a higher frequency of respiratory symptoms (especially wheezing), higher levels of systemic blood pressure at clinical evaluation, worse pulmonary function parameters, higher frequency of radiological image changes, worse exercise capacity and higher values of inflammatory markers compared to the other two groups. Those with large opacities had even worse pulmonary

function parameters, worse walking distance and higher values of inflammatory markers compared to those without large opacities. Individuals exposed to silica without silicosis presented increased prevalence of airway thickening compared to those not exposed adjusted for smoking status. The prevalence of obstructive ventilation disorder (OVD) was higher than expected for the normal population in the group exposed without silicosis, with 14-fold higher risk compared to those not exposed. In multiple analyses, the markers: platelet/lymphocyte ratio (PLR), lactate dehydrogenase (LDH), soluble tumor necrosis factor receptor type II (sTNFRII), macrophage inflammatory protein (MIP-4) and BORG Dyspnea (6MWT) were, among those exposed to silica, positively associated with the presence of silicosis and LDH and sTNFRII positively associated with the presence of large opacities. The markers associated with worse lung function were LDH, sTNFRII, neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), fibrinogen, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and BORG D. Heterozygous and polymorphic homozygous individuals for the *GSTP1* gene were associated with better lung function. The markers associated with the highest number of variables with worst outcome in those exposed to silica with and without silicosis were LDH and sTNFRII. **CONCLUSIONS:** Systemic inflammatory markers and performance on the walking test are associated with the presence of silicosis and worse lung function in individuals exposed to silica with and without silicosis. A protective association of genetic polymorphism (*GSTP1*) for lung function was observed in individuals with silicosis. LDH and sTNFRII were the markers with the most significant associations with the diagnosis of silicosis, radiological severity and worse lung function. These markers, if confirmed the present findings in longitudinal studies, may be useful for monitoring patients exposed to silica, early detection of silicosis and individuals at greater risk of worse radiological evolution and lung function.

Keywords: Silicosis. Pneumoconiosis. Crystalline silica. Biomarkers. Inflammatory mediators. Interleukins. Pulmonary function. Genetic susceptibility. Genetic polymorphism.

INTRODUÇÃO

1.2. Definição e epidemiologia

O termo pneumoconiose foi descrito por Zenker em 1866, entretanto, em 460 a.C., Hipócrates já havia descrito a inalação de poeiras como causadora de doenças pulmonares e em 1556, foi publicado o tratado “De Re Metallica” do médico e geólogo alemão Georgius Agricola que, embora centrado em mineralogia, descreve uma doença pulmonar nos trabalhadores de minas de ouro e prata.(1,2) O termo “silicose” foi empregado pela primeira vez por Visconti, em 1870 e Collis, em 1915, estabeleceu o risco de morte em diversas profissões, detectando maior mortalidade entre os mineiros.(1)

A silicose é uma pneumoconiose caracterizada pela inflamação do pulmão com a formação de granulomas e fibrose causada por inalação de sílica cristalina (dióxido de silício). É a pneumoconiose mais prevalente no Brasil e no mundo (3), irreversível e muitas vezes incapacitante, com grande morbimortalidade, principalmente nos países de baixa renda per capita (4,5). A exposição à poeira de sílica também está relacionada com outras doenças, como o câncer de pulmão (a sílica foi classificada em 1996 como carcinógeno do Grupo 1 pela *International Agency for Research on Cancer – IARC*), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doenças autoimunes (lúpus, artrite reumatoide, esclerose sistêmica), insuficiência renal crônica e ao aumento do risco de infecções respiratórias – bacterianas, fúngicas, tuberculose e micobacteriose não tuberculose (4,6,7).

Inúmeras atividades expõem à sílica milhares de trabalhadores em todo o mundo, sendo países como Índia, China e Turquia aqueles com maior número de casos de silicose. Dados de 2017 estimam que a prevalência mundial de silicose seja de 162,4 mil casos, a incidência de 23,7 mil casos (39% dos casos novos diagnosticados) e causa de 11,3 mil óbitos (aumento de 12% na mortalidade em relação ao ano de 2007) e de 261 mil anos de vida perdidos ou vividos com incapacidade (DALYs) (3,8–10). O aumento do rigor no controle dos ambientes de trabalho reduziu a prevalência de silicose, através de ações como o Programa Global de Eliminação da Silicose em 1995 criado pelo Comitê da Junta da Organização Internacional do Trabalho e Organização Mundial para Saúde Ocupacional (11), mas ainda é um importante problema de saúde dos trabalhadores.

No Brasil, com estatísticas provavelmente subestimadas pela subnotificação, a prevalência de expostos em 2007 foi estimada em cerca de 3,2 milhões em todo território nacional, sendo 820 mil no Estado de São Paulo, que correspondia a 6% da força de trabalho formal em nível nacional (12). Considerando a expressiva prevalência atual de trabalhadores informais (acima de 50%), supõe-se que a exposição à sílica seja ainda maior (13). Estudo brasileiro recente sobre tendência de mortalidade por silicose no Brasil no período de 1980 a 2017 (13) evidenciou 3.164 óbitos (96,6% eram homens) e tendência de mortalidade crescente até 2006 com posterior queda variando conforme grupos etários, sendo os indivíduos com mais de 70 anos aqueles que apresentaram tendência de mortalidade crescente durante todo o período avaliado. Dentre as causas contributivas de óbito, mais comuns entre os indivíduos com média de idade maior que 65 anos, a tuberculose foi a mais prevalente (19,1%), seguidas por DPOC (13,8%), câncer de pulmão (2,8%) e renais e autoimunes (2,4%).

A falta de engajamento e conhecimento dos profissionais com relação à etiologia ocupacional da silicose também é um fato causador de prejuízos ao trabalhador que perde direitos ao não ter sua condição enquadrada como tal, além de reduzir o conhecimento sobre a realidade brasileira sobre a doença e o esforço para adoção de medidas de prevenção. Apesar da criação, no Brasil, do Programa Nacional de Eliminação da Silicose (PNES) em 2002 e da aprovação de medidas positivas como a proibição do jateamento de areia (14), a dificuldade na sua implantação efetiva contribuiu para a continuidade de milhões de trabalhadores expostos à poeira de sílica no Brasil e a ocorrência de casos graves com silicose acelerada e mesmo aguda.

1.2. Riscos de exposição

As principais atividades/ramos ocupacionais com exposição à sílica estão listadas na Tabela 1 e demonstradas nas Figuras 1 e 2. Envolve manipulação de solos, rochas, pedras e areia através da extração, perfuração, escavação, britagem, moagem, polimento, rebarbação, acabamento, jateamento abrasivo, lapidação e britagem destes materiais até a poeira mais fina que pode ficar suspensa no ar por várias horas ou dias (5).

Tabela 1. Principais ramos de atividades com risco de exposição à sílica

Pedreiras	Indústria de borracha
Mineração	Lapidário
Indústria de vidro	Indústria farmacêutica
Indústria cerâmica	Indústria de fertilizantes
Construção civil	Indústria de abrasivos
Marmoraria	Indústria de cosméticos
Fundição	Indústria de jeans
Perfuração de poços	Atividades artísticas



Figura 1. Atividades relacionadas à exposição à sílica (1). (A) Escultura de pedras. (B) Manutenção de forno de tijolo refratário. (C) Construção civil. (D) Beneficiamento de areia (Imagens retiradas do Google, sem direitos autorais)



Figura 2. Atividades relacionadas à exposição à sílica (2). (A) Pedreira. (B) Lixamento de pedras em marmoraria. (C) Rebarbação de peças metálicas em molde de areia. (Imagens retiradas do Google, sem direitos autorais)

1.3. Fisiopatologia

O desenvolvimento da silicose depende: 1. da concentração de poeira inalada, 2. das dimensões da partícula (as mais finas, menores que $4\ \mu\text{m}$, conseguem atingir os alvéolos pulmonares e têm maior toxicidade), 3. do tempo de exposição, 4. da reatividade das partículas (partículas recém fraturadas como, por exemplo, as originadas do jateamento de areia e perfuração de rochas produzem maior concentração de radicais livres de oxigênio e nitrogênio altamente tóxicas e reativas nos tecidos pulmonares) 5. da variedade da sílica (em ordem de toxicidade: quartzo < tridimita < cristobalita) 6. da suscetibilidade individual (há indivíduos com perfil genético que possivelmente favorece o desenvolvimento da silicose) (5,15,16).

A fisiopatologia da silicose (Figura 3) inicia-se com a deposição das partículas de sílica nas vias aéreas distais seguida por sua internalização e fagocitose pelos macrófagos alveolares, com consequente liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio através de uma cascata inflamatória mediada

por diversas citocinas, entre elas, IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alfa, TGF-beta entre outras, levando os macrófagos à apoptose e liberação de partículas de sílica novamente no interstício pulmonar, gerando lesão de células epiteliais tipo I, aumento da ativação de macrófagos e indução de proliferação de células epiteliais tipo II , iniciando um novo ciclo cujo resultado final é a fibrose pulmonar (15–18).

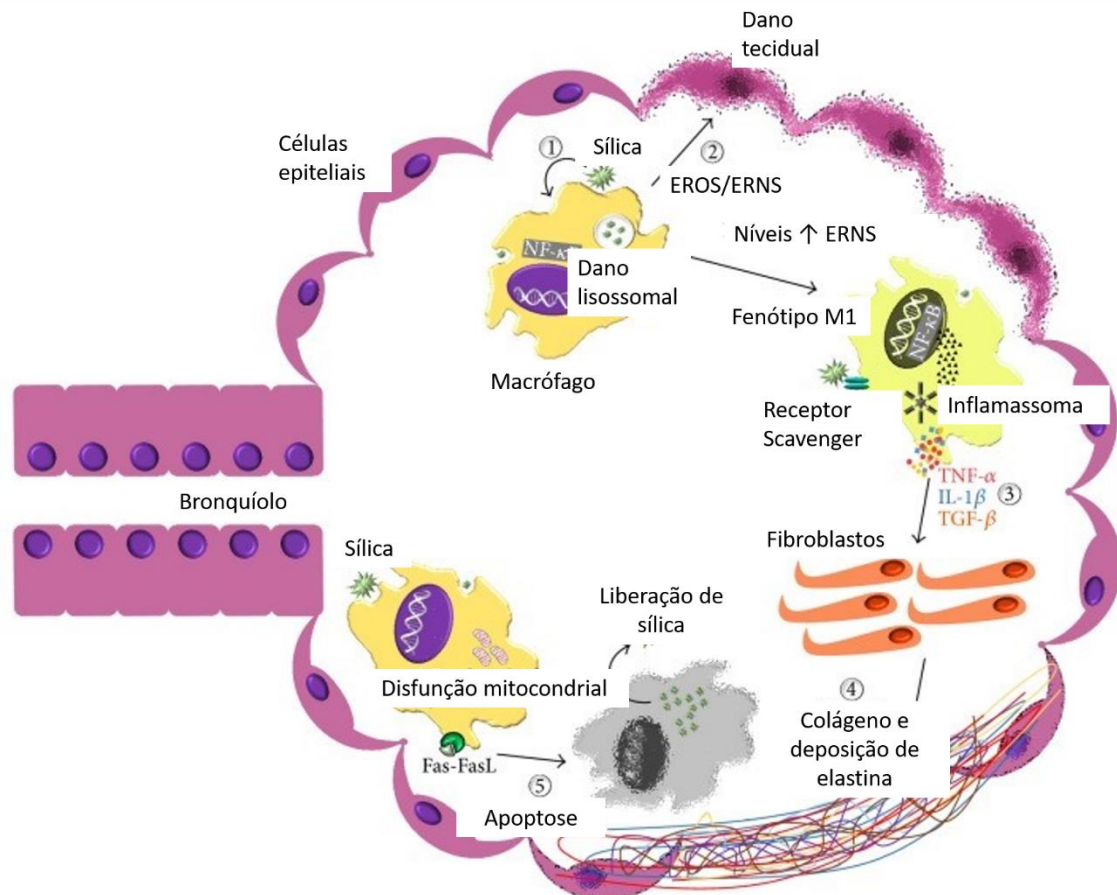


Figura 3. Patogênese da Silicose. Os principais mecanismos que orquestram a progressão da doença causada pelo dano pulmonar induzido pela sílica são (1) citotoxicidade direta, (2) produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e nitrogênio (ERNS), (3) secreção de substâncias inflamatórias e mediadores fibróticos, (4) remodelação pulmonar por meio de deposição de colágeno e elastina e (5) morte celular por apoptose. Fonte: Stem Cells Int. 2016; 2016: 1-9.

1.4. Formas de apresentação clínico-patológicas, alterações funcionais, e diagnóstico

A silicose tem três formas de apresentação clínica: crônica (mais comum), acelerada (subaguda) e aguda, mais rara e grave (4–6). A forma aguda, também chamada de silicoproteinose, decorre da inalação de grandes concentrações de sílica e é caracterizada pela presença de proteinose alveolar, com rápida evolução clínica, sintomas de dispneia em repouso, febre, perda de peso, tosse, leucocitose, levando a hipoxemia, falência respiratória e óbito em poucos meses. A função pulmonar mostra distúrbio ventilatório restritivo. A silicose subaguda, também chamada de silicose acelerada, é a forma intermediária entre a aguda e crônica e decorre de exposição a grande concentração de sílica, e apresenta uma combinação de áreas de proteinose alveolar e áreas com fibrose granulomatosa. Manifesta-se após 5 anos de exposição, na maioria dos casos, e também tem alta morbimortalidade. O paciente apresenta dispneia progressiva e insuficiência respiratória crônica, levando a óbito em poucos anos após início dos sintomas. A função pulmonar pode apresentar distúrbio restritivo ou misto. A silicose crônica se desenvolve após longo período de exposição à sílica em concentrações moderadas, geralmente após mais de 10 anos de exposição, ou após exposição intensa na qual o paciente, por razões desconhecidas, não evoluiu na forma aguda ou acelerada. Pode ou não levar à insuficiência respiratória. A forma crônica pode evoluir para formação de massas conglomeradas de fibrose e vários autores denominam essa forma de silicose complicada, mas na maioria dos pacientes a presença de massas pode não estar associada a complicações com relação à quem apresenta a forma micronodular, sendo assim uma denominação pouco precisa, que evitamos utilizar (4–6).

O diagnóstico de silicose é baseado na história ocupacional e na interpretação da imagem radiográfica ou tomográfica (Figuras 4 a 6). A tomografia de tórax, embora com maior sensibilidade diagnóstica, apresenta alto custo e maior dose de radiação, não devendo ser utilizada como exame de monitoramento sendo reservada para casos em que outro diagnóstico diferencial esteja implicado (19,20), ou para situações onde a radiografia de tórax apresenta baixa profusão das opacidades, ou ainda quando o indivíduo apresenta radiografia considerada normal, mas apresenta sintomas respiratórios ou alterações na função pulmonar não explicáveis. A realização de biópsia para

avaliação histopatológica (Figura 7) é indicada quando não existe boa correlação entre imagem e história de exposição, ou a incerteza diagnóstica devido a múltiplas exposições ou ainda pela evolução do paciente (21). A Tabela 2 mostra as principais características radiológicas e histopatológicas das principais formas clínicas da silicose.

Tabela 2. Características de imagem, funcionais e histopatológicas das formas clínicas de silicose

Forma clínica	Radiografia	Tomografia	Histopatologia	Função pulmonar
Silicose aguda (Silicoproteínose)	Opacidades em vidro fosco e consolidações de predomínio em regiões mediobasais	Opacidades em vidro fosco e pavimentação em mosaico Condensações alveolares de predomínio médiobasal bilateral	Lesão de células epiteliais, espessamento de paredes alveolares, edema intersticial, exsudato eosinofílico intralveolar	Distúrbio ventilatório Restritivo
Silicose subaguda (Acelerada)	Combina pequenas opacidades regulares (micronodulares) de predomínio em regiões superiores/posteriores, com áreas de opacidades em vidro fosco em regiões mediobasais	Micronódulos centrolobulares e subpleurais, opacidades em vidro fosco, pavimentação em mosaico. Linfonodos hilares/mediastinais calcificados ou não. Pode ter grandes opacidades	Exsudato alveolar lipoproteico, presença de granulomas com colágeno (nódulo silicótico) e reticulina Espessamento de septos alveolares, proliferação de células epiteliais tipo II	Distúrbio Ventilatório Restritivo ou misto
Silicose crônica	Pequenas opacidades regulares Linfonodos hilares/mediastinais calcificados ou não Predomínio regiões superiores/posteriores. Os micronódulos coalescem formando massas	Micronódulos de distribuição centrolobular, randômica e perilinfática Linfonodos hilares/mediastinais, calcificados (casca de ovo) ou não Pode ter grandes opacidades	Formações nodulares com centro fibras de colágeno hialino, circundado por macrófagos, linfócitos e fibroblastos (nódulos silicóticos) Pode formar massas fibróticas (fibrose maciça progressiva). Linfonodomegalia com ou sem calcificação.	Distúrbio Ventilatório Obstrutivo, Misto ou Restritivo

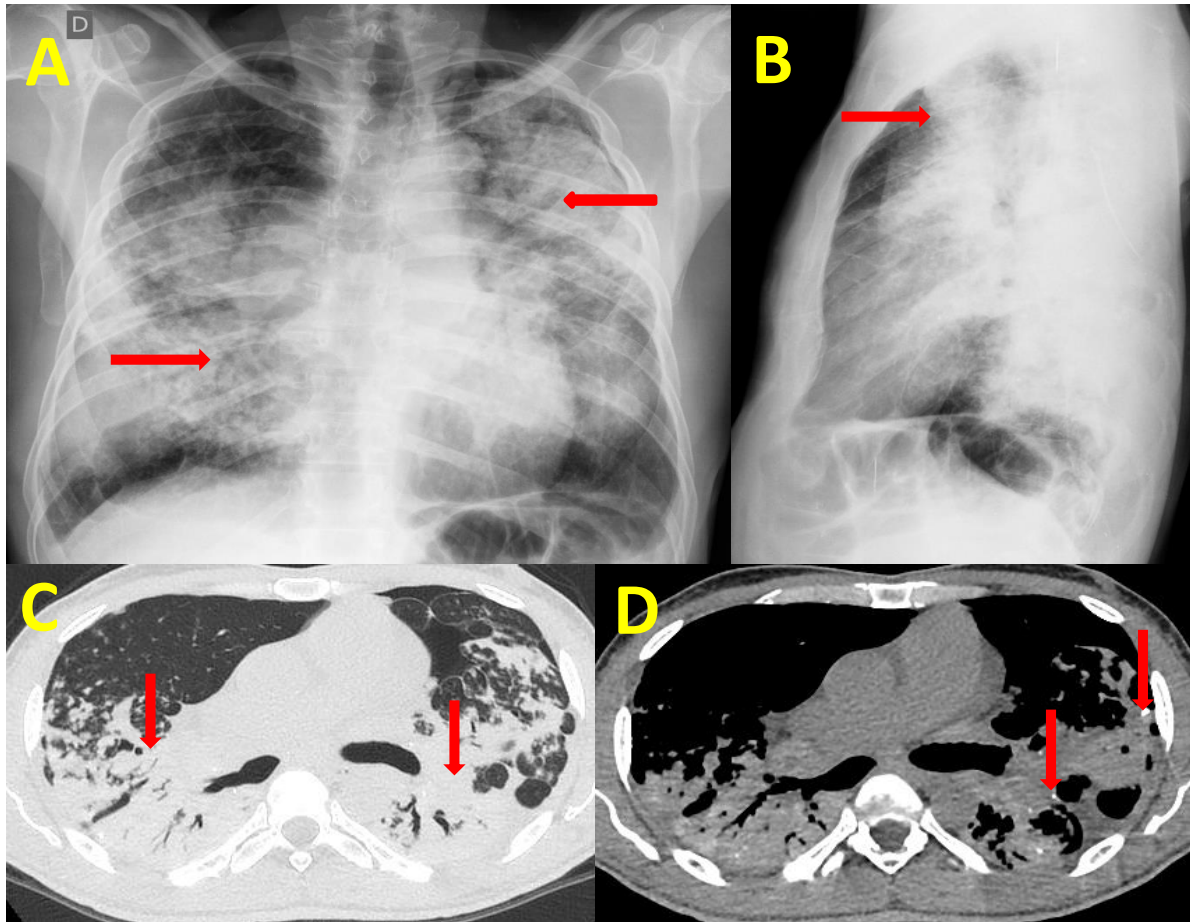


Figura 4. Achados radiológicos da Silicose Subaguda (ou Acelerada). (A) Radiografia de tórax mostra áreas de consolidação e vidro fosco bilaterais e broncogramas aéreos (setas) associadas a opacidades regulares (micronódulos). (B) Imagem da radiografia em perfil, mostrando predomínio das opacidades em campos médio-superiores dos pulmões. (C) Tomografia de tórax mostra áreas de consolidação bilaterais. (D) Tomografia de tórax (janela de mediastino) mostra que as consolidações apresentam pontos de calcificações (setas) (Imagens de arquivo próprio).

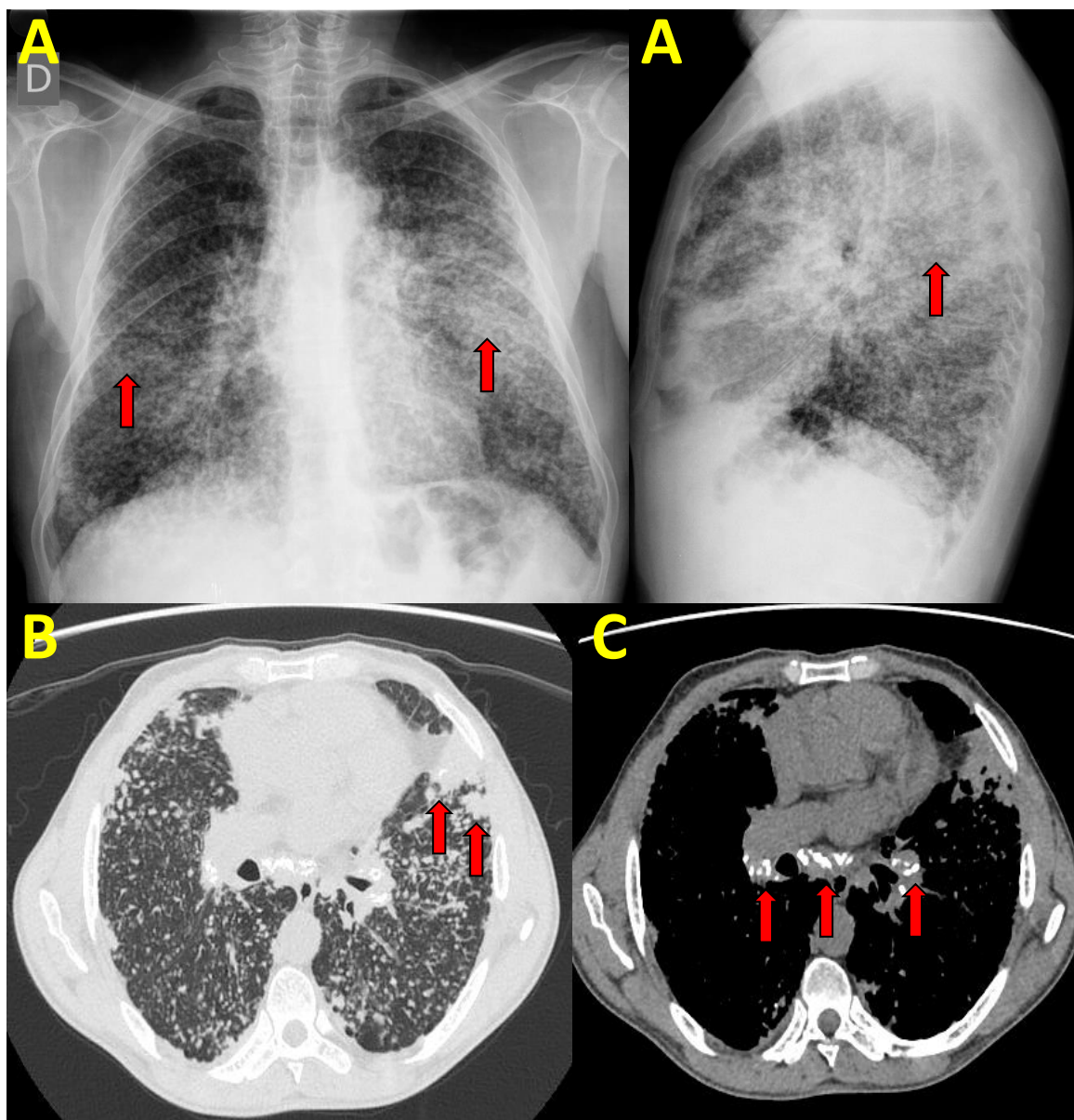


Figura 5. Achados radiológicos da Silicose Crônica Complicada. (A) Radiografia de tórax PA e perfil com micronódulos (opacidades regulares) bilaterais e esparsas pelos pulmões, alguns coalescendo e formando massas (setas) . (B) Tomografia de alta resolução do tórax mostrando micronódulos centrolobulares e de distribuição randômica, alguns calcificados e coalescentes.(setas) (C) Tomografia de tórax, com janela de mediastino, mostrando linfonodos mediastinais e hilares calcificados (Imagens de arquivo próprio).

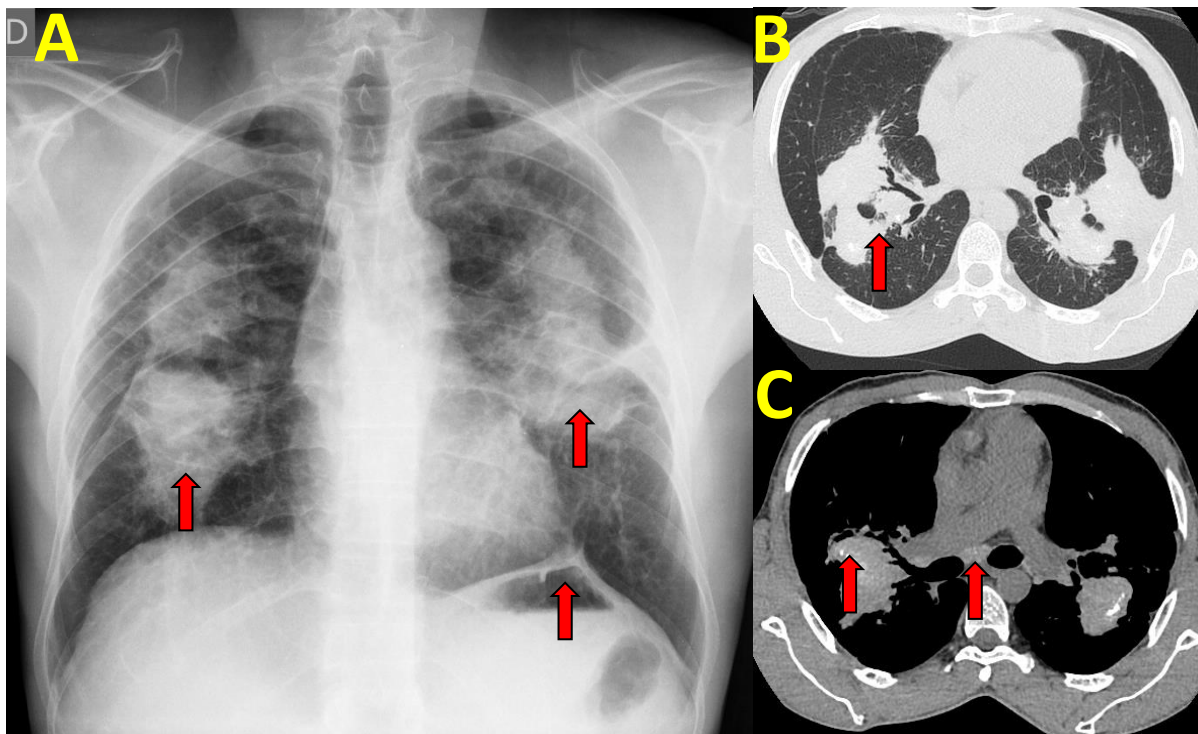


Figura 6. Achados radiológicos da Silicose Crônica com Fibrose Maciça Progressiva. (A) Radiografia de tórax mostra grandes massas (setas) ocupando grande parte do parênquima pulmonar e causando distorção arquitetural das estruturas mediastinais, desvio da traqueia e brônquios, irregularidade da silhueta cardíaca e diafragmática.(setas) (B) Tomografia de tórax de alta resolução mostra grandes massas bilaterais em continuidade com a pleura, bronquiectasias de tração e alguns micronódulos centrolobulares, subpleurais e perilinfáticos. (setas) (C) Tomografia de tórax (mediastino) mostrando calcificação no interior das massas e nos linfonodos mediastinais e hilares (setas) (Imagens de arquivo próprio).

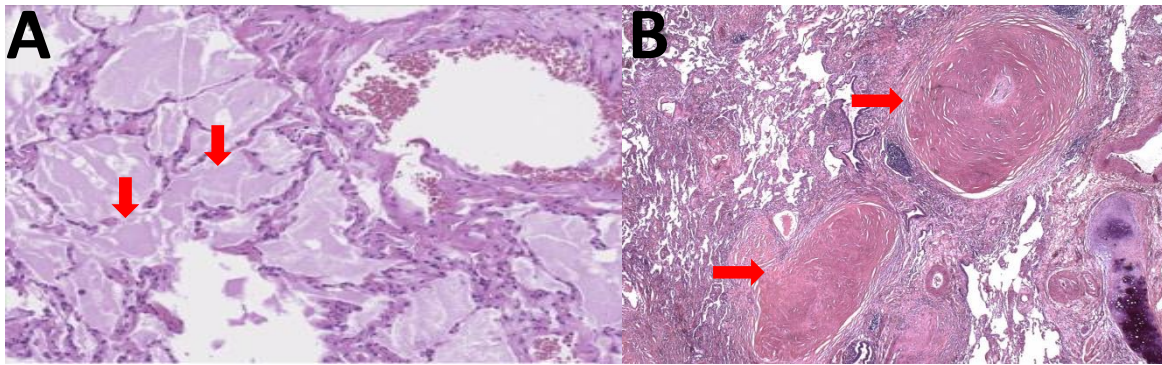


Figura 7. Achados histopatológicos da silicose aguda e crônica. (A) Silicoproteinose (silicose aguda), mostrando alvéolos preenchidos por exsudato eosinofílico proteináceo. (B) Nódulos silicóticos (setas) caracterizados por estruturas arredondadas, com centro de fibras de colágeno hialino dispostas concentricamente e circundadas por fibroblastos, macrófagos e linfócitos. (Fontes: A. Intern Med. 2019; 58(14): 2067-2072; B. Imagem de arquivo próprio).

A prova de função pulmonar é utilizada para detecção de distúrbios funcionais e monitorização sequencial, pelo risco de piora progressiva da função pulmonar, mesmo após cessada a exposição à poeira. Na fase inicial da doença, a função pulmonar pode ser normal, podendo evoluir tanto para distúrbio ventilatório obstrutivo, restritivo ou misto e nem sempre existe boa correlação entre achados de imagem e função pulmonar (22,23). Apesar da silicose ter como substrato fisiopatológico a fibrose pulmonar, diversos estudos evidenciaram o efeito da exposição à sílica no desenvolvimento de DPOC, visto que indivíduos não fumantes com silicose apresentam elevada prevalência de distúrbio obstrutivo, muitas vezes com declínios acentuados da função pulmonar. O tabagismo e a tuberculose são fatores sinérgicos para declínio da função pulmonar (24–27). Diferentemente da exposição ao asbesto, na qual a ocorrência de DPOC é menos frequente, na silicose a obstrução é mais prevalente, exceto em casos de evolução para fibrose maciça progressiva (silicose complicada), estágio avançado de fibrose em que predomina distúrbio restritivo (22).

1.5. Marcadores e silicose

Diferentes categorias de biomarcadores (de exposição, de efeito e de suscetibilidade) têm sido estudadas em doenças pulmonares ocupacionais nos últimos anos com o objetivo de identificar os processos patológicos que antecedem o início da pneumoconiose ou sinalizam sua progressão bem como prever uma maior tendência dos indivíduos expostos a desenvolverem silicose e alterações de função pulmonar e, assim, auxiliar no prognóstico dos indivíduos já portadores de pneumoconiose (28–34). As análises desses marcadores, através de maneiras menos invasivas para obtenção de material, embora pareçam ser promissoras, não têm seu uso na prática clínica ainda estabelecido.

A ação tóxica da sílica cristalina induz a síntese de moléculas resultantes de respostas celulares a esta toxicidade, denominadas biomarcadores de efeito. Estes biomarcadores podem ser classificados como precoces ou tardios, sendo os precoces aqueles correspondentes aos primeiros eventos após a exposição à sílica cristalina, e tardios aqueles que aparecem após a silicose já instalada (34,35). Muitos estudos, embora tenham identificado inúmeros marcadores ligados à exposição à sílica cristalina, ainda não conseguiram esclarecer os mecanismos envolvidos na fisiopatologia do dano pulmonar, além de muitos com resultados controversos (29,36).

Estudos experimentais (*in vitro* e *in vivo*) e observacionais em pacientes com silicose detectaram uma variedade de biomarcadores de efeito precoce após exposição à sílica, como por exemplo aumento de marcadores associados a estresse oxidativo, como as enzimas antioxidantes superóxido dismutase-SOD e glutathione peroxidase-GPx, aumento de neopterinina (produzida por monócitos e macrófagos e participa de detoxicação de radicais livres) e diminuição de proteína CC16 (produzida pelo epitélio traqueobrônquico e relacionada a atividade anti-inflamatória pulmonar). Alguns exemplos de biomarcadores de efeito tardio, como a lactato desidrogenase (LDH), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas 1, 6 e 8, fator de crescimento transformador (TGF), fator de crescimento epidermal (EGF), fatores quimiotáticos de neutrófilos e monócitos, também estiveram aumentados em indivíduos com silicose em comparação a indivíduos sem a doença (29–34,36,37).

Alguns marcadores correlacionados com piores parâmetros de função pulmonar podem ser exemplificados a seguir. Em estudo realizado na China,

foram comparados pacientes com silicose crônica e controles saudáveis quanto aos níveis séricos de CA.125 e foi demonstrado que níveis aumentados foram associados a maior declínio de parâmetros da função pulmonar (VEF_1 , VEF_1/CVF , CPT e DLco) (30). Outro estudo mostrou que o aumento do número de neutrófilos no escarro induzido (EI) e no lavado broncoalveolar (LBA) de indivíduos com silicose também se associou a maior declínio no VEF_1 (38,39).

Pacientes com silicose crônica apresentaram níveis séricos mais baixos de heme oxigenase-1 (HO-1), enzima associada a defesas antioxidantes, foram associados a maior declínio do VEF_1 (>60 ml/ano) ajustado para o tabagismo, sugerindo este marcador como um possível preditor independente de declínio da função pulmonar (40). O aumento de metaloproteinase-9 (MMP-9), enzima secretada por macrófagos e neutrófilos que participa do processo de degradação da matriz extracelular durante a fibrogênese, esteve associada à queda da CVF em indivíduos expostos à poeira de carvão, mesmo sem pneumoconiose ($r=-0,501$ e $p=0,014$) (41).

O episódio do colapso das torres gêmeas do *World Trade Center* (WTC), em 2001 deu impulso aos estudos sobre marcadores inflamatórios e função pulmonar. Novos preditores de declínio da função pulmonar foram encontrados nos grupos de expostos a fumaça, gases e partículas. Ao avaliar os bombeiros expostos no dia do acidente e por 6,5 anos, encontrou-se associação de marcadores da síndrome metabólica (baixa leptina e níveis altos de triglicérides e menores de HDL) com piora do FEV_1 como fatores de risco independentes (42). Na mesma coorte também foi identificada associação do declínio funcional com a elevação sérica do fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e quimiocina derivada de macrófagos (MDC) (43). Ainda avaliando a mesma coorte de bombeiros, alguns marcadores de risco cardiovasculares estiveram associados ao aumento ou à redução do risco de declínio da função pulmonar: níveis elevados de apolipoproteína-AII, de proteína C-reativa (PCR) e de proteína inflamatória de macrófagos-4 (MIP-4) estavam associados a maior risco de declínio acelerado da função pulmonar e níveis elevados de molécula solúvel de adesão celular vascular (sVCAM) e baixos níveis de mieloperoxidase (MPO) associados à proteção (44).

No Brasil, alguns estudos apontam a presença de biomarcadores de efeito precoce em expostos à sílica. Um deles é a L-selectina, proteína de superfície

de linfócitos, que teve diminuição da sua expressão em mineiros com história de longa exposição à sílica (≥ 16 anos), e que apresentou níveis ainda menores nos indivíduos com silicose, sugerindo que esse biomarcador poderia ser utilizado na monitorização precoce da toxicidade à sílica (45). Dois estudos realizados com mineiros na cidade de Corinto, Minas Gerais, avaliaram associação de biomarcadores com alterações radiológicas (46) e qualidade de vida (47). Foi observado aumento das quimiocinas CCL3 (MIP-1 α), CCL24 (eotaxina-2) e de receptores solúveis sTNFR1 e de sTNFR2 em indivíduos expostos à sílica (com e sem silicose) em comparação a não expostos, sendo que estes receptores solúveis estiveram elevados precocemente nos expostos sem silicose e o sTNFR2 permitiu discriminar os indivíduos com e sem silicose, através da análise da curva ROC. Este último marcador também demonstrou uma boa correlação com a severidade das alterações radiológicas (46). Outro estudo dos mesmos autores observou correlação negativa entre sTNFR1 e maior distância percorrida no teste de caminhada de seis minutos (TC6M). A interleucina-10 (IL-10), interleucina anti-inflamatória, correlacionou-se negativamente com score de qualidade de vida (*Saint George's Respiratory Questionnaire*) e positivamente com distância percorrida no TC6M (47).

Alguns marcadores previamente estudados em doenças neoplásicas, cardiovasculares, sepse e desordens de humor e mais recentemente, em silicose, são as razões dos valores absolutos de neutrófilos/linfócitos (NLR), plaquetas/linfócitos (PLR) e linfócitos/monócitos (LMR) (48–51). O aumento da NLR em doenças pulmonares se associou a maior mortalidade e pacientes com silicose também apresentaram aumento da NLR nos indivíduos com pior evolução radiológica da doença (48,49). Estudo chinês recente (51) com pacientes com silicose observou correlação negativa da NLR e PLR com variáveis de função pulmonar.

Os biomarcadores de suscetibilidade indicam a variabilidade da resposta individual a fatores ambientais, dependendo das condições de higiene de cada indivíduo, antecedentes de tabagismo, presença de outras morbidades crônicas e da variabilidade genética. As variações sequenciais de genes codificadores de RNA para enzimas e outras proteínas podem acumular na população. Quando uma variação específica ocorre em 1% ou mais em uma população, é denominada de polimorfismo, sendo um SNP (em inglês *Single Nucleotide*

Polymorphism) um polimorfismo de nucleotídeo único, que é uma variação na sequência de DNA que afeta somente uma base (adenina-A, timina-T, citosina-C, guanina-G) (30). Genes que se encontram na mesma posição, em cromossomos homólogos, e que são responsáveis por determinar uma mesma característica, são denominados alelos. Indivíduos com pneumoconioses têm tido polimorfismos genéticos detectados (37,52–55), com o principal intuito de identificar precocemente indivíduos predispostos a formas mais severas e com tendência a pior evolução clínica, radiológica e funcional e, com isso, promover medidas de proteção individuais mais rígidas.

A presença de polimorfismo genético do antagonista de receptor de *IL-1* (*IL-1ra*) e *TNF- α* foi estudada em mineradores de carvão europeus, africanos e chineses com silicose. As variantes dos SNPs *IL-1ra* +2018, *TNF α* -238, *TNF α* -308 estiveram associadas a maior risco de silicose (43-45). O polimorfismo do complexo antígeno leucocitário humano (HLA), avaliado em alguns estudos em indivíduos com silicose (30,55), revelou que a variante HLABw54 esteve associada com alterações de imagem mais relevantes e a HLAB51 associada às alterações menos relevantes. Polimorfismos de SNPs para algumas enzimas antioxidantes, como a glutationa-S-transferase (GST subtipos T1 e P1) e manganês superóxido dismutase (MnSOD), também foram relacionados ao aumento do risco de fibrose maciça progressiva, fase avançada da silicose (30).

Um estudo iraniano avaliou a suscetibilidade para desenvolvimento de silicose acelerada na população curda comparando 48 pacientes com silicose acelerada e 62 controles expostos à sílica. A frequência do genótipo *IL-17F* (887488A / G) foi significativamente maior em pacientes com silicose acelerada (OR=10,13; IC95% =1,2-81,5; p = 0,008). (56)

Apesar dos estudos existentes com relação à presença de biomarcadores e sua associação com maior ou menor risco de desenvolvimento de silicose e/ou de sua gravidade, os achados, especialmente associados com alterações da função pulmonar ainda precisam ser mais bem esclarecidos. A ainda elevada incidência de silicose em nosso meio e a incapacidade que com frequência a doença gera nos motivou a propor a realização do presente estudo. A identificação de marcadores que possam estar associados à maior perda funcional, além de poder contribuir para esclarecer mecanismos envolvidos na fisiopatologia das alterações encontradas na silicose, pode auxiliar na prevenção

secundária, com afastamento precoce da exposição, o que não acontece atualmente e que tem sido um problema de saúde pública, uma vez que atinge milhares de jovens em idade laborativa.

1.6. Tratamento

Não há, até o momento, tratamento para a silicose, sendo a medida de melhor prognóstico a retirada precoce da exposição. Alguns medicamentos já foram testados, no entanto não apresentaram resultados satisfatórios e não são utilizados na prática clínica. Na silicose aguda pode ser indicado o procedimento de lavagem broncoalveolar, embora o impacto na sobrevida dos pacientes seja limitado a poucos meses. Apenas o transplante pulmonar deve ser considerado, embora muitas vezes contraindicado em decorrência da dificuldade técnica para realização do procedimento em vista das aderências fibróticas e calcificações hílares, que tornam o procedimento com alto risco e elevada mortalidade (57). Em pacientes com silicose ou em expostos à sílica por mais de 10 anos, é indicada a realização do teste de PPD para diagnóstico de tuberculose latente, mesmo se assintomáticos, devendo ser prescrito tratamento aos que apresentarem reação tuberculínica maior ou igual a 10 mm, profilaxia contra infecções respiratórias com vacinação anti-influenza anual e antipneumocócica, bem como o tratamento dos sintomas decorrentes de distúrbio obstrutivo através dos broncodilatadores de longa duração e, em casos indicados, corticosteroides inalatórios (57,58).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a associação de biomarcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos com alteração na função pulmonar, na forma de apresentação na imagem radiológica e no desempenho no exercício em indivíduos expostos à sílica com e sem silicose.

2.2. Específicos

- Caracterizar e comparar os grupos de expostos à sílica (com e sem silicose) e não expostos quanto às prevalências de características clínicas, alterações de função pulmonar, biomarcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos;
- Identificar sintomas, marcadores inflamatórios e sistêmicos e polimorfismos genéticos que estão melhor correlacionados a alterações na função pulmonar, com imagens radiológicas e com o desempenho no exercício.

3. HIPÓTESE

A hipótese do estudo é que indivíduos expostos à sílica com e sem silicose apresentam diferentes níveis de concentrações de biomarcadores diferentes polimorfismos genéticos e diferenças na função pulmonar que possam auxiliar no monitoramento de trabalhadores expostos, no diagnóstico precoce e na evolução clínica dos mesmos.

4. MÉTODOS

Projeto de pesquisa foi aprovado pela CEP da FMUSP recebendo número SDC: 4118/14/098. Teve apoio e financiamento da Procuradoria Regional do Trabalho 2ª Região/SP, Ministério Público do Trabalho, a partir de dezembro de 2015, no valor de R\$ 221.720,97.

4.1. Tipo do estudo

Estudo transversal, comparativo, envolvendo indivíduos expostos à sílica com silicose, sem silicose e indivíduos não expostos à sílica.

4.2. Indivíduos participantes

O número de envolvidos foi estimado por conveniência, levando-se em conta as dificuldades para avaliar indivíduos com silicose sem comorbidades e as restrições quanto ao tabagismo. Foram recrutados indivíduos com silicose crônica ou acelerada acompanhados no ambulatório do Grupo de Doenças Pulmonares Ambientais e Ocupacionais do Instituto do Coração (Incor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

(HC-FMUSP) e referenciados de outros centros (Fundacentro, Centros de Referência em Saúde do Trabalhador da Freguesia do Ó). Indivíduos expostos à sílica e sem silicose foram recrutados com auxílio do Ministério do Trabalho e Previdência oriundos, na grande maioria, de empresa de fundição. Os indivíduos não expostos à sílica foram recrutados entre trabalhadores no Instituto do Câncer (ICESP), no Instituto do Coração (Incor) – HCFMUSP e da sede da Secretaria de Estado da Saúde. Os participantes foram convidados inicialmente para o estudo através de contato pessoal ou contato telefônico, após explicação da natureza do estudo, objetivos, procedimentos a serem realizados e possíveis riscos para o paciente através de leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo 10.1).

4.3. Critérios de inclusão

Foram selecionados para o estudo indivíduos do sexo masculino, com idade entre 20 e 80 anos, não-fumantes ou ex-fumantes que haviam parado de fumar há pelo menos um ano com histórico máximo de tabagismo na vida de 15 anos-maço e, com relação aos grupos expostos à sílica, que tenham trabalhado expostos à sílica por pelo menos três meses. Todos receberam informações sobre os objetivos e riscos da pesquisa e o cronograma de realização de exames e assinaram o TCLE.

O diagnóstico de silicose foi baseado na história de exposição ocupacional à sílica cristalina e alterações na tomografia de tórax de alta resolução compatíveis com a doença. A exclusão de silicose entre os expostos foi feita por tomografia de alta resolução, método mais sensível e específico do que a radiografia de tórax (19,20).

O tempo de latência foi caracterizado como o tempo desde a exposição inicial à sílica e o diagnóstico clínico em indivíduos com silicose e como o tempo desde a exposição inicial à sílica e a primeira avaliação clínica em indivíduos sem silicose. Tempo mínimo de latência não foi considerado critério de inclusão no estudo.

4.4. Critérios de exclusão

Comorbidades que pudessem influenciar os resultados como: neoplasias malignas ou história atual ou prévia de quimioterapia ou radioterapia no último

ano, transplantados, doenças do tecido conectivo com comprometimento pulmonar secundário, comorbidades mal controladas (diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, cardiopatias, hepatopatias, nefropatias), doenças pulmonares ou pleurais crônicas sequelares, micobacterioses ativas ou em tratamento, cirurgia pulmonar prévia, etilismo crônico, neuropatias com repercussão na mobilidade ou cognição, indivíduos em oxigenioterapia, uso regular de corticosteroides sistêmicos, imunossupressores e anti-inflamatórios não esteroides e/ou infecção respiratória nos últimos 30 dias. A exclusão de não expostos se baseou na presença de alteração na radiografia de tórax que sugerisse sequela de processo infeccioso com potenciais implicações na função pulmonar.

4.5. Procedimentos

4.5.1. Avaliação clínica e ocupacional

Todos foram submetidos a avaliação clínica, que consistiu em anamnese clínica e ocupacional de cada participante, aplicação de questionários estruturados (ECHRS, MRCM, CAT - Anexos 10.2 a 10.4) para avaliação de sintomas respiratórios e de doença pulmonar obstrutiva crônica e para escore de dispneia, validados no Brasil (59–61), além de informações demográficas, tabagismo, antecedentes patológicos prévios referidos durante a anamnese (doenças cardíacas, renais, urológicas, pulmonares, gastrintestinais, hepáticas, neoplásicas e endocrinológicas relatadas pelos pacientes e/ou que estivessem em tratamento medicamentoso corrente), exame físico incluindo medida de pressão arterial com esfigmomanômetro digital, com manguito aneroide, com paciente sentado em repouso por pelo menos 5 minutos, saturação de oxigênio e frequência cardíaca com oxímetro digital e a medida de monóxido de carbono no ar exalado (COex) com equipamento Bedfont- Pico Plus Smokerlyzer realizada para confirmar condição não tabágica no momento da avaliação. (Anexo 10.5). Foram considerados possivelmente fumantes e excluídos aqueles indivíduos com valores acima de 6 ppm.

Os indivíduos expostos à sílica tiveram os graus de exposição classificados em escore com cinco categorias qualitativas conforme especificado na Tabela 3. A descrição dos escores de exposição à poeira de sílica considerou a análise de cada atividade ocupacional referida e o relato da exposição

ocupacional (manipulação de matérias primas, intermediários e/ou produtos finais derivados de sílica cristalina) pelo participante do estudo, por visita a algumas empresas com avaliação qualitativa do ambiente de trabalho e finalizado pela interpretação consensual do pesquisador e colaboração de outro pneumologista com experiência em doenças ocupacionais. Todos os expostos tinham como antecedentes frequência semanal de contato com sílica de pelo menos 30% da jornada de trabalho (dois dias por semana). Com o escore e o tempo de exposição de cada trabalhador, em anos, foi construído um Índice de Exposição, ou seja, foi combinada uma informação objetiva do tempo de trabalho exposto com uma impressão subjetiva do trabalhador, uma vez que não existem dados disponíveis no Brasil sobre os registros das concentrações de poeiras nos ambientes de trabalho.

Tabela 3. Classificação dos escores de exposição dos participantes *

Escore	Descrição
0=sem exposição	Sem exposição à sílica
1=exposição leve	Contato pouco frequente com sílica em baixas concentrações, conforme informado pelo entrevistado sobre sua impressão subjetiva do ambiente de trabalho
2=exposição moderada	Contato frequente com sílica em baixas/moderadas concentrações ou contato raro em altas concentrações, conforme informado pelo entrevistado sobre sua impressão subjetiva do ambiente de trabalho
3=exposição elevada	Contato frequente com sílica em altas concentrações, conforme informado pelo entrevistado sobre sua impressão subjetiva do ambiente de trabalho
4=exposição muito intensa	Contato ocasional ou frequente com sílica em muito altas concentrações, conforme informado pelo entrevistado sobre sua impressão subjetiva do ambiente de trabalho (jateamento de areia, perfuração de poços e mineração subterrânea)

Nota: *informações referidas pelos participantes. Contato pouco frequente: ≤ 2 vezes por semana; Contato frequente: ≥ 3 vezes por semana

4.5.2. Exames de imagem

Todos os participantes foram submetidos a radiografia de tórax nas posições pósterio-anterior e perfil e os indivíduos expostos com e sem silicose, também à tomografia computadorizada de alta resolução do tórax (TCAR).

- ***Radiografia de tórax***

As radiografias de tórax foram realizadas no Setor de Radiologia da Divisão de Diagnósticos por Imagem do InCor-HCFMUSP. A aquisição das imagens por subtração digital foi feita pelo aparelho Allura DSA unit (Philips, the Netherlands), com incidência pósterio-anterior (PA). As radiografias já realizadas no serviço no período de até 60 dias antes da avaliação foram aceitas. O grupo controle não exposto (G1) realizou apenas radiografias de tórax e, caso algum indivíduo apresentasse alterações sugestivas de pneumoconioses, seria submetido à tomografia de tórax.

- ***Tomografia computadorizada de alta resolução***

As tomografias computadorizadas de tórax de alta resolução (TCAR) foram realizadas em aparelho de múltiplos detectores (Toshiba Aquilion 64), com cortes de espessura de 1,0 mm, intervalo de tempo de 1,5 s e incremento de 10 mm, reconstrução da imagem com matriz de 512 x 512 pontos, utilizando-se algoritmo de alta resolução, largura de janela de 1000 UH e nível médio de janela de -700 UH. As tomografias já realizadas no serviço no período de até 60 dias antes da avaliação foram aceitas. A interpretação dos achados tomográficos foi realizada por radiologistas com experiência de imagem de tórax da Divisão de Radiologia do Instituto do Coração-HCFMUSP. Dois radiologistas com experiência em leitura de TCAR foram responsáveis pelas leituras. Os exames foram classificados como: a.sem alterações sugestivas de silicose, b. sugestivas/compatíveis com silicose com presença de apenas alterações micronodulares e c. sugestivas/compatíveis com silicose com presença de grandes opacidades. A inclusão no grupo exposto sem silicose foi baseada na exclusão do diagnóstico de silicose pela tomografia de tórax de alta resolução.

4.5.3. Exames de função pulmonar

Todos os indivíduos foram submetidos a prova de função pulmonar completa com broncodilatador, com medida da capacidade de difusão de monóxido de carbono (DL_{CO}) (métodos detalhados no Anexo 10.6). Todos os testes foram realizados num mesmo equipamento e pela mesma técnica – Equipamento de Função Pulmonar: Pletismógrafo Elite, Fabricante: Medical Graphics Co (Saint Paul - MN / EUA).

A realização dos exames e a interpretação dos dados obtidos atenderam às recomendações da *American Thoracic Society (ATS) / European Respiratory Society (ERS) Task Force*. Distúrbio ventilatório obstrutivo foi definido como uma relação espirométrica do volume expiratório forçado no primeiro segundo/capacidade vital forçada (VEF_1/FVC) $<0,70$ pré-broncodilatador, e distúrbio ventilatório restritivo foi definido de acordo com $VEF_1/FVC \geq 0,70$ pré-broncodilatador e capacidade pulmonar total (CPT) $<80\%$ à pletismografia (62–64). Foram empregados os valores preditos de normalidade para a população adulta brasileira (65).

4.5.4. Exames para avaliar marcadores sanguíneos e polimorfismos genéticos

Todos os indivíduos foram submetidos à coleta de amostras de sangue, na divisão de Laboratório do InCor. Parte das amostras foi analisada nesse Laboratório e outra foi enviada para processamento no Laboratório de Doenças Pleurais da Divisão de Pneumologia, que separou amostras de soro e plasma e as armazenou em freezer a -80°C , para posterior análise de marcadores inflamatórios específicos (citocinas). Amostras de sangue total foram encaminhadas logo após a coleta para processamento – separação de glóbulos brancos, extração e análises do DNA, no laboratório do Departamento de Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho da FMUSP.

Os marcadores foram escolhidos com base em estudos que apresentaram relevância por apresentarem associação a maior atividade inflamatória em diversas doenças e a maior ou menor declínio da função pulmonar, conforme explicitado anteriormente. Para a elaboração e escolha dos polimorfismos houve um levantamento prévio na literatura dos CNVs (*Copy Number Variation*) e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) mais relevantes em estudos epidemiológicos

sobre silicose, além de um cálculo médio das frequências destas variantes em populações caucasianas, assegurando assim um poder estatístico confiável para o número de amostras (66–68). Os biomarcadores e polimorfismos escolhidos neste estudo estão descritos na Tabela 4. Os métodos de armazenamento, processamento e análise de marcadores e polimorfismos estão descritos no anexo 10.7.

Tabela 4. Marcadores sanguíneos e polimorfismos genéticos avaliados

Marcadores não inflamatórios e Inflamatórios	Citocinas, interleucinas e quimiocinas	Polimorfismos genéticos
Hemograma completo	IL-10	CNV
Creatinina	IL-1 β	<i>GSTT1</i>
Glicemia de jejum	IL-1ra	<i>GSTM1</i>
CEA	TNF- α	SNP
Apo AI, AII, CII e CIII	Eotaxina-2 (CCL24)	<i>XRCC1</i> – 194
LDH	MCP-1 (CCL2)	<i>XRCC1</i> – 399
Ácido úrico	sVCAM-1	<i>XRCC3</i>
PCR	sTNF1RI e II	<i>XPD</i>
Fibrinogênio	MIP-4 (CCL18)	<i>GSTP1</i>
MMP-9		
MPO		

Nota: CEA: antígeno carcinoembrionário; ApoAI : apolipoproteína subtipo AI ; ApoCIII : apolipoproteínas subtipo CIII ; ApoAII: apolipoproteína subtipo AII; ApoCII: apolipoproteína subtipo CII ; LDH: lactato desidrogenase; PCR: Proteína C Reativa; IL-10: interleucina 10 ; IL-1 β : interleucina 1-beta; IL-1ra: antagonista de receptor de interleucina 1; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1; MMP-9: metaloproteinase-9; MPO: mieloperoxidase ; sVCAM: molécula de adesão celular vascular solúvel tipo 1; sTNF1RI: receptor solúvel de TNF subtipo I; sTNF1RII : receptor solúvel de TNF subtipos II; MIP-4: proteína inflamatória de macrófagos-4; CNV: *Copy Number Variation*; SNP: *single nucleotide polymorphism*; *GSTT1*: glutationa S-transferase Theta1; *GSTM1*: glutationa S-transferase Mu1; *GSTP1*: glutationa S-transferase Pi1; *XRCC1*: X-Ray repair Cross-Complementing group 1; *XRCC3*: X-Ray repair Cross-Complementing group 3; *XPD*: Xeroderma Pigmentosum Complementary Group D

4.5.5. Teste de exercício

Os pacientes realizaram Teste de Caminhada de 6 minutos (TC6M) conduzido por profissional com experiência, no interior do Instituto do Coração,

segundo critérios da *American Thoracic Society* e índices subjetivos de dispneia e para cansaço de membros inferiores pela escala de Borg. (69,70) Após período de repouso de 10 minutos seguido de medidas a pressão arterial, a SpO₂ e a escala de Borg para dispneia de 10 pontos, os indivíduos eram estimulados a andar no corredor demarcado (distância de 15 metros), na máxima velocidade que conseguisse, durante seis minutos. Ao término do teste, e dois minutos após fase de recuperação, novamente foram medidas a pressão arterial, a SpO₂ e a escala de Borg. As medidas de SpO₂% e da frequência cardíaca (FC) foram realizadas com oxímetro de pulso portátil G-Tech Modelo Oled Graph. O TC6M, um teste de baixo custo, de fácil aplicabilidade em serviços não especializados poderá contribuir para avaliação da capacidade de exercício leve nos pacientes, cujo desempenho espera-se ser diferente entre os pacientes com as diferentes alterações funcionais.

4.5.6. Análises estatísticas

Foram realizadas análises estatísticas descritivas das características gerais dos indivíduos e análises comparativas das prevalências das variáveis clínicas, de função pulmonar, de teste de caminhada dos marcadores e polimorfismos genéticos entre os grupos.

As análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico SPSS – *Statistical Package for Social Sciences* (v25.0). Os testes de Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher foram utilizados para verificar se houve diferença na frequência das variáveis categóricas do estudo entre os grupos (controles não expostos, expostos sem silicose e com silicose). Os valores de Z-score foram calculados para detectar as diferenças entre os grupos. O teste *Shapiro-Wilk* foi utilizado para verificar se as variáveis numéricas do estudo estavam distribuídas de acordo com os padrões de normalidade. Os testes de *Mann-Whitney* (não-paramétrico) ou *t-Student* (paramétrico) foram utilizados para verificar se as variáveis numéricas diferiram entre os grupos do estudo.

O teste do Qui-Quadrado foi utilizado para verificar se os polimorfismos analisados estavam em Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* na amostra total (avaliar se as frequências dos polimorfismos estão constantes ao longo das gerações ou se ainda sofrem processo de seleção natural) e para verificar se a distribuição dos genótipos para cada polimorfismo apresentou diferenças entre o grupo de

pacientes com silicose e controles expostos e não expostos. O genótipo homocigoto selvagem foi considerado como referência nas análises utilizando os Modelos de Genótipo, Dominante e Recessivo. O nível de significância foi estabelecido como 0,05 ou 5%.

O teste de Correlação de *Spearman* (não-paramétrico) foi utilizado para verificar a correlação entre as variáveis numéricas do estudo. A regressão logística binária (cálculo da razão de chances – *Odds Ratio* com Intervalo de Confiança de 95% - IC 95%) foi utilizada para verificar as variáveis associadas à silicose, presença de grandes opacidades e de pior função pulmonar.

Curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic curve*) foram utilizadas para analisar a acurácia dos biomarcadores em discriminar os grupos não expostos dos expostos sem silicose e com silicose e para determinar possíveis valores de corte para diagnóstico de silicose.

Para avaliar e comparar a variação da pressão arterial, da saturação de oxigênio e do escore de Borg durante o teste de caminhada de 6 minutos foram realizadas análises com modelo de efeitos mistos e avaliado interação do diagnóstico com o tempo nos desfechos do teste.

Foram realizadas análises de regressão logística múltipla, ajustadas pela idade, antecedentes de tabagismo e índice de exposição à sílica, para avaliar quais variáveis independentes (marcadores inflamatórios, teste de exercício) que estivessem associadas a maior risco de silicose, de alterações funcionais e alterações de imagens de tórax.

5. RESULTADOS

Entre abril de 2016 até outubro de 2019, foram avaliados 330 indivíduos, que foram divididos em: 1. Grupo 1 (não expostos): foram avaliados 54 indivíduos, 51 deles incluídos no estudo. 2. Grupo 2 (expostos pregressos ou atuais à sílica, sem silicose): de 166 avaliados, 149 atenderam aos critérios de seleção e foram incluídos; 3. Grupo 3 (pacientes com silicose, em sua maioria, não mais expostos no momento da avaliação): foram avaliados 110 pacientes que atendiam previamente aos critérios de seleção, com 97 incluídos; Na Figura 8 pode ser visualizado o processo que deu origem aos grupos totalizando 297 participantes, sendo 51 controles não expostos, 149 expostos sem silicose e 97 com silicose.

Dos 33 indivíduos excluídos, 29 o foram pelos critérios de tabagismo e 4 foram devido à presença de doença autoimune e uso de corticosteroide e/ou imunossupressor, dos quais três tinham silicose e um era controle não exposto.

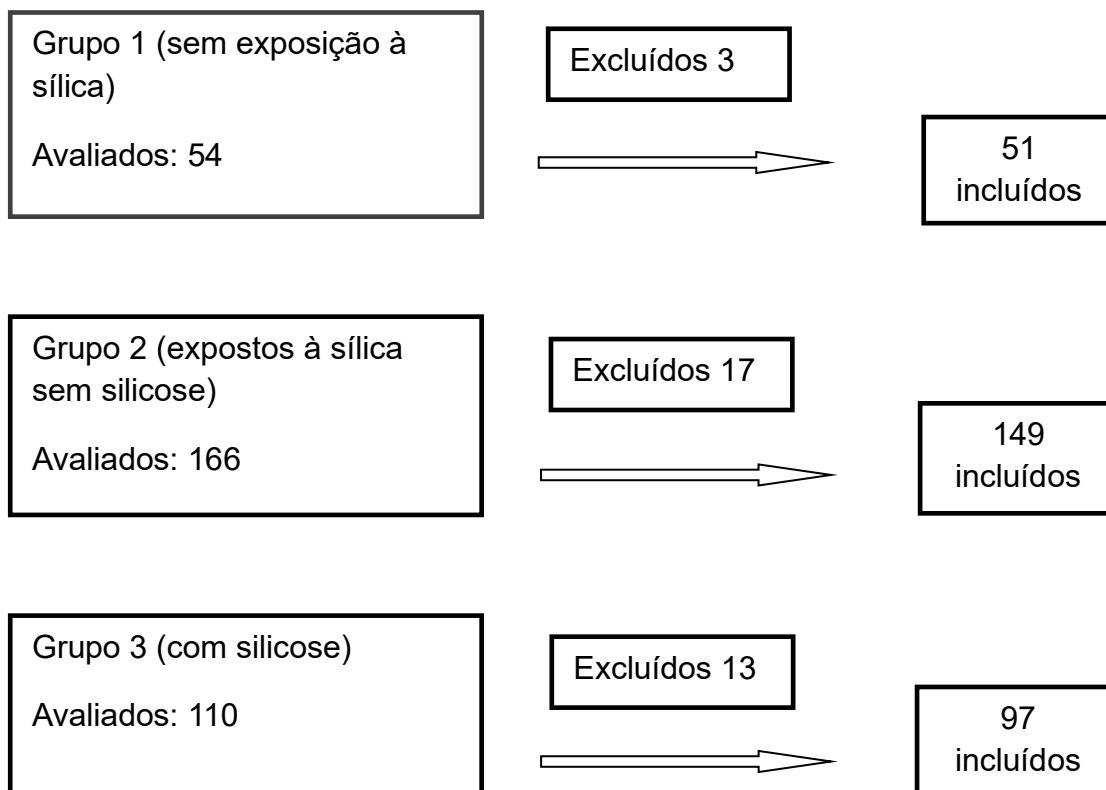


Figura 8. Fluxograma de captura e exclusão de participantes

5.1. Características demográficas e antropométricas

Na Tabela 5 são apresentadas as características gerais dos indivíduos incluídos no estudo. A média de idade dos indivíduos expostos à sílica e sem silicose (G2) foi menor em relação aos outros dois grupos. O tempo total de exposição à sílica, o índice total de exposição e o tempo de latência foram maiores no grupo com silicose em comparação ao grupo exposto sem silicose.

Tabela 5. Características gerais dos participantes, segundo exposição à sílica.

Variáveis/grupos	G1 ^a (n=51)	G2 ^b (n=149)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
Idade, anos	47,5±8,7(29-62)	40,6±9,0(20-66)	50,7±10,9(28-76)	<0,001 [£]
Raça (%)				0,074
Preta	11,8	6,7	8,2	
Branca	70,6	63,1	56,7	
Parda	15,7	30,2	35,1	
Amarela	1,9	0,0	0,0	
IMC (kg/m ²)	28,2±4,3(21,0-40,6)	27,4±3,7(16,2-40,8)	26,4±4,5(16,8-43,0)	0,029 ^π
Ex-fumantes, %	3,9	18,8	29,9	<0,001 ^Σ
Carga tabágica, anos	9,8±7,4(4,5-15,0)	6,0±4,7(0,4-15,0)	6,0±4,5(0,1-15)	0,566
Tempo exposição, anos		15,9±8,1(2-44)	17,8±10,5(4-37)	<0,001
Latência, anos		17,0±8,1(2-44)	22,6±11,2(2-54)	<0,001
Índice total exposição		30	40	<0,001
Antecedentes patológicos referidos, n(%)				
HAS	7(13,7)	14(9,4)	26(26,8)	0,001 ^Ω
DM Tipo II	1(2,0)	3(2,0)	5(5,2)	0,332
Doença cardíaca	1(2,0)	2(1,3)	1(1,0)	1,000
Doença renal /urológica	0(0,0)	1(0,7)	0(0,0)	1,000
Pneumonia	3(5,9)	14(9,4)	22(22,7)	0,003 ^π
TB/MNT	0(0,0)	3(2,0)	10(10,3)	0,003 ^Ω
Asma	2(3,9)	11(7,4)	5(5,2)	0,605

Notas: Resultados expressos em médias, desvio-padrão e valores mínimo e máximo ou porcentagem; Índice de Exposição: formado pela associação entre o tempo de exposição com o escore de exposição (Tabela 3). IMC: índice de massa corpórea; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; TB: tuberculose; MNT: micobacteriose não tuberculose; a: G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); [£](a≠b b≠c); ^π(a≠c b≠c); ^Σ(a≠b a≠c); ^Ω(b≠c);

A maioria dos indivíduos expostos sem silicose (52%) apresentou maior tempo de exposição em atividades de escore 1, média de 6,7 anos (±9,2), enquanto que a maioria dos indivíduos com silicose (44,2%) teve maior tempo de exposição em atividades de escore 2, média de 8,4 anos (±12,1). A frequência de hipertensão arterial referida no grupo com silicose (G3) foi cerca de três vezes maior que a do grupo de expostos à sílica sem diagnóstico de silicose (G2) e duas vezes maior do que no grupo de voluntários não expostos (G1). Além disso, os antecedentes de tabagismo, de tuberculose e pneumonia também foram acentuadamente mais frequentes no grupo com silicose, guardando-se a ressalva de que a evidência tomográfica de achados compatíveis com sequelas pulmonares de tuberculose foi um critério de exclusão.

Na Tabela 6 pode ser visualizada a distribuição dos ramos de atividade das empresas onde os indivíduos trabalham/trabalharam, nos três grupos. Nos grupos expostos com e sem doença predominou o ramo de atividade de fundição. No grupo não exposto, os principais ramos foram enquadrados em *Outros*, que corresponde a outras atividades sem exposição direta/indireta a fontes geradoras de sílica (Anexo 10.8).

Tabela 6. Distribuição dos participantes segundo ramo de atividades (%)

Ramos de atividades /grupos	G1 (n=51)	G2 (n=149)	G3 (n=97)	Valor de p
Cerâmica/porcelana	0,0	2,7	5,2	0,218
Construção civil	2,0	14,8	22,7	0,004
Fabricação/fosqueamento de vidro	0,0	0,0	12,4	<0,001
Fundição	0,0	83,9	26,8	<0,001
Indústria da borracha	0,0	6,0	6,2	0,165
Lapidação	0,0	0,0	1,0	0,498
Marmoraria	0,0	0,7	14,4	<0,001
Metalmecânica	0,0	0,0	10,3	<0,001
Mineração	0,0	6,0	14,4	0,003
Pedreira	0,0	0,0	3,1	0,068
Outros	98,0	0,0	5,2	<0,001

Nota: G1 (não exposto); G2 (exposto sem silicose); G3 (com silicose)

Entre os indivíduos não expostos, embora 2,0% tenham trabalhado no ramo de construção civil, não eram expostos a atividades sugestivas de exposição à sílica. Do total de não expostos, 5,8% exerceram atividades ocupacionais com exposição a outros tipos de poeiras que não a sílica e/ou fumaças e/ou fumos (metálicos/plásticos/borracha), sendo o restante não exposto a nenhum outro tipo de poeiras/fumaças/fumos.

Já no grupo exposto sem silicose (G2), 83,9% trabalhavam em fundição, pois a maioria destes indivíduos que foram incluídos no estudo foram recrutados de uma grande empresa que estava sob avaliação de auditores fiscais da Superintendência Regional do Trabalho em São Paulo. A principal função/atividade executada no grupo 2 era a de operador/mecânico de manutenção de moinho/máquina de mistura e/ou outras atividades envolvendo

manipulação e beneficiamento de pedras/areia. Muitos deles passaram ao longo de sua vida profissional por vários empregos, sendo que vários indivíduos tiveram mais de uma atividade com exposição à sílica. No entanto, consideramos apenas a principal atividade aquela que o indivíduo permaneceu maior tempo ao longo de sua vida laborativa. No grupo com silicose a principal atividade foi o jateamento de areia (23,7%).

5.2. Análises comparativas das variáveis clínicas nos grupos avaliados

Na Tabela 7 são apresentados os dados de prevalência de sintomas respiratórios e de dispneia segundo a gravidade obtidas dos questionários aplicados durante a avaliação clínica dos trabalhadores. (Anexos 10.2 a 10.4). O Grupo com silicose apresentou sintomas de sibilância 24 e 2,5 vezes mais frequentes do que os grupos sem exposição e expostos sem silicose, respectivamente.

Tabela 7. Prevalência de sintomas respiratórios e escore de dispneia entre os grupos (%).

Variáveis/grupos	G1 ^a (n=51)	G2 ^b (n=149)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
ECHRS^d				
1. Você teve chiado ou aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?	2,0	18,8	47,4	<0,001 [€]
1.1 Quando você teve chiado, sentiu falta de ar junto?	2,0	12,1	32,0	<0,001 [™]
1.2 Quando você teve falta de ar, sibilos (chiado no peito) estavam sempre presentes?	0,0	12,8	37,1	<0,001 [€]
1.3 Você teve chiado e sibilos (chiado no peito) mesmo quando não estava resfriado?	0,0	6,7	15,5	0,002 [∞]
2. Você acordou com a sensação de aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?	3,9	22,8	26,8	0,004 ^Σ
3. Você acordou por causa de uma crise de falta de ar nos últimos 12 meses?	0,0	24,2	29,9	<0,001 ^Σ
4. Você acordou por causa de uma crise de tosse nos últimos 12 meses?	11,8	33,6	48,5	<0,001 ^Σ
5. Você teve uma crise de asma nos últimos 12 meses?	0,0	8,7	22,7	<0,001 [™]
6. Você está usando no momento algum medicamento (incluindo inalações, bombinhas ou comprimidos) para asma?	0,0	2,7	29,9	<0,001 [™]

7. Você tem alguma alergia no nariz (rinite)?	17,7	38,9	26,8	0,009 ^μ
MRCM^e				
0. Tenho falta de ar ao realizar exercício intenso	94,1	66,4	24,8	<0,001 [€]
1. Tenho falta de ar quando apresso o meu passo, ou subo escadas ou ladeiras	5,9	30,	46,4	<0,001 [€]
2. Preciso parar algumas vezes quando ando no meu passo, ou ando mais devagar que outras pessoas da minha idade	0,0	2,7	17,5	<0,001 ^π
3. Preciso parar muitas vezes devido à falta de ar quando ando perto de 100 metros, ou poucos minutos de caminhada no plano	0,0	0,0	10,3	<0,001 ^Ω
4. Sinto falta de ar que não saio de casa, ou preciso de ajuda para me vestir ou tomar banho sozinho	0,0	0,0	1,0	>0,050
CAT^f	0 (0-0)	2 (0-5)	7 (3-13,5)	<0,001 [€]

Nota: Resultados expressos em porcentagem ou mediana e intervalos interquartílicos; ^dECHRS: Questionário *European Community Respiratory Health Surveillance* (59) - (anexo 10.2); ^eMRCM: *Medical Research Council Modificado* (anexo 10.3); ^fCAT: *COPD Assessment Test* (resultados expressos pela somatória dos valores referidos em cada pergunta) (anexo 10.4); a: G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); ^π(a≠c b≠c); [€](a≠b b≠c a≠c); [∞](a≠c); ^Σ(a≠b a≠c); ^μ(a≠b); ^Ω(b≠c)

Na avaliação de dispneia pelo questionário MRCM houve uma variação ascendente para prevalência de escores mais elevados do G1 ao G3, respectivamente com escores ≥ 1 em 5,9%, 33,6% e 75,2% dos indivíduos. O mesmo foi observado com o questionário *COPD Assessment Test*.

Análises ajustadas para o tabagismo revelaram que as frequências de sintomas relacionados à sibilância no ECHRS (1., 1.1, 1.2) permaneceram superiores e significantes, exceto a questão 1.3, o mesmo observado para o MRCM. Na Tabela 8 estão descritos os dados obtidos durante avaliação clínica dos participantes (Anexo 10.5).

Tabela 8. Comparação dos sinais vitais e oximetria obtidos na avaliação clínica entre os grupos avaliados.

Variáveis/grupos	G1 ^a	G2 ^b	G3 ^c	Valor de p
------------------	-----------------	-----------------	-----------------	------------

	(n=51)	(n=149)	(n=97)	
PAS, mmHg	125±24(94-260)	126±17(98-240)	133±18(98-200)	<0,001 ^π
PAD, mmHg	77±12(60-130)	81±11(60-120)	84±11(62-118)	<0,001 ^ε
FC, bpm	78±10(61-112)	76±14(48-108)	78±13(54-104)	0,399
FR, rpm	17±2(12-20)	17±2(12-24)	18±3(12-28)	0,132
SpO ₂ (%)	98±1(96-99)	97±1(95-99)	97±2(86-99)	0,387

Notas: Resultados expressos em médias, desvio-padrão e valores mínimo e máximo. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca (bpm: batimentos por minuto); FR: frequência respiratória (rpm: respirações por minuto); SpO₂: saturação parcial de oxigênio; G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); ^π(a≠c b≠c); ^ε(a≠b b≠c a≠c); ^ζ(a≠b a≠c)

Os valores da pressão arterial sistêmica sistólica foram maiores nos indivíduos com silicose e a pressão diastólica apresentou valores ascendentes e significativos do G1 ao G3.

5.3. Análises comparativas das variáveis do teste de função pulmonar, do teste de caminhada de 6 minutos e dos exames de imagem, entre os grupos estudados

Na Tabela 9 são apresentados os resultados das análises comparativas das variáveis funcionais entre os grupos. O grupo com silicose apresentou alterações significativas nos valores preditos (%) com relação aos demais grupos em todos os parâmetros, com exceção do volume residual e da prevalência de resposta a broncodilatador. O G2 apresentou diferença significativa com relação ao G1 no FEF_{25-75%}, nas relações VEF₁/CVF e VR/CPT, mas discretas nos dois últimos parâmetros.

Tabela 9. Comparação de parâmetros da função pulmonar completa entre os grupos avaliados.

Variáveis/grupos	G1 ^a (n=50)	G2 ^b (n=148)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
------------------	---------------------------	-------------------------	---------------------------	------------

CVF, litros	4,6(±0,7)	4,7(±0,7)	3,7(±0,9)	<0,001 ^π
CVF (%pred)	95,3(±11,1)	95,7(±11,8)	82,8(±19,2)	<0,001 ^π
VEF ₁ , litros	3,7(±0,6)	3,7(±0,6)	2,6(±0,9)	<0,001 ^π
VEF ₁ (%pred)	95,4(±10,8)	92,5(±11,4)	71,6(±23,2)	<0,001 ^π
VEF ₁ /CVF	0,81(±0,5)	0,80(±0,7)	0,69(±0,2)	<0,001 ^ε
FEF _{25-75%} (%pred)	103,8(±25,2)	88,2(±25,3)	59,0(±34,7)	<0,001 ^ε
CPT, litros	6,6(±1,0)	6,5(±0,9)	5,7(±1,0)	<0,001 ^π
CPT (%pred)	91,8(±11,0)	93,2(±11,0)	87,0(±15,1)	0,023 ^π
VR (%pred)	95,6(±23,8)	95,2(±24,9)	100,7(±31,0)	0,511
VR/CPT	0,29(±0,6)	0,27(±0,6)	0,35(±0,9)	<0,001 ^ε
DL _{co} (%pred)	106,2(±15,2)	108,7(±18,8)	86,8(±26,8)	<0,001 ^π
Raw (%pred)	91,4(±22,3)	99,1(±29,5)	144,8(±101,8)	<0,001 ^π
Resposta a BD	2,0	7,4	10,3	0,201

Nota: Resultados expressos em média e desvio-padrão ou percentagem; percentagem dos valores preditos (Pereira, Neder, Crappo); BD: broncodilatador; CVF: capacidade vital forçada; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; FEF_{25-75%}: Fluxo expiratório forçado médio; CPT: capacidade pulmonar total; VR: volume residual; Raw: resistência de vias aéreas; BD: broncodilatador; DL_{co}: difusão de monóxido de carbono; G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); ^π(a≠c b≠c); ^ε(a≠b b≠c a≠c);

Na Tabela 10 são apresentadas as frequências de distúrbios ventilatórios entre os grupos. Observou-se maior frequência de distúrbio obstrutivo entre os indivíduos com silicose (40,2%), seguida de 25,7% nos indivíduos expostos sem silicose e de 6,0% nos não expostos. A frequência de distúrbio restritivo foi menor no grupo exposto sem silicose (4,7%) e não houve diferença entre os grupos não exposto (8,0%) e com silicose (8,4%).

Tabela 10. Distribuição de frequência de achados na prova de função pulmonar entre os grupos avaliados.

Variáveis/grupos	G1 ^a (n=50)	G2 ^b (n=148)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
Espirometria				
Normal	42 (84,0%)	102 (68,9%)	34 (35,1%)	<0,001 ^π
DV Obstrutivo	3 (6,0%)	38 (25,7%)	39 (40,2%)	<0,001 ^ε
DV Restritivo	4 (8,0%)	7 (4,7%)	8 (8,2%)	<0,001 ^ε
DV Misto	0 (0,0%)	0 (0,0%)	13 (13,4%)	<0,001 ^π
DV Inespecífico	1 (2,0%)	1 (0,7%)	3 (3,1%)	0,058

Nota: DV: distúrbio ventilatório; a: G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); ^π(a≠c b≠c); ^ε(a≠b b≠c a≠c); ^ε(a≠b b≠c)

Cerca de 77% dos pacientes com silicose apresentaram VEF₁/CVF <80% do predito, 53% menor valor de VEF₁ e 33% menor valor de DLco. Entre os expostos sem silicose, apenas 6,2%, 11,6% e 3,4% dos indivíduos apresentaram CVF, VEF₁ e DLco abaixo de 80% do valor predito, respectivamente. As frequências de tabagismo não apresentaram diferenças entre os grupos com pior (<80% predito) ou melhor função pulmonar (>80% predito) no conjunto dos expostos (G2+G3) e tampouco no G3 isoladamente (Anexos 10.11 e 10.13). Já, a maior graduação de exposição e tempo total de exposição à sílica foram associados a piores valores preditos (<80%) dos parâmetros da função pulmonar (Anexos 10.12 e 14).

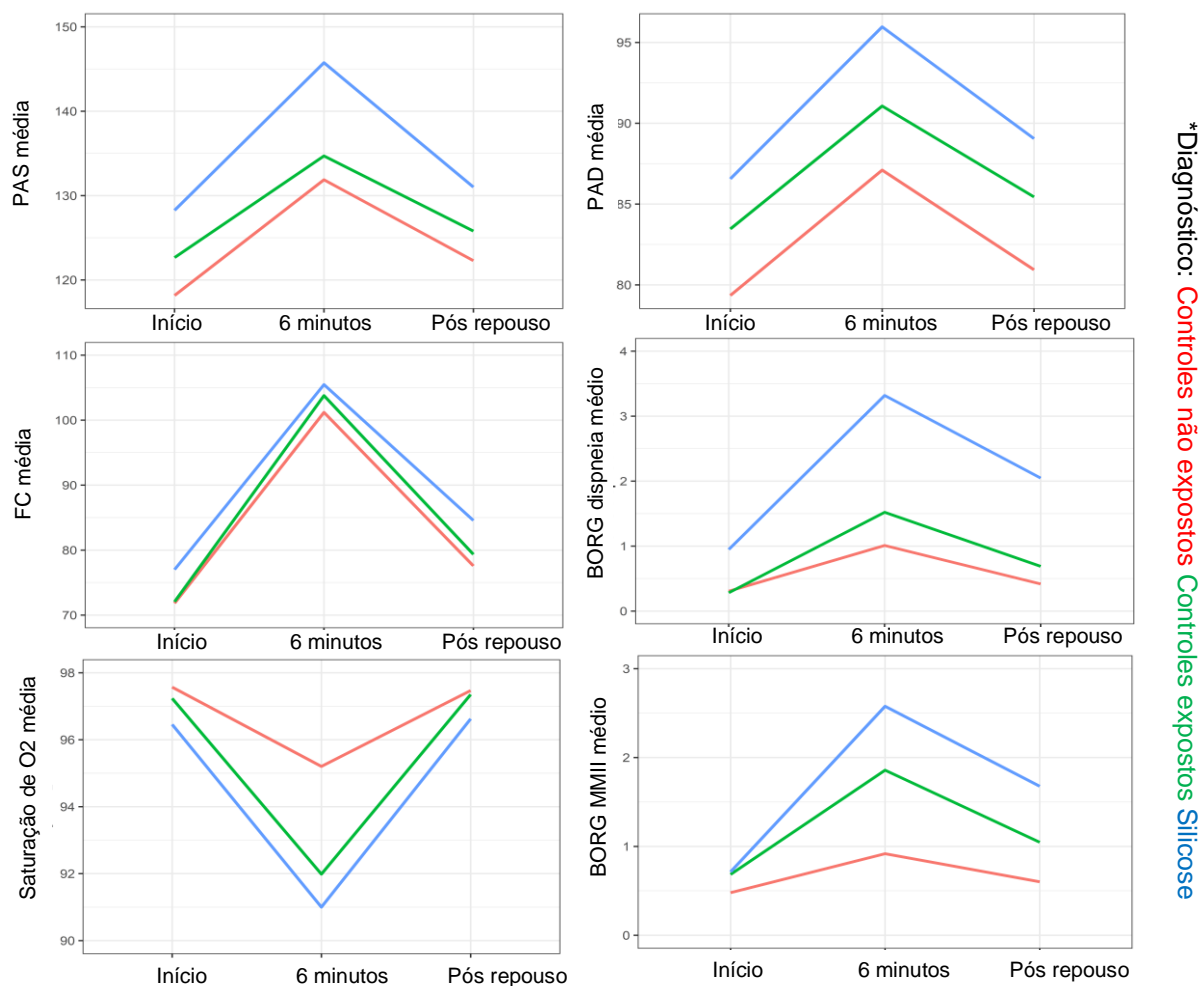
Em análise de regressão logística ajustada para tabagismo foi observada maior associação de distúrbio ventilatório obstrutivo e restritivo no grupo dos indivíduos com silicose com relação ao grupo de expostos sem silicose, com OR= 3,06 (IC95%: 1,69 – 5,56, p<0,001) para DVO e OR= 3,07 (IC95%: 1,02 – 9,26, p=0,046) para DVR. Ao comparar grupo exposto sem silicose com grupo não exposto, ajustando para tabagismo, essa associação aumenta ainda mais para distúrbio obstrutivo, com OR=14,15 (IC95%: 3,92 – 50,97, p<0,001), associação não observada para distúrbio restritivo.

A tomografia de tórax evidenciou que, no grupo com silicose, a alteração mais prevalente foi linfonodos calcificados hilares e/ou mediastinais (72,2%), seguido de espessamento de vias aéreas (51,6%) e enfisema (28,9%). Já, no grupo exposto sem silicose, a alteração mais prevalente foi espessamento de vias aéreas (19,5%), seguido de linfonodos calcificados (16,1%) e enfisema (2%). (p<0,001)

O teste de caminhada de 6 minutos revelou que a média da distância percorrida (metros) nos grupos foi de 544 (DP±56), 563 (DP±62) e de 512 (DP±104) nos grupos G1, G2 e G3, respectivamente, com diferença significativa (p<0,001) apenas entre os grupos exposto sem silicose e com silicose. No grupo com silicose, ao comparar aqueles indivíduos sem e com grandes opacidades, verificou-se uma distância percorrida média de 543 metros (DP±86,4) e 484 metros (DP±111,3), respectivamente (p=0,003). Os gráficos da Figura 9 permitem visualizar a evolução das variáveis avaliadas ao longo do teste, nos três grupos.

Todas as variáveis do TC6M ao longo do teste, ou seja, longitudinalmente, foram avaliadas em modelo de efeitos mistos, que leva em conta medidas repetidas. Foram analisados os: 1. Efeito principal de tempo que mede se houve mudança de média ao longo do tempo independente do grupo; 2. Efeito principal de grupo que mede se há diferença média entre os grupos independente de tempo e 3. Efeito de interação diagnóstico*tempo que mede se a evolução (i.e., mudança de médias ao longo do tempo) ocorre da mesma maneira nos três grupos. Na Tabela 11, são apresentados os resultados das análises das variáveis do Teste de Caminhada de 6 minutos dos três grupos.

A interpretação dos efeitos principais (tempo e grupo) só é possível quando não há evidência de interação do diagnóstico (Grupo) e tempo significativa ($p < 0,01$). Como pode ser visualizado na Tabela 11 foram observadas interações significativas dos grupos com o tempo ao longo do teste nas variáveis PAS, saturação de O₂, escores de BORG para dispneia e para cansaço de membros inferiores (MMII).

Figura 9. Gráficos das médias das variáveis do TC6M ao longo do tempo,

comparação entre os grupos*.

Tabela 11. Resultados da avaliação comparativa entre os grupos do desempenho no Teste de caminhada de 6 minutos.

	Grupo	Início		6 minutos		Pós repouso		Valores-p*		
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Diagnóstico	Tempo	Interação
PAS	G1	118,2	11,4	131,9	13,7	122,3	11,7	< 0,001	< 0,001	0,002
	G2	122,7	14,5	134,7	19,4	125,8	15,7			
	G3	128,2	18,3	145,7	24,0	131,0	18,2			
PAD	G1	79,4	8,2	87,1	7,7	80,9	7,4	< 0,001	< 0,001	0,431
	G2	83,5	10,3	91,1	11,7	85,5	10,8			
	G3	86,6	11,2	96,0	13,8	89,1	12,5			
FC	G1	71,8	12,9	101,2	21,7	77,6	14,8	0,026	< 0,001	0,583
	G2	72,1	12,6	103,8	18,6	79,3	15,8			
	G3	77,0	14,3	105,5	19,2	84,6	16,9			
SpO₂	G1	97,6	1,1	95,2	2,2	97,5	1,3	< 0,001	< 0,001	0,004

	G2	97,2	1,4	92,0	8,6	97,4	1,5			
	G3	96,5	1,9	91,0	6,6	96,6	2,6			
BORG D	G1	0,3	0,6	1,0	1,2	0,4	0,7	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	G2	0,3	0,8	1,5	1,7	0,7	1,2			
	G3	0,9	1,5	3,3	2,7	2,0	2,4			
BORG MMII	G1	0,5	1,4	0,9	1,7	0,6	1,4	0,001	< 0.001	< 0.001
	G2	0,7	1,3	1,9	2,2	1,0	1,6			
	G3	0,7	1,1	2,6	2,3	1,7	2,0			

Notas: Realizado modelo de efeitos mistos para análise das médias das variáveis ao longo do tempo, expressas em média e desvio padrão. Pós repouso: pós repouso de 2 minutos; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca (bpm: batimentos por minuto); SpO₂: saturação parcial de oxigênio; BORG D (escala BORG dispneia); BORG MMII (escala BORG membros inferiores); G1 (não exposto); G2 (exposto sem silicose); G3 (com silicose) *Valor de p correspondente à interação.

Observando a PAS, o grupo com silicose apresentou aumento mais acentuado aos 6 minutos em comparação aos outros dois grupos, mantendo média aumentada após repouso em relação ao início do teste. Já, para a PAD e FC não houve interação, o que indica que os três grupos se comportam de maneira semelhante ao longo do teste, mas fica claro também nos gráficos que os grupos não são iguais; o grupo com silicose (G3) apresenta médias mais altas e o grupo de não expostos (G1), mais baixas durante todo o teste.

Ao analisar a SpO₂, foi evidenciada interação, com o grupo não exposto tendo uma redução mais branda do que os outros grupos ao longo do teste, com os G2 e G3 se apresentando de maneira semelhantes. Todos os grupos recuperaram os níveis de SpO₂ após o repouso. Também foi observada interação significativa para o escore de BORG de dispneia e de membros inferiores. Ao avaliar BORG de dispneia, o grupo com silicose, além de iniciar o teste com índice médio maior em relação ao G1 e G2, tem um aumento mais acentuado aos seis minutos e após o repouso ainda não retornou ao escore inicial e não sendo observada diferença entre os G1 e G2. Os escores de BORG de MMII dos grupos G2 e G3 ao início do teste foram maiores em relação ao G1. Aos seis minutos observa-se um aumento gradual das médias nos três grupos (G1<G2<G3) e ao final do teste o G2 e G3 não retornaram aos índices iniciais, com valores maiores no grupo com silicose.

5.4. Análises comparativas dos marcadores sanguíneos dos grupos avaliados

Na Tabela 12 são apresentadas as análises comparativas, entre os três grupos, dos marcadores sanguíneos. O grupo de pacientes com silicose (G3) apresentou valores médios de linfócitos inferiores aos demais.

Tabela 12. Dados de exames laboratoriais gerais, comparação entre os grupos avaliados.

Variáveis#/grupos	G1 ^a (n=51)	G2 ^b (n=149)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
Hemoglobina, g/dL	14,9 (14,3-15,7)	15,7 (15,1-16,3)	15,5 (14,8-16,1)	<0,001 [¥]
Hematócrito, (%)	44 (42,5-46)	45 (44-47)	46 (44-47)	0,045 [¥]
CHCM, g/dL	34 (33-34,5)	35 (34-36)	34,0 (33-35)	<0,001 [£]
Leucócitos, mm ³	5780 (5195-7395)	6280 (5360-7360)	6200 (4920-7680)	0,922
Neutrófilos, mm ³	3404 (2659-4085)	3571 (2772-4256)	3742 (2842-5084)	0,236
Eosinófilos, mm ³	144 (75-259)	133 (92-212)	149 (89-246)	0,541
Basófilos, mm ³	40 (0-67)	56 (0-67)	55 (0-75)	0,179
Linfócitos, mm ³	2048 (1632-2328)	1950 (1656-2371)	1647 (1339-1965)	<0,001 [™]
Monócitos, mm ³	488 (410-611)	510 (432-595)	531 (426-691)	0,346
Plaquetas, mm ³ (x 10 ³)	233 (201-260,5)	223 (197-257)	229 (195-264)	0,572
Glicemia, mg/dL	99,7 (±16,5)	100,6 (±16,8)	102,5 (±26,0)	0,312
Creatinina, mg/dL	1,1 (0,9-1,2)	1,0 (0,9-1,1)	1,0 (0,9-1,1)	<0,001 [¥]

Nota: CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; a: G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose); [™](a≠c b≠c); [£](a≠b b≠c); [¥](a≠b a≠c).

Na Tabela 13 são apresentadas as análises comparativas de marcadores inflamatórios entre os três grupos.

Tabela 13. Marcadores inflamatórios, comparação entre os grupos

Variáveis/grupos	G1 ^a (n=51)	G2 ^b (n=149)	G3 ^c (n=97)	Valor de p
NLR	1,6 (1,3-2,1)	1,8 (1,5-2,3)	2,3 (1,6-3,2)	<0,001 [™]
PLR	113,5 (94,7-140,5)	115,9 (92,1-138,5)	142,3 (113,5-171,6)	<0,001 [™]
LMR	4,0 (3,4-4,8)	4,0 (3,2-4,7)	3,2 (2,2-4,0)	<0,001 [™]
LDH, U/L	195 (174-215,5)	189 (169-213)	225 (194-283)	<0,001 [™]
Ácido úrico, mg/dL	5,6 (5,0-6,4)	5,4 (4,5-6)	5,6 (4,7-6,3)	0,296
PCR, mg/L	1,2 (0,6-2,3)	1,1 (0,6-2,6)	2,3 (1,0-7,0)	<0,001 [™]
CEA, mcg/L	1,9 (1,4-3,4)	2,2 (1,5-3,0)	2,3 (1,7-3,2)	0,303
Fibrinogênio, mg/dL	244 (224-293)	288 (249-323)	323 (281-377)	<0,001 [£]
sTNF1RI, pg/ml	2744 (2162-3483)	2789 (2021-3647)	3540 (2358-4615)	0,001 [™]
sTNF1RII, pg/ml	11760 (9473-14260)	9932 (7523-13640)	17480 (9800-30770)	<0,001 [£]
ApoAI, ng/ml (x10 ³)	1310 (781,8-4848)	945,2 (757,9-1815)	1129 (780,5-2208)	0,292
ApoCIII, ng/ml (x10 ³)	1363 (856,5-3287)	1503 (1040-2038)	1608 (1084-2656)	0,847
ApoAII, ng/ml (x10 ³)	11420 (7170-22600)	12760 (9062-17290)	14210 (9062-23410)	0,830
ApoCII, ng/ml (x10 ³)	1406 (857,8-2921)	1933 (1266-2695)	2049 (948,8-3136)	0,481
MMP-9, ng/ml (x10 ³)	44,74 (27,91-69,72)	63,56 (40,32-85,08)	59,36 (36,53-82,75)	0,028 [¥]
MIP-4, pg/ml	4023 (3520-4363)	5904 (4358-7482)	6447 (4575-10770)	<0,001 [£]
MPO, ng/ml (x10 ³)	38,26 (11,66-108,20)	92,95 (46,49-202,70)	154,70 (60,28-282,0)	<0,001 [£]

sVCAM-1, ng/ml (x10 ³)	1258 (732-1686)	1529 (1081-1823)	1588 (1186-2026)	0,015 [¥]
IL-10, pg/ml	4,3 (1,8-14,0)	3,1 (2,1-7,3)	4,7 (2,3-9,2)	0,129
IL-1ra, pg/ml	4,3 (2,6-11,9)	5,3 (3,0-10,7)	12,3 (5,5-29,3)	<0,001 ^π
IL-1β, pg/ml	1,3 (0,7-3,5)	1,1 (0,7-2,1)	1,3 (0,7-2,2)	0,555
MCP-1, pg/ml	267,1 (187,7-328,6)	252,6 (193,2-333,3)	277,5 (194,9-529,8)	0,120
TNFalfa, pg/ml	9,2 (7,0-12,1)	8,4 (5,8-12,0)	12,2 (7,7-20,6)	<0,001 ^π
Eotaxina-2, pg/ml	161,2 (96,2-286,9)	209,1 (117,3-344,1)	303,3 (171,2-486,4)	<0,001 ^π

Nota: Resultados expressos em mediana e intervalo interquartil (IIQ); NLR: razão neutrófilos/linfócitos; PLR: razão plaquetas/linfócitos; LMR: razão linfócitos/monócitos; LDH: lactato desidrogenase; PCR: Proteína C Reativa; CEA: antígeno carcinoembrionário; sTNF1RI : receptor solúvel de TNF subtipo I ; sTNF1RII : receptor solúvel de TNF subtipos II ; ApoAI : apolipoproteína subtipo AI ; ApoCIII : apolipoproteínas subtipo CIII ; ApoAII: apolipoproteína subtipo AII; ApoCII: apolipoproteína subtipo CII ; MMP-9: metaloproteinase-9; MIP-4: proteína inflamatória de macrófagos-4; IL-10: interleucina 10 ; IL-1ra: antagonista de receptor de interleucina 1 ; IL-1β: interleucina 1-beta; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1; TNFalfa: ; MPO: mieloperoxidase ; sVCAM-1: molécula de adesão celular vascular solúvel tipo 1; a: G1 (não exposto); b: G2 (exposto sem silicose); c: G3 (com silicose);^π(a≠c b≠c); [¥](a≠b a≠c); [€](a≠b b≠c a≠c);

Foram observadas diferenças significativas, entre os grupos, nos marcadores avaliados. No G3, 15 marcadores apresentaram diferenças com relação ao G1 e 13 deles com relação ao G2. Apenas seis marcadores diferiram entre G2 e G1: Fibrinogênio, sTNF1RII, MMP-9, MIP-4, MPO, sVCAM-1. O MIP-4 apresentou níveis com graduação crescente do G1 ao G3 mais expressiva (Figura 12D). As Figuras 10 a 12 mostram os gráficos boxplot referentes aos marcadores analisados.

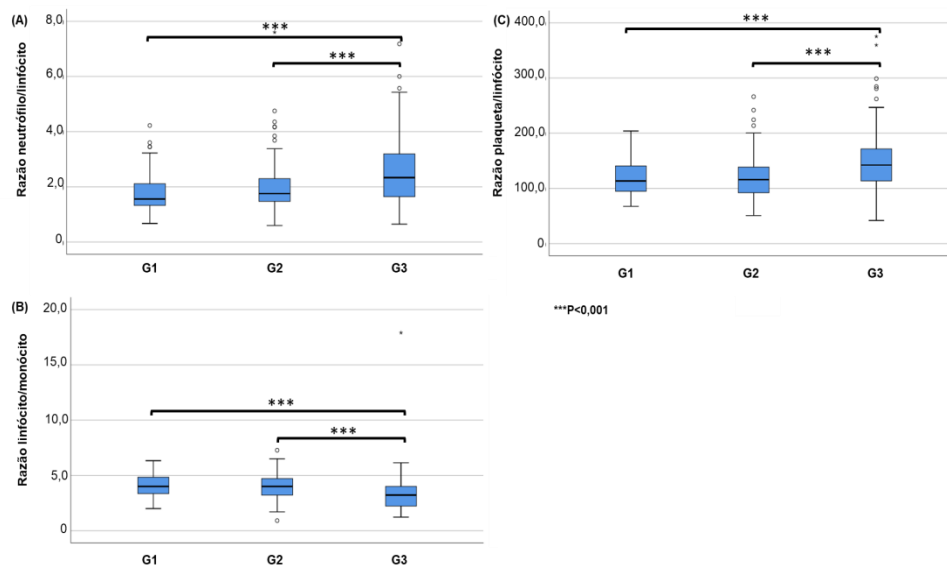


Figura 10. Níveis de marcadores hematológicos de acordo com o estatus de exposição à sílica. (A) Razão neutrófilo/linfócito (NLR). (B) Razão plaqueta/linfócito (PLR). (C) Razão linfócito/monócito (LMR). G1: não expostos; G2: expostos sem silicose; G3: silicose.

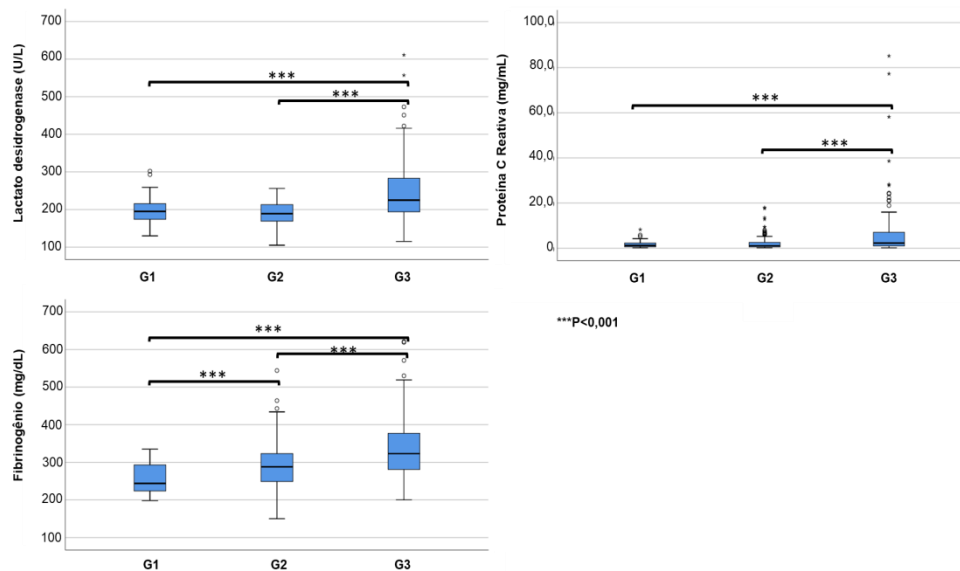


Figura 11. Níveis de marcadores inflamatórios de acordo com o estatus de exposição à sílica. (A) Lactato desidrogenase (LDH). (B) Fibrinogênio. (C) Proteína C Reativa. G1: não expostos; G2: expostos sem silicose; G3: silicose.

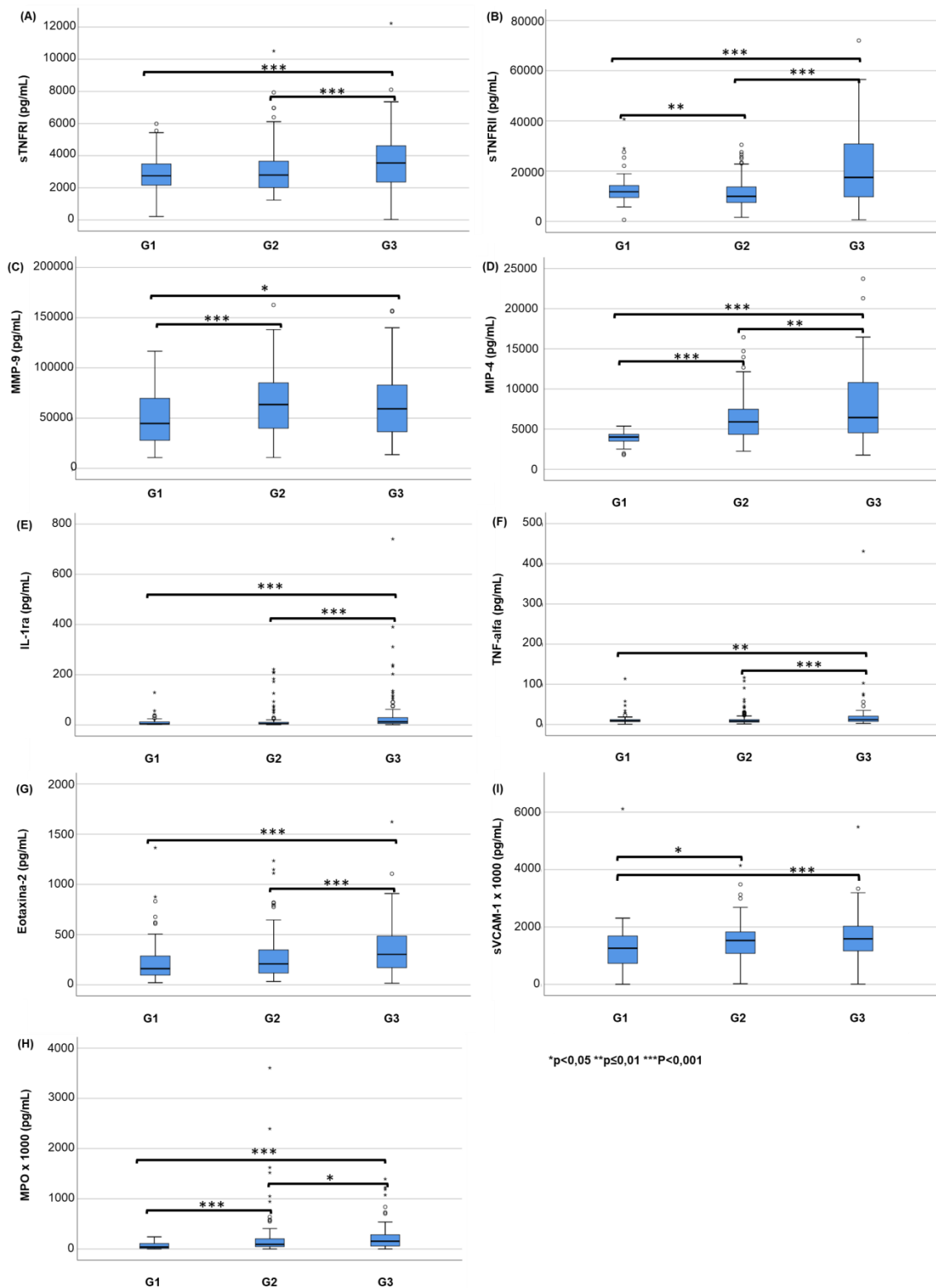


Figura 12. Níveis de marcadores inflamatórios de acordo com o estatus de exposição à sílica. (A) sTNFR I: receptor solúvel de fator de necrose tumoral tipo I. (B) sTNFR II: receptor solúvel de fator de necrose tumoral tipo II. (C): MMP-9: metaloproteinase-9. (D) MIP-4: proteína inflamatória de macrófagos tipo 4. (E)

IL1-ra: antagonista do receptor de interleucina 1. (F) TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa. (G) Eotaxina-2. (H) MPO: mieloperoxidase. (I) sVCAM-1: molécula de adesão celular vascular solúvel tipo-1.

5.5. Imagens, função pulmonar e marcadores inflamatórios: avaliação comparativa dos grupos com silicose crônica com pequenas ou grandes opacidades

No grupo com silicose, 52,6% apresentaram grandes opacidades. Análise múltipla ajustada para tabagismo mostrou que a presença de enfisema nos indivíduos com silicose foi quase seis vezes maior do que no grupo de expostos sem silicose (OR: 5,68; IC95%:1,3-24,3, p=0,019).

Entre os indivíduos com silicose sem grandes opacidades, 54,4% apresentaram espirometria normal, 30,4% distúrbio obstrutivo e 6,5% distúrbio restritivo enquanto que naqueles com silicose complicada, as frequências foram 17,6%, 49,0% e 9,8%, respectivamente.

Na Tabela 14 são apresentadas as comparações das variáveis da função pulmonar nos indivíduos com silicose segundo a ausência ou presença de grandes opacidades (silicose simples e complicada, respectivamente). Observou-se que indivíduos com grandes opacidades apresentaram piores parâmetros de função pulmonar.

Tabela 14. Análise comparativa da função pulmonar em indivíduos com silicose, segundo ausência ou presença de grandes opacidades*

Variável	Silicose forma micronodular (N=46)	Silicose com grandes opacidades (N=51)	Valor de p
CVF (%pred)	91,0 (±12,6)	75,4 (±21,2)	<0,001
VEF ₁ (%pred)	85,0 (±15,4)	59,5 (±22,5)	<0,001
VEF ₁ /CVF	0,8 (±0,1)	0,6 (±0,1)	<0,001
FEF _{25-75%} (%pred)	78,0 (±31,0)	41,0 (±28,0)	<0,001
CPT (%pred)	91,5,0 (±11,4)	82,9 (±16,9)	0,026
VR (%pred)	95,0 (±24,0)	106,0 (±35,0)	0,515
VR/CPT (%pred)	101,9 (±23,7)	128,6 (±39,6)	0,001
DLco (%pred)	102,7 (±18,3)	72,5 (±25,2)	<0,001

Nota: Resultados expressos em média e desvio padrão *grandes opacidades diagnosticadas pela tomografia de alta resolução;

Na Tabela 15 é apresentada a comparação de valores de biomarcadores sanguíneos nos indivíduos com silicose com apresentação micronodular e com grandes opacidades. Aqueles com silicose com grandes opacidades apresentaram médias de linfócitos menores, maior razão neutrófilos/linfócitos e de plaquetas/linfócitos, menor razão linfócitos/monócitos, maiores valores de lactato desidrogenase, proteína C Reativa, IL-1ra, TNF-alfa, sTNFR1 e II e de fibrinogênio.

Tabela 15. Análise comparativas dos marcadores em indivíduos com silicose crônica segundo ausência ou presença de grandes opacidades *

Variáveis/ presença opacidades	Silicose forma micronodular (N=46)	Silicose com grandes opacidades (N=51)	Valor de p
Linfócitos, mm ³ ^o	1768 (1758-2155)	1492 (1404-1669)	0,003
NLRatio ^u	1,9 (1,8-2,2)	3,0 (2,6-3,4)	<0,001
PLRatio ^u	130,0 (122,0-145,0)	148,0 (147,0-186,0)	0,046
LMRatio ^o	3,7 (3,4-4,0)	2,5 (2,4-3,8)	<0,001
LDH, U/L ^u	197,0 (191,0-214,0)	272,0 (258,0-313,0)	<0,001
PCR, mg/L ^u	1,6 (1,8-9,4)	3,8 (5,0-13,5)	0,004
Fibrinogênio, mg/dL ^o	306,0 (296,0-341,0)	340,0 (336,4-386,3)	0,006
sTNFR1, pg/ml ^o	2882 (2749-3719)	3988 (3493-4610)	0,007
sTNFR2, pg/ml ^o	11663 (11953-17358)	26542 (23699-32554)	<0,001
MIP-4, pg/ml ^o	6598 (6716-9089)	5810 (6432-8966)	0,466
IL-1ra, pg/ml ^o	7,6 (8,8-24,2)	26,5 (32,7-103,9)	<0,001
TNF-alfa, pg/ml ^o	8,6 (9,7-17,5)	13,3 (9,9-43,8)	0,006
Eotaxina-2, pg/ml ^o	237,4 (267,6-404,8)	334,0 (303,0-456,8)	0,378

Nota: Resultados expressos em Mediana e Intervalo interquartil *grandes opacidades diagnosticadas pela tomografia de alta resolução;

A maioria dos marcadores inflamatórios estiveram inversamente associados com valores preditos dos parâmetros da função pulmonar (ver anexos 10.15 a 10.20). Com relação às análises comparativas da amostra total de expostos à sílica (G2 +G3), o único marcador inflamatório entre os dez

avaliados que não se mostrou associado à pior CVF predita foi a PLR. Já, na amostra de pacientes com silicose, além da PLR, os marcadores sTNFR1 e Eotaxina-2 também não se associaram à pior CVF (%pred).

Com relação ao VEF₁(%pred), todos os marcadores foram associados à pior função pulmonar ao analisar a amostra total de expostos à sílica, porém, ao analisar apenas a amostra com silicose, também não foi evidenciada associação dos marcadores PLR, sTNFR1 e Eotaxina-2 à pior função pulmonar.

Na análise comparativa da amostra total (G2+G3) da DL_{CO} (%pred), todos os marcadores foram associados à pior função pulmonar, enquanto que no grupo com silicose, apenas a PLR não foi associada a pior função pulmonar.

5.6. Marcadores inflamatórios associados à presença de silicose e grandes opacidades

Para análise de sensibilidade e especificidade dos marcadores para diagnóstico de silicose e de grandes opacidades, foram obtidas curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic*) e determinadas suas respectivas ASC (Area sob a curva). Nas Tabelas 16 e 17 podem ser visualizados os valores dos marcadores que foram significativos ($p < 0,05$) e obtiveram ASC acima de 0,6 e sensibilidade acima de 0,7 e seus respectivos valores de especificidade.

O marcador que obteve maior ASC para diagnóstico de silicose foi sTNFR2 e para a presença de grandes opacidades foi a LDH.

Tabela 16. Valores de ASC, sensibilidade e especificidade de marcadores inflamatórios associados à presença de silicose.

Variáveis	ASC	Valor*	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
NLR	0,65	1,81	70,1%	53,0%
PLR	0,67	118,747	70,1%	52,3%
LDH, U/L	0,72	196,5	71,1%	57,7%
PCR, mg/L	0,68	1,095	70,1%	51,0%
Fibrinogênio, mg/dL	0,68	294,5	72,2%	55,7%
sTNFR1, pg/mL	0,63	2558,0	70,8%	42,6%
sTNFR2, pg/mL	0,73	11440,5	70,8%	62,2%
IL1-ra, pg/mL	0,71	7,155	70,1%	65,5%
TNF alfa, pg/mL	0,64	8,515	71,1%	51,4%
Eotaxina-2, pg/mL	0,63	200,945	70,1%	48,6%

Nota: ASC: Area sob a Curva; *valores dos marcadores associados a cada valor de ASC.

Tabela 17. Valores de ASC, sensibilidade e especificidade de marcadores inflamatórios associados à presença de grandes opacidades

Variáveis	ASC	Valor*	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
NLR	0,72	2,1	70,6%	59,0%
PLR	0,62	121,4	70,6%	37,0%
LDH, U/L	0,80	214,5	70,6%	65,0%
PCR, mg/L	0,67	1,8	70,6%	59,0%
Fibrinogênio, mg/dL	0,66	314,0	70,6%	59,0%
sTNFR1, pg/mL	0,66	3058,5	70,0%	54,0%
sTNFR2, pg/mL	0,77	19527,5	70,0%	78,0%
IL1-ra, pg/mL	0,73	11,1	70,6%	63,0%
TNF alfa, pg/mL	0,66	11,1	72,5%	59,0%

Nota: ASC: Area sob a Curva; *valores dos marcadores associados a cada valor de ASC.

Com objetivo de melhor identificar marcadores com potencial auxílio na identificação de alterações associadas à silicose e o efeito na função pulmonar foram realizadas análises comparativas e de regressão logística múltipla dos marcadores que obtiveram diferença significativa ($p < 0,15$) na análise univariada entre os grupos expostos, sem (G2) e com silicose (G3) (Tabela 13). Os marcadores analisados que atenderam a esse critério foram: NLR, PLR, LMR, LDH, MCP-1, MMP-9, sVCAM-1, PCR, fibrinogênio, sTNFR1, sTNFR2, MIP-4, IL-1ra, TNF-alfa, eotaxina-2 e MPO. Além dos marcadores, o índice BORG dispneia (6 minutos) e BORG MI (6 minutos) também entraram na análise.

As variáveis PCR, MCP-1, MPO, IL-1ra e TNF-alfa, por sua distribuição muito assimétrica, foram avaliadas de forma categorizada. Inicialmente, foram categorizadas em quartis e a regressão logística univariada de cada uma delas mostrou as categorias que poderiam ser agrupadas, por terem resultados semelhantes. Assim, PCR foi categorizada como 1º quartil, 2º e 3º de forma conjunta e 4º quartil (1 vs 2-3 vs 4); MCP-1 teve corte no 3º quartil (1-2-3 vs 4); MPO e IL-1ra tiveram corte no 2º quartil (1-2 vs 3-4). Sempre foi considerada a primeira categoria como a de referência para as análises.

Uma vez que os pares de variáveis PCR e fibrinogênio, sTNFRI e sTNFRII, IL-1ra e TNF-alfa, Borg D 6min e Borg MI 6 min são correlacionados, inicialmente foi testado modelo com as seguintes variáveis no modelo inicial:

- Fibrinogênio, sTNF1RI, TNFAlfa, NLR, PLR, LMR, LDH, MMP-9, MIP-4, MPO, sVCAM-1, MCP-1, Eotaxina-2, Borg 6 min MI além das variáveis de controle idade (anos), tabagismo e Índice de exposição total. Não foram significantes no modelo final: fibrinogênio; sTNFRI e TNF-alfa.

Em seguida, foi repetido o modelo com PCR, sTNFRII e IL-1ra:

- PCR, sTNF1RII, IL-1ra, NLR, PLR, LMR, LDH, MMP-9, MIP-4, MPO, sVCAM-1, MCP-1, Eotaxina-2, Borg 6 min D além das variáveis de controle idade (anos), tabagismo e Índice de exposição total.

A modelagem foi backward e no caso de haver modificação maior que 10% nos betas estimados na retirada de uma variável, ela era reintroduzida no modelo. Dessa forma, pode-se considerar que as variáveis significantes no modelo final estão ajustadas para todas as variáveis que foram incluídas no modelo inicial. Foram incluídas na análise n= 237 (79.8%) indivíduos que tinham dados completos para todas as variáveis analisadas.

A significância das variáveis foi avaliada pelo teste de Wald e o ajuste dos modelos foi avaliado pelo teste de Hosmer-Lemeshow. No modelo final foi realizado teste de Holmes-Lemeshow.

As variáveis significantes no modelo podem ser visualizadas na Tabela 18. Os marcadores associados à presença de silicose foram PLR, LDH, BORG D 6min, sTNFRII e MIP-4. Na avaliação da OR de ter silicose, foram observados os seguintes dados: o aumento em 10 U/L na LDH está associado a um aumento 22,7% na OR de ter silicose; o aumento de uma unidade no escore de Borg de dispneia a um aumento de 24,2%; o aumento de 1000 pg/ml de sTNFRII a aumento de 10,2%, tendo o MMP-9 revelado discreta associação negativa.

Tabela 18. Variáveis associadas à presença de silicose, comparação entre grupo de expostos sem e com silicose.

Variáveis	OR	IC95%	Valor de p
PLR	1,010	1,001 - 1,020	0,027

LDH, U/L*	1,227	1,096 - 1,373	0,000
BORG D 6min	1,242	1,042 - 1,480	0,016
sTNFRII, pg/ml***	1,102	1,042 - 1,166	0,001
MIP-4, pg/ml**	1,024	1,010 - 1,038	0,001
MMP-9, pg/ml***	0,984	0,971 - 0,999	0,032

Nota: ajustes do modelo para cada variável avaliada através do Teste de Hosmer Lemeshow; PLR e Borg D 6min – OR (Odds Ratio) para aumento de uma unidade; IC95% (Intervalo de Confiança de 95%); *LDH- OR para aumento de 10 unidades; **MIP-4- OR para aumento de 100 unidades e ***sTNFRII e MMP-9- OR para aumento de 1000 unidades.

Os marcadores associados à presença de grandes opacidades foram LDH e sTNFRII, sendo que para cada 10 unidades de aumento na LDH foi observado OR=1,2, ou seja, 20% de aumento de risco para apresentar grandes opacidades (IC95%: 1,1-1,4, p=0,002) e para cada 1000 unidades de aumento de sTNFRII, foi também observado OR=1,2 (IC95%: 1,06-1,3, p=0,002)

5.7. Marcadores inflamatórios e função pulmonar

Os marcadores que apresentaram maior valor (>0,6) de ASC (Tabela 16) foram correlacionados com a função pulmonar. As correlações com a CVF, VEF₁, VEF₁/CVF, CPT, VR/CPT e DL_{CO} foram mais significativas no grupo com silicose para os marcadores: LDH, LMR, PCR, sTNFRII e IL1-ra. (Tabela 19) (Ver tabela completa no Anexo 10.10). O grupo de expostos sem silicose apresentou apenas três marcadores com correlações significativas, embora muito fracas, apenas com DL_{CO}, são eles: NLR, sTNFR1 (ambos com correlações negativas) e MIP-4 (correlação positiva) (Tabela completa no Anexo 10.9).

Tabela 19. Correlação entre marcadores e variáveis da função pulmonar (%pred) no grupo com silicose (N=97)

Variáveis	CVF (%pred)		VEF ₁ (%pred)		VEF ₁ /CVF (%pred)		CPT (%pred)		VR/CPT (%pred)		DL _{CO} (%pred)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
LDH	-0,44	<0,001	-0,43	<0,001	-0,18	0,075	-0,33	0,001	0,31	0,002	-0,52	<0,001
LMR	0,33	0,001	0,32	0,001	0,26	0,011	0,21	0,044	-0,27	0,007	-0,36	<0,001
PCR	-0,34	0,001	-0,40	<0,001	-0,23	0,025	-0,34	0,001	0,26	0,011	-0,47	<0,001
sTNFRII	-0,37	<0,001	-0,35	<0,001	-0,20	0,053	-0,23	0,024	0,34	<0,001	-0,57	<0,001
IL1-ra	-0,41	<0,001	-0,41	<0,001	-0,21	0,040	-0,23	0,024	0,45	<0,001	-0,42	<0,001

Nota: LDH: lactato desidrogenase; LMR: razão linfócitos/monócitos; PCR: proteína C reativa; sTNFRII: receptor solúvel de TNF II; IL1-ra: antagonista do receptor de interleucina-1.
*Correlação de *Spearman*.

Maiores valores dos marcadores inflamatórios estiveram associados com menores valores preditos dos parâmetros da função pulmonar nas análises univariadas (ver anexos 10.15 a 10.20). Na Tabela 20 são apresentados os resultados das análises múltiplas de marcadores associados a pior função pulmonar nos indivíduos expostos com e sem silicose, considerando o ponto de corte para CVF, VEF₁, CPT e DL_{CO} abaixo de 80% do predito e VEF₁/CVF abaixo de 0,7. Para o aumento de 10 U/L na LDH foi observado um aumento de 14,6% no OR da CVF e de 30,4% no VEF₁ estarem abaixo de 80% do predito; a cada aumento de 1000 pg/ml de sTNFRII se associou com aumento de 4% no OR da relação VEF₁/CVF ser <0,70, de 8,5% no VEF₁ e de 4,8% na CPT de estarem abaixo de 80% do predito. O índice Borg de dispneia e o MCP-1 se associaram a elevada maior prevalência de CPT com valor inferior a 80% do predito.

Os Anexos 10.11 e 10.13 mostram a tabelas com análises comparativas das amostras de expostos à sílica (G2 + G3) e de indivíduos com silicose (G3), respectivamente, quanto a antecedentes de tabagismo e critérios de função pulmonar (CVF, VEF₁ e DL_{CO}, %pred). Em ambas as amostras não foram observadas diferenças entre os grupos (nunca fumou x ex-fumante) quanto a melhor (>80%pred) ou pior função pulmonar (<80%pred).

Os Anexos 10.12 e 10.14 mostram análises comparativas de tempo total de exposição (anos) e graduação total de exposição nas amostras G2 + G3 e apenas G3, respectivamente, quanto a pior ou melhor critério de função pulmonar (CVF, VEF₁ e DL_{CO}, %pred). A graduação total de exposição teve associação com pior função pulmonar em todas as variáveis em ambas as amostras.

Tabela 20. Marcadores inflamatórios associados à pior função pulmonar (G2+G3, N: 247)

Variáveis	OR	IC95%	Valor de p
CVF			
LDH, U/L*	1,146	1,069 - 1,230	0,000
BORG D 6min	1,309	1,107 - 1,547	0,002

VEF₁			
sTNFR _{II} , pg/ml**	1,085	1,013 - 1,163	0,020
LDH, U/L*	1,304	1,125 - 1,511	0,000
BORG D 6min	1,304	1,125-1,511	0,000
Fibrinogênio, mg/dL*	1,074	1,021 - 1,129	0,006
VEF₁/CVF			
sTNFR _{II} , pg/ml**	1,040	1,010-1,071	0,004
BORG D 6min	1,193	1,034-1,376	0,011
CPT			
sTNFR _{II} , pg/ml**	1,048	1,013-1,084	0,007
BORG D 6min ^{&}	2,502	1,068-5,864	0,035
MCP-1, pg/ml ^{&}	3,019	1,324-6,885	0,009
DL_{co}			
NLR	1,711	1,090-2,685	0,020
LDH, U/L*	1,134	1,034-1,244	0,008
sVCAM1, pg/ml**	1,010	1,002-1,018	0,016
sTNFR _{II} , pg/ml**	1,080	1,030-1,127	0,001

Nota: ajustes do modelo para cada variável avaliada através do Teste de Hosmer Lemeshow; OR: *Odds Ratio*; 95% IC: Intervalo de Confiança de 5%; *p<0,05; # Pior função pulmonar: valores ≤ 80% predito para CVF, VEF₁, CPT e DL_{co} e para VEF₁/CVF <0,70. LDH: lactato desidrogenase; sTNFR_{II}: receptor solúvel de fator de necrose tumoral alfa II; NLR: razão neutrófilos/linfócitos. *LDH e fibrinogênio- OR para aumento de 10 unidades; **sTNFR_{II} OR para aumento de 1000 pg/ml e sVCAM1 OR para cada 10.000pg/ml), [&]MCP-1 e Borg D o OR refere-se ao último quartil comparado com os três primeiros quartis. As variáveis do modelo final foram ajustadas para: Idade, Tabagismo, Índice de exposição total, PCR, MCP-1, Eotaxina-2, MPO, sVCAM-1, IL-1ra, NLR, LMR.

5.8. Análises dos polimorfismos genéticos dos grupos avaliados

Nas Tabelas 21 e 22 abaixo são apresentadas as comparações das frequências dos genes que codificam as enzimas do grupo glutationa-S-transferases *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* envolvidas na detoxicação tanto de produtos endógenos como de xenobióticos (Tabela 21) e dos genes de reparo de DNA *XRCC1*, *XRCC3* e *XPB* (Tabela 22), no modelo genotípico, no qual é feita a comparação da frequência dos homozigotos para o alelo selvagem versus heterozigotos versus homozigotos para o alelo polimórfico. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências entre os grupos.

Tabela 21. Análises comparativas das frequências de genes codificadores da família glutational-S-transferase: *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*, entre os grupos avaliados.

Gene	G1 (n=51)	G2 (n=142)	G3 (n=94)	Valor de p
<i>GSTM1</i>*				0,730
2 cópias	29,4%	35,2%	38,3%	
1 cópia	56,9%	47,2%	46,8%	
0 cópia	13,7%	17,6%	14,9%	
<i>GSTT1</i>*				0,124
2 cópias ou mais	96,0%	100,0%	97,9%	
1 cópia	2,0%	0,0%	2,1%	
0 cópia	2,0%	0,0%	0,0%	
<i>GSTP1</i>*				0,904
HZS	34,7%	39,4%	42,6%	
HTZ	49,0%	43,0%	41,5%	
HZP	16,3%	17,6%	16,0%	

Nota: *Teste Qui-Quadrado de *Pearson* (resultados expressos em porcentagem); HZS: homozigoto selvagem; HTZ: heterozigoto; HZP: homozigoto polimórfico;

Tabela 22. Análises comparativas das frequências de genes *XRCC1-194*, *XRCC1-399*, *XRCC3* e *XPB*, entre os grupos avaliados.

Gene	G1 (n=49)	G2 (n=142)	G3 (n=94)	Valor de p
<i>XRCC1-194</i>**				0,473
HZS	79,6%	88,0%	89,4%	
HTZ	18,4%	10,6%	9,6%	
HZP	2,0%	1,4%	1,0%	
<i>XRCC1-399</i>*				0,184
HZS	63,3%	52,1%	52,1%	
HTZ	30,6%	44,4%	38,3%	
HZP	6,1%	3,5%	9,6%	
Gene <i>XRCC3</i>*				0,076
HZS	40,8%	56,4%	50,0%	
HTZ	49,0%	40,1%	38,3%	
HZP	12,2%	3,5%	11,7%	
Gene <i>XPB</i>*				0,845
HZS	42,9%	47,2%	42,5%	
HTZ	44,9%	43,6%	41,5%	
HZP	12,2%	9,2%	16,0%	

Nota: **Teste Exato de Fisher (resultados expressos em porcentagem); *Teste Qui-quadrado de *Pearson* (resultados expressos em porcentagem); HZS: homozigoto selvagem; HTZ: heterozigoto; HZP: homozigoto polimórfico.

Ao fazer a análise comparativa das frequências entre os grupos G2 e G3, não foram observadas diferenças significativas entre eles.

Na Tabela 23 são descritas as frequências genotípicas dos polimorfismos do tipo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), a frequência do alelo polimórfico (*minor allele frequency*: MAF) e o resultado do teste de Qui-Quadrado

para verificar se estes se encontraram em Equilíbrio de *Hardy Weinberg* (EHW) nos grupos de expostos sem e com silicose, que ocorre quando não há mudança nas frequências dos alelos e do genótipo da população ao longo do tempo (cálculo realizado apenas para os polimorfismos SNPs). O polimorfismo *XRCC1* – 194 não obedeceu ao EHW na amostra total ($p < 0,05$), o que significa que ainda pode estar sofrendo pressão seletiva do ambiente.

Tabela 23. Distribuição das frequências genotípicas, alélicas (minor allele frequency, MAF) e resultado das análises do Equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos G2+G3 (N=236).

Polimorfismos	Genótipos	Amostra total		MAF	EHW	
		N	%		χ^2	p
<i>XRCC1</i> - 194	HZS	209	88,6	6,36	5,010	0,025*
	HTZ	24	10,2			
	HZP	3	1,3			
<i>XRCC1</i> - 399	HZS	123	52,1	26,91	1,043	0,307
	HTZ	99	41,9			
	HZP	14	5,9			
<i>XRCC3</i>	HZS	127	53,8	26,48	0,034	0,854
	HTZ	93	39,4			
	HZP	16	6,8			
<i>XPD</i>	HZS	108	45,8	31,36	0,939	0,333
	HTZ	108	45,8			
	HZP	20	8,5			
<i>GSTP1</i>	HZS	96	40,7	38,14	2,454	0,117
	HTZ	100	42,4			
	HZP	40	16,9			

Nota: N: número de indivíduos; MAF: *Minor allele frequency* (frequência do alelo polimórfico); EHW: Equilíbrio de *Hardy Weinberg*; * $p < 0,05$; HZS: homozigoto selvagem; HTZ: heterozigoto; HZP: homozigoto polimórfico.

Quando comparadas as frequências dos polimorfismos entre os grupos expostos sem e com silicose, nos diferentes modelos (genotípico, dominante e recessivo), foi encontrada associação significativa entre o polimorfismo do gene *XRCC3* nos modelos de genótipo e recessivo e a presença de silicose ($p = 0,018$) (Anexo 23).

5.9. Polimorfismos associados à silicose e à função pulmonar

Foram realizadas análises de regressão logística multivariadas ajustadas para tabagismo e graduação total de exposição, para avaliar quais polimorfismos apresentaram associação com a presença de silicose. O gene *XRCC3* homozigoto polimórfico (modelo recessivo), único polimorfismo que mostrou significância na análise univariada, não mostrou significância na análise múltipla (OR= 3,37; IC95%: 0,61-18,76).

Na análise dos polimorfismos e sua associação a pior função pulmonar (<80% predito) nos grupos 2 e 3 (amostra total), foram encontradas associações significantes com as seguintes variáveis, como mostra a Tabela 24. Maior prevalência de polimorfismos genéticos tiveram associação com piores parâmetros de função pulmonar, com exceção do *GSTP1*, que se apresentou menos prevalente naqueles indivíduos com pior função pulmonar. Não foram detectadas associações significantes entre os polimorfismos do estudo e a variável DLco (%pred) em ambos os grupos (Anexos 10.24).

Tabela 24. Polimorfismos associados a piores parâmetros de função pulmonar* em indivíduos expostos à sílica, com e sem silicose (N=246)

Polimorfismos	Variável de função pulmonar	Modelo genético/nº cópias	Valor de p
<i>XRCC1 - 399</i>	CVF	Modelos Genótipo	0,036
		Modelo Recessivo	0,019
<i>CNV GSTT1</i>	VEF ₁	2 cópias ou mais	0,028
<i>XRCC1 - 399</i>	VEF ₁	Modelo Genótipo	0,045
		Modelo Recessivo	0,015
<i>XPD</i>	VEF ₁	Modelo Dominante	0,030
<i>XRCC1 - 399</i>	VEF ₁ /CVF	Modelo Genótipo	0,024
		Modelo Dominante	0,030
		Modelo Recessivo	0,030
<i>GSTP1</i>	VEF ₁ /CVF	Modelo Genótipo	0,020
		Modelo Dominante	0,030
		Modelo Recessivo	0,040

Nota: Teste Qui-Quadrado/Exato de Fisher; *Pior função pulmonar (valores < 80% do valor predito)

No grupo com silicose, observou-se também que maior prevalência do polimorfismo do *GSTP1* teve associação significativa com melhor função

pulmonar no G3, ou seja. Tanto indivíduos heterozigotos (Modelo Genótipo: OR=0,230, IC95%: 0,064-0,822, p=0,024) e (Modelo Dominante: OR=0,215, IC95%: 0,064-0,722, p= 0,013) quanto homozigotos polimórficos (Modelo Genótipo: OR=0,186, IC95%: 0,041-0,835, p=0,028) para o gene *GSTP1* apresentaram menor associação com pior função pulmonar (variável VEF₁/CVF) em relação a indivíduos homozigotos selvagens, portanto, este gene pode estar associado a proteção para distúrbio ventilatório obstrutivo.

6. Discussão

Este estudo combina avaliação clínica e ocupacional com investigação de marcadores inflamatórios e polimorfismos genéticos, da função pulmonar, alterações nas imagens radiológicas e do desempenho no exercício em indivíduos expostos à sílica sem (G2) e com silicose (G3), acrescido de um grupo controle de indivíduos não expostos à sílica (G1). É o estudo, que temos conhecimento até o momento, com maior número de participantes, que aborda esta temática realizado no Brasil. Foram avaliados 297 indivíduos do sexo masculino dos quais, 51 controles não expostos (G1), 149 expostos à sílica sem silicose (G2) e 97 com silicose (G3).

Foi observada uma evolução gradativa dos valores dos marcadores inflamatórios e o inverso, nos parâmetros da função pulmonar, entre os Grupos 1,2 e 3, embora em vários deles não houve diferença significativa entre o grupo de expostos à sílica sem silicose e o grupo não exposto.

O grupo com silicose também apresentou maior prevalência de antecedentes de hipertensão, de pneumonia, de tuberculose e maior prevalência de sintomas respiratórios com relação ao grupo não exposto (G1) e exposto sem silicose (G2)

Marcadores inflamatórios, teste de esforço, estiveram associados significativamente à pior função pulmonar em expostos à sílica, a diagnóstico de silicose e, neste grupo, à maior prevalência de grandes opacidades. O polimorfismo genético apresentou resultados menos consistentes, o gene *GSTP1* esteve associado a melhores valores de função pulmonar entre expostos à sílica.

Os marcadores razão neutrófilo/linfócito (NLR), razão plaqueta/linfócito (PLR), razão linfócito/monócito (LMR), lactato desidrogenase (LDH), proteína-C

reativa (PCR), fibrinogênio, receptores solúveis do fator de necrose tumoral I e II (sTNFR I e sTNFR II), proteína inflamatória de macrófagos-4 (MIP-4), mieloperoxidase (MPO), antagonista do receptor de interleucina-1 (IL1-ra), fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e eotaxina 2 foram mais elevados no G3, em comparação ao G2 e G1. Nas análises de regressão múltipla, envolvendo os grupos G2 e G3, os marcadores associados à silicose foram PLR, LDH, sTNFR II e o MIP-4 e os marcadores associados a piores parâmetros da função pulmonar LDH, NLR, sTNFR II, MCP-1, sVCAM e fibrinogênio.

6.1. Avaliação clínica e sobre antecedentes de comorbidades

O presente estudo mostrou maior prevalências de ex-fumantes nos grupos de expostos à sílica, com silicose (29,9%) e sem silicose (18,8%), com relação ao grupo controle (3,9%) e quando comparadas à prevalência de tabagismo no Brasil, que é de 12,6% no geral e de 15,9% entre os homens (71). Taxas mais elevadas de tabagismo entre trabalhadores de setores industriais, minas e fundições, os chamados trabalhadores de colarinho azul, são observadas quando comparadas à população geral ou trabalhadores denominados de colarinhos brancos (72). Entretanto, no presente estudo, a baixa frequência de ex-fumantes observada no grupo não exposto pode estar relacionada à característica peculiar dos indivíduos selecionados para o estudo, provenientes do complexo hospitalar do Hospital das Clínicas, por ser ambiente livre do tabaco e terem, possivelmente, mais informações sobre os malefícios do tabagismo, bem como acesso ao tratamento.

A maior prevalência de infecções micobacterianas e não micobacterianas encontrada no grupo com silicose (10,3%), tem sido observada em outros estudos, com evidências sugerindo que a presença de partículas de sílica intracelular e seus efeitos reduz a atividade dos macrófagos alveolares tornando-os disfuncionais e menos eficientes na fagocitose de bacilos e bactérias (73–75). Indivíduos expostos à sílica, mesmo sem silicose, são mais predispostos à tuberculose pulmonar (76). Estima-se que o risco para tuberculose pulmonar em indivíduos com silicose seja de 2,8 a 39 vezes maior em em comparação a controles saudáveis (58,77).

Os sintomas respiratórios, com destaque para sibilância, foram mais frequentes no grupo com silicose, como já demonstrado em outros estudos

(78,79) e também apresentaram maior frequência de escore de dispnéia mMRC \geq 2 (G1: 28,8% contra 0% e 2,7%, nos grupos 1 e 2, respectivamente). Na avaliação de sintomas respiratórios pelo questionário ECHRS, a frequência de sibilância foi 25 e 2,5 vezes mais frequente no Grupo 3 em relação aos grupos 1 e 2, respectivamente, confirmando que, embora a silicose seja uma doença intersticial, cursa com frequência, na sua forma crônica, com importante acometimento de vias aéreas, fato frequentemente pouco valorizado. Em análise de regressão múltipla, corrigida pelo tabagismo, a maior frequência de sibilância nos indivíduos com silicose permaneceu significativa. Esse achado sugere que o questionário ECHRS possa ser aplicado no monitoramento de trabalhadores expostos à sílica e que a presença deste sintoma pode ser um alerta sobre os efeitos da exposição à poeira, o que contribui para estimular a adoção de medidas para melhoria da qualidade do ar e avaliar afastamento precoce do trabalhador de ambientes com risco, bem para a investigação do paciente quanto a possível diagnóstico de silicose.

O desenvolvimento de DPOC e doença de pequenas vias aéreas em indivíduos expostos à sílica independe da presença de sinais radiológicos de silicose (26,80,81), o que mostra um acometimento precoce das vias aéreas antes da doença ser identificável pelos métodos de imagem, mesmo pela tomografia. A poeira de sílica pode causar lesões inflamatórias e fibróticas generalizadas nas pequenas vias aéreas, afetando principalmente a parede dos bronquíolos respiratórios e membranosos e em menor grau, os ductos alveolares (26,82,83).

O grupo com silicose (G3) apresentou maiores médias de pressão arterial e a frequência de indivíduos que referiram ser hipertensos foi 2,5 e 2 vezes maior com relação aos grupos não expostos (G1) e expostos sem silicose (G2), respectivamente. A maior idade dos pacientes com silicose pode contribuir para estes achados (84) embora existe plausibilidade para possível efeito das partículas finas de sílica tanto pela inflamação pulmonar e alteração da modulação do sistema nervoso autônomo, com predomínio da atividade simpática e vasoconstrição, como pela translocação das partículas para a corrente sanguínea podendo levar à alteração da integridade do endotélio vascular e maior incidência ou progressão de aterosclerose (85–87).

6.2. Função pulmonar, capacidade de exercício e imagem

O grupo com silicose apresentou maior frequência de exames de função pulmonar alterados com relação ao G1 e G2, com predomínio de distúrbio ventilatório obstrutivo. Também apresentou piores valores de capacidades e volumes pulmonares e de difusão de monóxido de carbono (DLco). A presença de distúrbio ventilatório obstrutivo e restritivo na silicose é bem descrita, independente do tabagismo (23,88). Indivíduos expostos à sílica e sem a doença também podem desenvolver distúrbio obstrutivo, como evidenciado no presente estudo, no qual o grupo exposto sem silicose apresentou prevalência mais elevada de distúrbio obstrutivo (25,7%) (89,90). Estudos epidemiológicos demonstraram aumento de 3,5 a 12,7 vezes no risco de enfisema em indivíduos que trabalharam com alta carga de exposição à sílica durante 20 anos (26). Indivíduos com silicose crônica podem apresentar alterações funcionais mesmo com poucas alterações radiológicas, embora a maioria dos estudos tenham utilizado a radiografia de tórax, menos sensível, e não a tomografia para excluir a presença de silicose. A presença de restrição está mais relacionada a maior profusão de alterações radiológicas do que com o tempo de exposição, mas está sempre presente nos casos de silicose aguda e acelerada (23,88,91,92). Outro ponto a ser destacado é a presença de outras fontes de exposição a que os indivíduos foram submetidos ao longo de sua vida laboral. Muitos dos expostos, assim como aqueles com silicose, trabalhavam em atividades com exposição a gases, fumos, silicatos e outros materiais particulados (ex: fundição, construção civil, metalmecânica, indústria de borracha) que, embora não mensuradas e que possam ter sido relatadas com pouca precisão, podem ter contribuído para o desenvolvimento de alterações funcionais.

O desempenho dos participantes no teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) foi inferior no grupo com silicose, que apresentou maior dessaturação após 6 minutos e menor distância percorrida média. Já, o grupo exposto sem silicose teve melhor distância percorrida média em comparação aos outros dois grupos. Estes fatos evidenciam que o TC6M tem maior sensibilidade em doenças mais avançadas, embora possa ter ocorrido interferência do efeito do trabalhador sadio no fato de expostos sem doença terem apresentado melhor desempenho (93). Estudo recente demonstrou que indivíduos com silicose complicada (presença de grandes massas) têm pior desempenho no TC6M (< 350 metros)

e mais dessaturação no exercício (94). Estes dados vão de encontro aos resultados do presente estudo que também encontrou menor distância percorrida média pelos pacientes com silicose complicada em comparação àqueles sem grandes opacidades (484 x 543 metros, respectivamente). Além disso, nosso estudo também encontrou correlação positiva, embora fraca, da distância percorrida com variáveis de função pulmonar nos indivíduos com silicose (Anexo 10.10). Uma alternativa mais precisa ao teste de caminhada é o teste de esforço cardiopulmonar, mais sensível em para triagem de comprometimento ventilatório em indivíduos assintomáticos expostos a poeiras, sugerindo sua maior utilidade na vigilância respiratória dos trabalhadores (95), entretanto é um exame com menor acesso e mais dispendioso.

Os achados tomográficos mais frequentes nos indivíduos com silicose foram linfonodos calcificados e grandes opacidades, compatíveis com o alto score de exposição à poeira e tempo longo de exposição ao qual esses trabalhadores foram submetidos, mostrando um perfil de indivíduos com doença mais avançada. Nos expostos sem silicose, que também apresentaram longo tempo de exposição à sílica, o espessamento de vias aéreas foi a alteração predominante. Revisão de estudos epidemiológicos e fisiopatológicos em expostos à sílica mostrou aumento da prevalência de bronquite crônica e de enfisema que podem levar à obstrução do fluxo aéreo, mesmo sem imagem radiológica compatível com silicose, e que estes achados estão relacionados com o aumento do tempo e a intensidade de exposição à sílica (26). O monitoramento adequado de expostos com espirometrias periódicas é um importante instrumento de avaliação. Embora prevista na legislação brasileira, na maioria das vezes é realizada de forma inadequada, sem fiscalização quanto à qualidade e, assim, não tem tido utilidade demonstrada até o momento para a preservação da saúde dos trabalhadores.

6.3. Marcadores inflamatórios

O grupo com silicose apresentou valores mais elevados dos marcadores, sendo eles: razão neutrófilos/linfócitos (NLR), razão plaquetas/linfócitos (PLR), DHL, PCR, fibrinogênio, sTNF1RI e II, MIP-4, MPO, IL-1ra, TNF-alfa e eotaxina-2 (Tabela 13). Isso confirma um status inflamatório mais em níveis mais elevados nos indivíduos com silicose, verificado em outros estudos, mesmo após cessada

a exposição à sílica, pois muitos dos pacientes do presente estudo já estavam afastados da exposição há meses ou anos. Também os expostos à sílica sem a doença apresentaram valores mais elevados nos marcadores com relação ao grupo controle (96–98). Embora não ocorra com todas as variáveis avaliadas, a tendência foi de uma variação gradual entre os três grupos, sugerindo efeito dose acumulada e resposta.

O marcador LMR e o valor absoluto de linfócitos foram menores no grupo com silicose em comparação ao grupo exposto (e mediana de 3,2 (IIQ: 2,2-4,0) G3 em comparação a 4,0 (IIQ: 3,2-4,7) no G2. A LMR foi o marcador que apresentou melhor correlação positiva com a DLco, embora baixa, ($r=0,417$, $p\leq 0,001$). A linfopenia é descrita em pacientes com silicose, que apresentam diminuição tanto do número absoluto de células T como também de células B e natural killers (NK) e um aumento da porcentagem de linfócitos T ativados (99). Isso poderia refletir uma estimulação crônica pelas partículas de sílica liberadas pelos macrófagos, assim, a sílica atuaria como um superantígeno, estimulando a via apoptótica Fas/Fas ligante dos linfócitos com partículas de sílica (99,100).

O aumento das relações NLR, PLR e diminuição da LMR foram observados em estudos prévios que avaliaram indivíduos com silicose (48,49,101), mostrando pior evolução nos que apresentaram estes marcadores mais elevados. Estudo retrospectivo com 32 pacientes com silicose detectou um valor aumentado da NLR (valor de referência $> 1,86$) nos indivíduos com pior evolução radiológica da doença em comparação com aqueles indivíduos com silicose estável, ao longo de 5 anos (48,49). O presente estudo apresentou uma mediana de NLR de 2,3 (IIQ: 1,6-3,2) no grupo com silicose em comparação a 1,8 (IIQ: 1,5-2,3) nos expostos sem silicose ($p<0,001$) e os indivíduos com silicose com a presença radiológica de grandes opacidades apresentaram mediana ainda maior, de 3,0 (IIQ: 2,6-3,4) em comparação aos que apresentaram apenas pequenas opacidades, com mediana de 1,9 (IIQ: 1,8-2,2), $p<0,001$. No entanto, na análise de regressão múltipla, a razão NLR não foi significativamente associada à presença de silicose, nem à grandes opacidades no G3, mas foi associada a pior medida da DLco neste grupo. Estudo recente também demonstrou correlação negativa deste marcador (DLco) com a CVF ($r = -0,258$, $p < 0,01$) e VEF₁/CVF ($r = -0,230$, $p < 0,01$), embora baixa (51), mas

encontrou que a NLR e a PLR correlacionaram-se positivamente em indivíduos com silicose ($r = 0,755$; $p < 0,01$).

Valores aumentados da PLR foram observados no G3 em relação ao G2 e G1, como observados em outros estudos (101), e também no G2 em relação ao G1. Porém, nas análises multivariadas, esse marcador não esteve associado significativamente com o grupo com silicose, nem com a presença de grandes opacidades ou com pior função pulmonar, ao contrário de recente estudo chinês que observou que indivíduos com silicose com níveis elevados de PLR apresentaram pior valor da CVF ($r = -0,258$, $p < 0,01$) (51). O presente estudo encontrou mediana de 142,3 (IIQ: 113,5-171,6) no G3 em comparação a mediana de 115,9 (IIQ: 92,1-138,5) no G2, e de 113,5 (IIQ: 94,7-140,5) no G1 ($p < 0,001$), e que indivíduos com níveis elevados de PLR apresentaram pior CVF ($r = -0,258$, $p < 0,01$) (51).

Com relação à acurácia diagnóstica para silicose dos marcadores NLR e PLR, o presente estudo obteve ASCs de 0,65 e 0,67, respectivamente (Tabela 16). Estudo chinês previamente reportado (51) avaliou estes marcadores como possíveis indicadores de gravidade da silicose (pacientes com pior função pulmonar). A ASC da NLR foi 0,866 (IC 95%: 0,811-0,922, $p < 0,001$), e a ASC da PLR foi 0,731 (IC 95%: 0,663 \pm 0,799, $p < 0,001$), evidenciando que as curvas ROC demonstraram acurácia da NLR e da PLR na avaliação da gravidade dos pacientes com silicose e que NLR foi mais sensivelmente associada à gravidade da doença com relação à PLR. No presente estudo também a NLR apresentou maior valor da ASC em comparação a PLR associados à presença de grandes opacidades (Tabela 17).

A vantagem destas análises, em que através do hemograma completo se consegue extrair as razões absolutas do diferencial de suas células, é que podem fornecer informações úteis quanto ao prognóstico clínico, radiológico e da função pulmonar tanto em indivíduos expostos à sílica como naqueles com silicose, auxiliando no monitoramento para identificar possíveis alterações mais precoces. Apesar dos valores de corte ainda não estarem estabelecidos, o hemograma, pela simplicidade e baixo custo do exame, pode ter seu emprego para avaliar as variações ao longo do tempo em trabalhadores expostos à sílica.

O presente estudo também observou aumento da desidrogenase láctica (DHL), da proteína C Reativa (PCR) e do fibrinogênio, no grupo com silicose,

com níveis ainda mais elevados no subgrupo com silicose complicada, em concordância com o observado em estudos prévios (102,103). Os valores desses marcadores no G3 foram superiores aos valores no G2 e no G1. A DHL, enzima citoplasmática presente em praticamente todas as células, funciona como marcador de dano e morte celular e aumenta em processos inflamatórios e fibróticos pulmonares e já foi demonstrado aumento significativo dos níveis plasmáticos em indivíduos com exposição prolongada à sílica e com silicose em comparação a não expostos (45,102,104). Embora tenha alta sensibilidade, foi demonstrada baixa especificidade em estudo realizado com trabalhadores do carvão (105). No presente estudo, a análise multivariada revelou que a DHL esteve associada ao diagnóstico de silicose e à maior presença de grandes opacidades. DHL apresentou correlações negativas significativas, embora fracas, com o VEF₁, a CVF e a DLco. A correlação negativa de valores de DHL negativa com variáveis de função pulmonar já foi demonstrada por estudo anterior (102), que encontrou correlações com VEF₁ ($r=-0,55$, $p=0,002$), CVF ($r=-0,57$, $p=0,003$) e FEF_{25-75%} ($r=-0,34$, $p=0,036$). A curva ROC para DHL (ASC=0,722, valor de 196,5 U/L) do presente estudo demonstrou valores moderados de sensibilidade (S=71,1%) e de especificidade (E=57,7%). Comparando com o limite superior do valor de referência (VR) do laboratório onde foi realizado o teste (VR: 85 a 227 U/L), observamos para o valor 226,5 U/L obtido da curva ROC, uma sensibilidade de 48,5% e especificidade de 90,6%. Considerando que os pacientes com silicose no presente estudo não tinham comorbidades que justificassem o aumento da DHL sérica (anemias hemolíticas, linfomas, leucemias, miopatias, cardiopatias, infecções respiratórias) e que os macrófagos alveolares são umas das principais fontes desta enzima (106,107), sugere que este marcador possa ser utilizado no monitoramento periódico de indivíduos expostos, sem e com silicose, com os valores de referência atualmente vigentes e padronizados.

A PCR não apresentou em nosso estudo nenhuma associação com presença de silicose, com grandes opacidades e com variáveis de função pulmonar. Estudos sugerem que a PCR, marcador de inflamação sistêmica e de doenças cardiovasculares, está presente em níveis aumentados em pacientes com DPOC independente de risco cardiovascular e está associada a queda do VEF₁ (32,108,109). A análise da curva ROC do presente estudo evidenciou

ASC=0,682, para valor de 1,09 mg/L com sensibilidade e especificidade semelhantes às da DHL (S=70,1% e E=49,0%, respectivamente).

O Fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), secretado principalmente por macrófagos, tem atividades similares às da IL-1 e é reconhecidamente um marcador presente no processo de fibrose na silicose (estimula a deposição de matriz extracelular e produção de colágeno pelos fibroblastos) (36,46,47,110). O presente estudo evidenciou maiores valores de TNF- α e dos seus receptores solúveis sTNFR I e sTNFR II no grupo com silicose em relação aos G1 e G2, sem diferença observada entre estes dois grupos (Tabela 13). Os indivíduos com silicose com a presença de grandes massas também apresentaram valores mais elevados destes três marcadores, com relação aos com silicose na forma micronodular (Tabela 15). A presença precoce de valores aumentados de TNF- α no sangue de indivíduos expostos sem silicose e com silicose foi demonstrada em outro estudo, que encontrou também correlação positiva de TNF- α com a metaloproteinase-9 (MMP-9) (111), marcador que também apresentou valores aumentados em nosso estudo nos grupos expostos à sílica (G2 e G3), em relação ao G1. A desvantagem do TNF- α como marcador é a sua baixa especificidade, instabilidade bioquímica e meia-vida curta, ao contrário do MMP-9, que tem especificidade alta por se expressar nas membranas alveolares e se tratar de enzima-chave nos processos fibróticos intersticiais pulmonares (46,111).

O sTNFR II foi o marcador que apresentou a melhor acurácia diagnóstica para silicose no presente estudo, com ASC=0,73 (Tabela 16) e a segunda melhor acurácia para presença de grandes opacidades com ASC=0,77 (Tabela 17). Além disso, foi o marcador com a melhor correlação com a DLco, $r=-0,573$, $p\leq 0,001$ (Anexo 10.10), critério funcional mais sensível para detectar precocemente lesão da membrana alvéolo-capilar. Na análise de regressão logística, sTNFR II foi associado à presença de silicose (Tabela 18) e de grandes opacidades, que vai de encontro a dados demonstrados por estudo brasileiro (46), que avaliou potenciais marcadores diagnósticos para silicose e encontrou valores maiores de ASC para sTNFR I (ASC=0,83; IC95%: 0,69-0,97) e para sTNFR II (ASC=0,87; IC95%: 0,77-0,98), sendo que este último marcador apresentou também uma boa acurácia para discriminar os grupos apenas expostos à sílica daqueles que desenvolveram a pneumoconiose. Este mesmo

estudo também encontrou correlação positiva entre sTNFR1 e sTNFR2 com tempo de exposição à sílica e severidade radiológica (maior profusão de lesões e presença de grandes opacidades).

Embora demonstrada associação de níveis séricos aumentados de apolipoproteínas AI, AII, CII e CIII e alteração da função pulmonar em indivíduos expostos a material particulado (44) e menores níveis de apolipoproteína-AI em pacientes com silicose (112), este estudo não demonstrou alterações significativas nos níveis de apolipoproteínas entre os grupos avaliados. Já os marcadores molécula de adesão celular vascular solúvel (sVCAM), mieloperoxidase (MPO) e proteína inflamatória de macrófago-4 (MIP-4) apresentaram valores mais elevados nos pacientes expostos à sílica (G2 e G3) com relação ao G1. Estudo envolvendo uma coorte de bombeiros saudáveis, não tabagistas que foram expostos durante atendimento ao incêndio e implosão do *World Trade Center em 2001* (44), encontrou risco aumentado de declínio de VEF₁ (% predito) após 6 anos do evento naqueles indivíduos que apresentaram, nos primeiros seis meses do evento, níveis aumentados de apolipoproteína AII e de PCR, com RR de 3,85 e 3,93, respectivamente, enquanto que a MIP-4 elevada reduziu o risco de suscetibilidade à perda de função pulmonar em seis anos, dado não corroborado em nosso estudo. O grupo que apresentou altos níveis de sVCAM e baixos de MPO recuperou sua função pulmonar após seis anos de acompanhamento (44). O estudo presente evidenciou associação do sVCAM com menores valores da DL_{co} em indivíduos expostos à sílica com ou sem silicose (Tabela 20). Estudos demonstram que a mieloperoxidase, enzima presente nos neutrófilos, exerce atividade proinflamatória e citotóxica nas células epiteliais pulmonares (113), entretanto, nosso estudo não encontrou associação desse marcador com alterações de função pulmonar em expostos à sílica. Não foram identificados até o momento estudos que mostraram associação do marcador sVCAM-1 com presença de silicose ou declínio da função pulmonar em expostos à sílica, sendo o achado do presente estudo o primeiro, que se tem conhecimento até o momento, que relatou relação com queda da DL_{co}. Há que se considerar que no evento do *World Trade Center* as exposições foram muito intensas e diversificadas e por curto período, o que limita comparações, sendo estas muito sujeitas a críticas.

A IL-10, produzida tanto por células B quanto células T, é considerada uma citocina antiinflamatória e tem como efeito principal inibir a síntese de citocinas inflamatórias como IL-2, interferon gama, IL-12 e fator de necrose tumoral-beta). Na fisiopatologia da silicose, a IL-10, embora apresente atividade antiinflamatória, contribui com aumento da fibrose ao estimular a liberação de IL-4 e IL-13, interleucinas pró-fibróticas (110). No presente estudo, no entanto, a IL-10 mostrou valores semelhantes entre os grupos, diferentemente de outros estudos que demonstraram aumento deste marcador tanto em ratos expostos à sílica (114) como em pacientes com silicose (115). Esse fato poderia ser explicado pela linfopenia observada no presente estudo no grupo com silicose, com consequente diminuição dos níveis liberados desta citocina.

O presente estudo mostrou elevação de IL-1ra no grupo com silicose e ainda maior no subgrupo com silicose com presença de grandes opacidades e foram observadas correlações negativas, embora fracas, da IL-1ra com CVF, VEF₁, VR/CPT e DL_{CO} (Anexo 10.10). Esta citocina, produzida por monócitos e macrófagos, tem o papel de bloquear competitivamente tanto as frações alfa (IL-1alfa) como beta (IL-1beta) e tem importante papel antiinflamatório. Nosso estudo não evidenciou maiores valores de IL-1beta no grupo com silicose, o que poderia ser explicado pelo fato de que a liberação de IL-1ra e IL-1beta pode não ser concomitante a depender do estímulo imunológico externo. Outras citocinas antiinflamatórias (IL-4, IL-6, IL-10 e IL-13), não dosadas em nosso estudo, inibem a liberação de IL-1beta e estimulam liberação de IL-1ra (116). Embora estudos demonstraram a associação de níveis aumentados de IL-1 e presença de polimorfismo de IL-1ra (+2018) a maior risco de silicose (117,118), nosso estudo não encontrou associações significativas deste marcador, nas análises múltiplas, com a presença de silicose e piores parâmetros de função pulmonar. Não encontramos estudos que avaliaram associação destas citocinas à piora funcional de indivíduos com silicose.

Embora tenha sido observado um maior aumento gradativo da eotaxina-2 (CCL24) no G3 em relação ao G1 e G2, na análise multivariada esse marcador também não esteve associado ao diagnóstico de silicose e nem a alterações na função pulmonar. A eotaxina-2 é uma importante citocina quimiotática de eosinófilos, relacionados à lesão tecidual e à disfunção pulmonar (46,119,120), e embora pouco específico, pois ocorre em outras doenças pulmonares, é um

marcador que poderia ser útil na compreensão da fisiopatologia da silicose, seu acompanhamento e até como coadjuvante para diagnóstico precoce da doença.

O fato dos marcadores, em sua maioria, apresentarem variação com graduação progressiva entre os grupos de G1 a G3, mesmo que nas análises múltiplas vários deles não tenham se mostrado significantes, deve merecer estudos complementares para confirmar ou não esses achados. A presença de variáveis com colinearidade, pode dificultar obter maior precisão em análises com muitas variáveis como o atual.

6.4. Polimorfismos genéticos e suas possíveis associações com alterações na função pulmonar em indivíduos com silicose

A lesão de DNA em células pulmonares de trabalhadores expostos à sílica tem sido demonstrada e parece ter papel na maior suscetibilidade destes indivíduos a desenvolverem câncer de pulmão e outras comorbidades, com efeito potencializado pelo tabagismo, que é mais prevalente entre trabalhadores de indústrias (121). Além do maior risco de lesões genéticas pela liberação de radicais livres de oxigênio e nitrogênio causada pela sílica, indivíduos expostos podem apresentar polimorfismos genéticos que predispõem a maior risco de silicose e maior gravidade, expressa por severidade radiológica (lesões mais profundas, com grandes opacidades e distorção da arquitetura pulmonar) e pior função pulmonar (36,56,122,123).

O presente estudo avaliou dois polimorfismos de Variação do Número de Cópias Gênicas (*Copy Number Variations* - CNV): *GSTT1* e *GSTM1*; e cinco Polimorfismos de Nucleotídeo Único (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNP), *XRCC1* – 194, *XRCC1* – 399, *XRCC3*, *XPD* e *GSTP1*. Foi evidenciado nos indivíduos com silicose que apenas os indivíduos heterozigotos e homozigotos polimórficos para o gene *GSTP1* tiveram associação com a função pulmonar, sendo sua presença protetiva para menor relação VEF_1/CVF com relação aos indivíduos homozigotos selvagens. O gene *GST*, que codifica ARN para as enzimas da família das glutathiona-S-transferases, são responsáveis pelo processo de detoxicação do organismo e importantes nas defesas pulmonares por evitarem a ocorrência de estresse oxidativo. A deficiência desta enzima está associada a pior função pulmonar em crianças, pessoas tabagistas e com doenças respiratórias (124). O subtipo *GSTP1*, abundante no epitélio pulmonar,

participa de reações químicas que protegem o macrófago alveolar e também parece ter participação na inibição de síntese de citocinas. Estudos encontraram que esse polimorfismo foi associado a risco aumentado para silicose em heterozigotos (OR=1,9; IC95%: 1,2-3,1) e homozigotos polimórficos (OR= 7,3; IC95%: 1,7-31,1) para este gene (122,125).

Os resultados obtidos no presente estudo não mostraram diferenças significativas das frequências dos genes entre os grupos não exposto, exposto sem silicose e com silicose, porém, ao comparar apenas os grupos expostos, com e sem silicose, a prevalência três vezes mais frequente da homozigose do gene polimórfico *XRCC3* nos indivíduos com silicose pode sugerir uma suscetibilidade maior entre os expostos para desenvolver a doença, o que demandaria a confirmação de outros estudos, especialmente em coortes de trabalhadores expostos (Anexo 23). A distribuição de frequência de polimorfismos de SNPs em genes responsáveis pela produção de citocinas envolvidas na regulação de processos inflamatórios e fibróticos pulmonares (interleucina-1, interleucina-6, fator de necrose tumoral- α , fator de crescimento transformador- β , fator de crescimento endotelial vascular, molécula de adesão intercelular-1, e metaloproteinase-2) foi investigada em um estudo com uma população de mineiros de carvão com e sem Fibrose Maciça Progressiva, porém, nenhum destes polimorfismos teve um efeito estatisticamente significativo sobre a doença quando estudado individualmente ou em pares (123). Sabe-se que as variantes genéticas com SNPs contribuem apenas com uma pequena fração para o risco geral de doença, que é multifatorial, portanto não é inesperado que, no presente estudo, não tenham alcançado significância. É também provável que a suscetibilidade genética seja dependente da interação de polimorfismos de múltiplos genes atuando concomitantemente à exposição (122).

Outro fator a ser considerado é que variações genéticas significativamente associadas à silicose não têm ainda efeitos funcionais bem estabelecidos e até o momento não foi possível estabelecer um risco aumentado de silicose em expostos com a presença de determinados polimorfismos. Para maior representatividade da população geral são necessárias grandes amostras populacionais, pois existe o efeito das diferentes etnias sobre a expressão de doenças (122). A ação do ambiente deve ser caracterizada detalhadamente e todas as possibilidades de exposições devem ser consideradas, fator limitado

em nosso estudo. Diferenças interindividuais na expressão de genes selecionados podem influenciar a progressão e gravidade da doença, agindo como modificadores de doenças, isoladamente ou em certas combinações de genótipos, na presença de outros fatores genéticos ou ambientais (123).

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O estudo apresenta um possível viés pelo fato do grupo de expostos sem silicose ter tido mais de 80% dos participantes incluídos a partir de uma única empresa de fundição, diferente do grupo com silicose, que apresentou uma distribuição mais variada dos ramos e de atividades ocupacionais. A opção de um grupo de expostos em uma fundição decorreu da dificuldade de avaliar pessoas trabalhando e expostas pelas limitações para se ausentarem do trabalho, sem doença estabelecida. Esse grupo foi possível numa cooperação que envolveu a Superintendência Regional do Trabalho de São Paulo na época.

Outro aspecto refere-se a que o número de participantes no grupo com silicose e no grupo controle, sem exposição à sílica, podem ter sido insuficientes para observar ou confirmar possíveis diferenças. Tal fato decorreu do início da pandemia em março de 2020 com o recrutamento de novos participantes inviável.

Um terceiro aspecto a comentar é sobre o índice de exposição utilizado neste estudo, que levou em conta, além do tempo de trabalho, a percepção subjetiva do trabalhador da concentração de poeira no ambiente de trabalho. A informação dos trabalhadores quanto a exposições antigas, embora de valor indispensável na história ocupacional, traz a possibilidade de viés de memória e comprometimento da estimativa quantitativa da exposição. Entretanto, dificuldades para classificar a graduação de exposições com instrumentos de avaliação por critérios subjetivos foram relatadas também por outros autores (126).

8. CONCLUSÕES

Indivíduos com exposição à sílica com silicose apresentaram maior prevalência de sintomas respiratórios, de antecedentes de infecções respiratórias, de hipertensão arterial sistêmica e pior desempenho ao exercício. Os marcadores com melhor acurácia diagnóstica para silicose foram LDH e

sTNFRII. O Marcador hematológico PLR, marcadores inflamatórios (LDH, sTNFRII e MIP-4) e escore de dispneia Borg ao exercício também se associaram a maior OR para presença de silicose, sendo LDH e sTNFRII também associados a presença de grandes opacidades. Os marcadores associados a maiores OR para pior função pulmonar em expostos à sílica, com e sem silicose, foram MCP-1, razão neutrófilo/linfócitos (NLR), LDH, sTNFRII, fibrinogênio, sVCAM-1 e o escore de dispneia Borg ao exercício. O polimorfismo *GSTP1* foi preditor de melhor função pulmonar na silicose.

Estes dados sugerem que a pesquisa de sintomas respiratórios e os marcadores inflamatórios estudados que se revelaram significativos possam ser avaliados em trabalhadores expostos à sílica, a fim de rastrear a doença na fase subclínica bem como sua evolução clínica e radiológica, reduzindo assim seu impacto na morbimortalidade.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Craighead JE, Kleinerman J, Abraham JL, Gibbs AR, Green FHY, Harvey RA, et al. Diseases Associated with Exposure to Silica and Nonfibrous Silicate Minerals. *Arch Pathol Lab Med.* 1988;112:673-720.
2. Corn JK. Historical Aspects of Industrial Hygiene — II. Silicosis. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1980;41(2):125–33.
3. Shi P, Xing X, Xi S, Jing H, Yuan J, Fu Z, et al. Trends in global, regional and national incidence of pneumoconiosis caused by different aetiologies: An analysis from the Global Burden of Disease Study 2017. *Occup Environ Med.* 2020;77(6):407–14.
4. Castranova V, Vallyathan V. Silicosis and coal workers' pneumoconiosis. *Environ Health Perspect.* 2000;108(Supl 4):675–84.
5. Leung CC, Yu ITS, Chen W. Silicosis. *Lancet.* 2012;379:2008–18.
6. NIOSH. Health Effects of Occupational Exposure to Respirable Crystalline Silica. *NIOSH Hazard Rev.* 2002;
7. Brown T. Silica exposure, smoking, silicosis and lung cancer-complex interactions. *Occup Med (Chic Ill).* 2009;59(2):89–95.
8. James SL, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 Diseases and Injuries for 195 countries and territories,

- 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392:1789–858.
9. Roth GA, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392:1736–88.
 10. Stanaway JD, Afshin A, Gakidou E, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2018;392:1923–94.
 11. WHO. The Global Occupational Health Network: Elimination of silicosis. Newsletter, WHO. 2007;
 12. Ribeiro FSN. O mapa da exposição à sílica no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2010. p. 1–94.
 13. Algranti E, Saito CA, Carneiro APS, Bussacos MA. Mortality from silicosis in Brazil: Temporal trends in the period 1980–2017. *Am J Ind Med*. 2021;64(3):178–84.
 14. FUNDACENTRO. Programa Nacional para Eliminação da Silicose (PNES) [Internet]. 2002 [cited 2019 Jul 4]. Available from: <http://www.fundacentro.gov.br/silica-e-silicose/pnes>
 15. Greenberg MI, Waksman J, Curtis J. Silicosis: A Review. *Disease-a-Month*. 2007;53:394–416.
 16. Bagchi N. What makes silica toxic? *Br J Ind Med*. 1992;49:163–6.
 17. Tripathi SS, Pandey HP, Paul B. Overview of cytokines and receptors in silicosis. *J Appl Pharm Sci*. 2011;1(05):1–5.
 18. Mossman BT, Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(5 PART I):1666–80.
 19. Bacchus L, Shah RD, Chung JH, et al. ACR appropriateness Criteria® occupational lung diseases. *J Thorac Imaging*. 2016;31(1):W1–3.
 20. Bégin R, Ostiguy G, Fillion R, et al. Computed Tomography Scan in the Early Detection of Silicosis. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144:697–705.
 21. Kambouchner M, Bernaudin JF. The pathologist's view of silicosis in 1930 and in 2015. The Johannesburg Conference legacy. *Am J Ind Med*.

- 2015;11(1):1–8.
22. Gamble JF, Hessel PA, Nicolich M. Relationship between silicosis and lung function. *Scand J Work Environ Heal*. 2004;30(1):5–20.
 23. Rosenman KD, Reilly MJ, Gardiner J. Results of spirometry among individuals in a silicosis registry. *J Occup Environ Med*. 2010;52(12):1173–8.
 24. Ross J, Ehrlich RI, Hnizdo E, White N, Churchyard GJ. Excess lung function decline in gold miners following pulmonary tuberculosis. *Thorax*. 2010;65:1010–5.
 25. Ehrlich RI, Myers JE, Te Water Naude JM, Thompson ML, Churchyard GJ. Lung function loss in relation to silica dust exposure in South African gold miners. *Occup Environ Med*. 2011;68(2):96–101.
 26. Hnizdo E, Vallyathan V. Chronic obstructive pulmonary disease due to occupational exposure to silica dust: A review of epidemiological and pathological evidence. *Occup Environ Med*. 2003;60(4):237–43.
 27. Hessel PA, Gamble JF, Nicolich M. Relationship between silicosis and smoking. *Scand J Work Environ Heal*. 2003;29(5):329–36.
 28. Austin EK, James C, Tessier J. Early detection methods for silicosis in australia and internationally: A review of the literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(15).
 29. Pandey J, Agarwal D. Biomarkers: A potential prognostic tool for silicosis. *Indian J Occup Environ Med*. 2013;16:101–7.
 30. Yucesoy B, Luster MI. Genetic susceptibility in pneumoconiosis. *Toxicol Lett*. 2007;168(3):249–54.
 31. Higashimoto Y, Iwata T, Okada M, Satoh H, Fukuda K, Tohda Y. Serum biomarkers as predictors of lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2009;103(8):1231–8.
 32. Rasmussen F, Mikkelsen D, Hancox RJ, Lambrechtsen J, Nybo M, Hansen HS, et al. High-sensitive C-reactive protein is associated with reduced lung function in young adults. *Eur Respir J*. 2009;33(2):382–8.
 33. Fang SC, Zhang HT, Wang CY, et al. Serum CA125 and NSE: Biomarkers of disease severity in patients with silicosis. *Clin Chim Acta*. 2014;433:123–7.
 34. Peruzzi CP, Brucker N, Bubols G, Cestonaro L, Moreira R, Domingues D,

- et al. Occupational exposure to crystalline silica and peripheral biomarkers: An update. *J Appl Toxicol*. 2021;(March):1–16.
35. Amorim LCA. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais Biomarkers for evaluating exposure. *Rev Bras Epidemiol*. 2003;6(2):158–70.
 36. Gulumian M, Borm PJA, Vallyathan V, Castranova V, Donaldson K, Nelson G, et al. Mechanistically identified suitable biomarkers of exposure, effect, and susceptibility for silicosis and coal-worker's pneumoconiosis: A comprehensive review. *J Toxicol Environ Heal - Part B Crit Rev*. 2006;9(5):357–95.
 37. Weng S, Wang L, Rong Y, Liu Y, Wang X, Guan H, et al. Effects of the interactions between dust exposure and genetic polymorphisms in Nalp3, Caspase-1, and IL-1 β on the risk of silicosis: A case-control study. *PLoS One*. 2015;10(10):1–11.
 38. Fireman E, Greif J, Schwarz Y, Man A, Ganor E, Ribak J, et al. Assessment of hazardous dust exposure by BAL and induced sputum. *Chest*. 1999;115(6):1720–8.
 39. Prince P, Boulay ME, Page N, et al. Induced sputum markers of fibrosis and decline in pulmonary function in asbestosis and silicosis: A pilot study. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008;12(7):813–9.
 40. Sato T, Saito Y, Inoue S, Shimosato T, Takagi S, Kaneko T, et al. Serum heme oxygenase-1 as a marker of lung function decline in patients with chronic silicosis. *J Occup Environ Med*. 2012;54(12):1461–6.
 41. Zou J, Du Prel Carroll X, Liang X, et al. Alterations of serum biomarkers associated with lung ventilation function impairment in coal Workers: A cross-sectional study. *Environ Heal A Glob Access Sci Source*. 2011;10(83):1–8.
 42. Naveed B, Weiden MD, Kwon S, Gracely EJ, Comfort AL, Ferrier N, et al. Metabolic syndrome biomarkers predict lung function impairment: A nested case-control study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(4):392–9.
 43. Nolan A, Naveed B, Comfort AL, Ferrier N, Hall CB, Kwon S, et al. Inflammatory biomarkers predict airflow obstruction after exposure to World Trade Center dust. *Chest*. 2012;142(2):412–8.
 44. Weiden MD, Naveed B, Kwon S, et al. Cardiovascular biomarkers predict

- susceptibility to lung injury in World Trade Center dust-exposed firefighters. *Eur Respir J*. 2013;41(5):1023–30.
45. Nardi J, Nascimento S, Göethel G, et al. Inflammatory and oxidative stress parameters as potential early biomarkers for silicosis. *Clin Chim Acta*. 2018;484:305–13.
 46. Braz NFT, Carneiro APS, Amorim MR, et al. Association between inflammatory biomarkers in plasma, radiological severity, and duration of exposure in patients with silicosis. *J Occup Environ Med*. 2014;56(5):493–7.
 47. Braz NFT, Carneiro APS, De Avelar NCP, et al. Influence of cytokines and soluble receptors in the quality of life and functional capacity of workers exposed to silica. *J Occup Environ Med*. 2016;58(3):272–6.
 48. Gunduzoz M, Kar Kurt Ö, Nadir Ozis T, et al. Elevated neutrophil lymphocyte ratio and T4 levels can be predisposing factors for silicosis. *Eur Respir J*. 2016;48:PA4282.
 49. Oțelea MR, Andrei N, Moise L-G. The significance of the neutrophil to lymphocyte ratio in silicosis. *J Contemp Clin Pract*. 2018;4(2):53–9.
 50. Zhou X, Du Y, Huang Z, Xu J, Qiu T, Wang J, et al. Prognostic value of PLR in various cancers: A meta-analysis. *PLoS One*. 2014;97(2):1–4.
 51. He LG, Wu PF, Peng YH, et al. Modified Glasgow Prognostic Score, and Neutrophil/lymphocyte and Platelet/lymphocyte Ratios in Different Stages of Silicosis. *Biomed Environ Sci*. 2019;32(5):376–9.
 52. Wang YW, Lan JY, Yang LY, Kuang J, Wang De J. TNF- α and IL-1RA polymorphisms and silicosis susceptibility in chinese workers exposed to silica particles: A case-control study. *Biomed Environ Sci*. 2012;2(11):1076–84.
 53. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel DP, Sharp DS, Weston A, Burleson GR, et al. Association of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 gene polymorphisms with silicosis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001;172(1):75–82.
 54. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel DP, Simeonova P, Luster MI. Cytokine polymorphisms in silicosis and other pneumoconioses. *Mol Cell Biochem*. 2002;234–235(1–2):219–24.
 55. Dogan H, Akgun M, Araz O, Ucar EY, Yoruk O, Diyarbakir E, et al. The association of human leukocyte antigen polymorphisms with disease

- severity and latency period in patients with silicosis. *Multidiscip Respir Med*. 2014;9(1):17.
56. Hassani E, Bagheri M, Rad IA, Mohebbi I. Association between SNPs at IL-17A and IL-17F and susceptibility to accelerated silicosis. *Toxicol Ind Health*. 2017;33(9):673–80.
 57. Filho MT, De U, Santos P. Silicosis. *J Bras Pneumol*. 2006;32(Suppl 2):S41-7.
 58. Barboza CEG, Winter DH, Seiscento M, Santos U de P, Terra Filho M. Tuberculose e silicose: epidemiologia, diagnóstico e quimioprofilaxia. *J Bras Pneumol*. 2008;34(11):961–8.
 59. Ribeiro M, Angelini L, Robles-Ribeiro PG, et al. Validation of the Brazilian-Portuguese version of the European community respiratory health survey in asthma patients. *J Asthma*. 2007;44:371–5.
 60. Kovelis D, Segretti NO, Probst VS, et al. Validação do Modified Pulmonary Functional Status and Dyspnea Questionnaire e da escala do Medical Research Council para o uso em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica no Brasil. *J Bras Pneumol*. 2008;34(12):1008–18.
 61. Ferreira GP, Silva D, Aguiar MT, et al. Validação do Teste de Avaliação da DPOC em português para uso no Brasil* Portuguese-language version of the COPD Assessment Test: validation for use in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2013;39(4):402–8.
 62. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, et al. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J*. 2005;26(1):153–61.
 63. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26:319–38.
 64. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005;26:948–68.
 65. Pereira CA de C, Sato T, Rodrigues SC. New reference values for forced spirometry in white Brazilian adults. *J Bras Pneumol*. 2007;33(4):397–406.
 66. Firigato I, de Toledo Gonçalves F, De Antonio J, Alberto Curioni O, Rocha Silva M, Jorge Fígaro Gattás G. How many copies of GSTM1 and GSTT1 are associated with head and neck cancer risk? *Biomarkers*. 2018;24(3):262–7.
 67. Oakley A. Glutathione transferases: A structural perspective. *Drug Metab*

- Rev. 2011;43(2):138–51.
68. Board PG, Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2013;1830(5):3267–88.
 69. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, MacIntyre NR, McKay RT, et al. ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:111–7.
 70. Borg GAV. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sport Exerc.* 1982;14(5):377–81.
 71. Dados e números da prevalência do tabagismo - Observatório da Política Nacional de Controle do Tabaco | INCA - Instituto Nacional de Câncer [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-prevalencia-tabagismo>
 72. Wang D, Yang M, Liu Y, Ma J, Shi T, Chen W. Association of Silica Dust Exposure and Cigarette Smoking With Mortality Among Mine and Pottery Workers in China. *JAMA Netw open.* 2020;3(4):e202787.
 73. Jeyashree K, Kathirvel S, Shewade HD, Kaur H, Goel S. Smoking cessation interventions for pulmonary tuberculosis treatment outcomes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;2014(5).
 74. Fan Y, Xu W, Wang Y, Wang Y, Yu S, Ye Q. Association of occupational dust exposure with combined chronic obstructive pulmonary disease and pneumoconiosis: A cross-sectional study in China. *BMJ Open.* 2020;10(9):1–10.
 75. Konečný P, Ehrlich R, Gulumian M, Jacobs M. Immunity to the dual threat of silica exposure and mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol.* 2019;9(3069):1–11.
 76. TeWaterNaude JM, Ehrlich RI, Churchyard GJ, Pemba L, Dekker K, Vermeis M, et al. Tuberculosis and silica exposure in South African gold miners. *Occup Environ Med.* 2006;63(3):187–92.
 77. Hoy RF, Chambers DC. Silica-related diseases in the modern world. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2020;75(11):2805–17.
 78. Wang XR, Christiani DC. Respiratory symptoms and functional status in workers exposed to silica, asbestos, and coal mine dusts. *J Occup Environ*

- Med. 2000;42(11):1076–84.
79. Koskinen H. Symptoms and clinical findings in patients with silicosis. *Scand J Work Environ Heal*. 1985;11(2):101–6.
 80. Wiles FJ, Baskind E, Hessel PA, et al. Lung function in silicosis. *Int Arch Occup Environ Health*. 1992;63(6):387–91.
 81. Irwig LM, Rocks P. Lung function and respiratory symptoms in silicotic and nonsilicotic gold miners. *Am Rev Respir Dis*. 1978;117(3):429–35.
 82. Churg A, Wright JL. Small-airway lesions in patients exposed to nonasbestos mineral dusts. *Hum Pathol*. 1983;14(8):688–93.
 83. Churg A, Wright JL, Wiggs B, et al. Small airways disease and mineral dust exposure. Prevalence, structure, and function. *Am Rev Respir Dis*. 1985;131(1):139–43.
 84. Agarwala A, Mehta A, Yang E, Parapid B. Older Adults and Hypertension: Beyond the 2017 Guideline for Prevention, Detection, Evaluation and Management of High Blood Pressure in Adults. *Am Coll Cardiol* [Internet]. 2020;1–13. Available from: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2020/02/26/06/24/older-adults-and-hypertension>
 85. Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Verbruggen A, Nemery B. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(9):1665–8.
 86. Zelko IN, Zhu J, Ritzenthaler JD, Roman J. Pulmonary hypertension and vascular remodeling in mice exposed to crystalline silica. *Respir Res*. 2016;17(1):1–14.
 87. Riediker M, Zink D, Kreyling W, Oberdörster G, Elder A, Graham U, et al. Particle toxicology and health - Where are we? *Part Fibre Toxicol*. 2019;16(1):1–33.
 88. Cowie RL. The influence of silicosis on deteriorating lung function in gold miners. *Chest*. 1998 Feb;113(2):340–3.
 89. Ng TP, Chan SL. Lung function in relation to silicosis and silica exposure in granite workers. *Eur Respir J*. 1992;5(8):986–91.
 90. Ulvestad B, Ulvestad M, Skaugset NP, Aaløkken TM, Günther A, Clemm T, et al. Pulmonary function and high-resolution computed tomography in outdoor rock drillers exposed to crystalline silica. *Occup Environ Med*.

- 2020;77(9):611–6.
91. Leung CC, Chang KC, Law WS, et al. Determinants of spirometric abnormalities among silicotic patients in Hong Kong. *Occup Med (Chic Ill)*. 2005;55(6):490–3.
 92. Tjoe-Nij E, De Meer G, Smit J, et al. Lung function decrease in relation to pneumoconiosis and exposure to quartz-containing dust in construction workers. *Am J Ind Med*. 2003;43(6):574–83.
 93. Ochmann U, Kotschy-Lang N, Raab W, Kellberger J, Nowak D, Jörres RA. Is an individual prediction of maximal work rate by 6-minute walk distance and further measurements reliable in male patients with different lung diseases? *Respiration*. 2013;86(5):384–92.
 94. Blanco Pérez JJ, Arnalich Montiel V, Salgado-Barreira Á, Alvarez Moure MA, Caldera Díaz AC, Cerdeira Dominguez L, et al. The 6-Minute Walk Test as a Tool for Determining Exercise Capacity and Prognosis in Patients with Silicosis. *Arch Bronconeumol*. 2019;55(2):88–92.
 95. Chao TP, Sperandio EF, Ostolin TLVP, Almeida VR, Romiti M, Gagliardi ART, et al. Use of cardiopulmonary exercise testing to assess early ventilatory changes related to occupational particulate matter. *Brazilian J Med Biol Res*. 2018;51(5):1–8.
 96. Ding M, Chen F, Shi X, Yucesoy B, Mossman B, Vallyathan V. Diseases caused by silica: Mechanisms of injury and disease development. *Int Immunopharmacol*. 2002;2(2–3):173–82.
 97. Pollard KM. Silica, silicosis, and autoimmunity. *Front Immunol*. 2016;7(97):1–7.
 98. Adamcakova J, Mokra D. New insights into pathomechanisms and treatment possibilities for lung silicosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
 99. Subra JF, Renier G, Reboul P, Tollis F, Boivinet R, Schwartz P, et al. Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 2001;126(3):540–4.
 100. Aikoh T, Tomokuni A, Matsukii T, Hyodoh F, Ueki H, Otsuki T, et al. Activation-induced cell death in human peripheral blood lymphocytes after stimulation with silicate in vitro. *Int J Oncol*. 1998;12(6):1355–9.
 101. Karataş M, Gündüzöz M, Öziş TN, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio as haematological indices of inflammatory

- response in ceramic workers' silicosis. *Clin Respir J*. 2019;13(3):159–65.
102. Deniz O, Gumus S, Ors F, et al. Serum lactate dehydrogenase levels significantly correlate with radiological extent of disease and spirometric values in patients with silicosis due to denim sandblasting. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(3):483–8.
103. Blanco-Pérez JJ, Blanco-Dorado S, Rodríguez-García J, et al. Serum levels of inflammatory mediators as prognostic biomarker in silica exposed workers. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–8.
104. Aggarwal B Das. Lactate dehydrogenase as a biomarker for silica exposure-induced toxicity in agate workers. *Occup Environ Med*. 2014;71(8):578–82.
105. Cobben NAM, Drent M, Schols AMWJ, et al. Serum lactate dehydrogenase and its isoenzyme pattern in ex-coalminers. *Respir Med*. 1997;91(10):616–23.
106. Zhicheng S, Zhiming Y, Lata A, et al. Serum angiotensin converting enzyme, ceruloplasmin, and lactic dehydrogenase in anthracosilicosis and anthracosilicotuberculosis. *Br J Ind Med*. 1986;43(9):642–3.
107. Drent M, Cobben NAM, Henderson RF, Wouters EFM, Van Dieijen-Visser M. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J*. 1996;9(8):1736–42.
108. Danesh J. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease. *N Engl J Med*. 2004;350(14):1387–97.
109. Pinto-Plata VM, Müllerova H, Toso JF, Feudjo-Tepie M, Soriano JB, Vessey RS, et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers. *Thorax*. 2006;61(1):23–8.
110. Varella PP V, Forte WCN. Citocinas : revisão. *Rev Bras Alerg e Imunopatol*. 2001;24(4):146–54.
111. Jiang PR, Cao Z, Qiu ZL, Pan JW, Zhang N, Wu YF. Plasma levels of TNF- α and MMP-9 in patients with silicosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(9):1716–20.
112. Liu X, Wei W, Liu Z, Song E, Lou J, Feng L, et al. Serum apolipoprotein A-I depletion is causative to silica nanoparticles-induced cardiovascular damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(44):1–11.

113. Haegens A, Vernooij JHJ, Heeringa P, Mossman BT, Wouters EFM. Myeloperoxidase modulates lung epithelial responses to pro-inflammatory agents. *Eur Respir J*. 2008;31(2):252–60.
114. Huaux F, Louahed J, Hudspith B, Meredith C, Delos M, Renauld J, et al. Role of Interleukin-10 in the Lung Response to Silica in Mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998;18(11):51–9.
115. Chen Y, Li C, Lu Y, Zhuang H, Gu W, Liu B, et al. IL-10-Producing CD1dhiCD5+ Regulatory B Cells May Play a Critical Role in Modulating Immune Homeostasis in Silicosis Patients. *Front Immunol*. 2017;8:1–10.
116. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;117(4):1162–72.
117. Cassel SL, Eisenbarth SC, Iyer SS, Sadler JJ, Colegio OR, Tephly LA, et al. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(26):9035–40.
118. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel DP, Sharp DS, Matheson J, Burleson F, et al. Polymorphisms of the IL-1 gene complex in coal miners with silicosis. *Am J Ind Med*. 2001;39(3):286–91.
119. Palomino DCT, Marti LC. Chemokines and immunity. *Einstein (Sao Paulo)*. 2015;13(3):469–73.
120. Kohan M, Puxeddu I, Reich R, Levi-Schaffer F, Berkman N. Eotaxin-2/CCL24 and eotaxin-3/CCL26 exert differential profibrogenic effects on human lung fibroblasts. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2010;104(1):66–72.
121. Başaran N, Shubair M, Ündeğer Ü, Kars A. Monitoring of DNA damage in foundry and pottery workers exposed to silica by the alkaline comet assay. *Am J Ind Med*. 2003;43(6):602–10.
122. Salum KCR, Castro MCS, Nani ÂSF, Kohlrausch FB. Is individual genetic susceptibility a link between silica exposure and development or severity of silicosis? A systematic review. *Inhal Toxicol*. 2020;32(9–10):375–87.
123. Yucesoy B, Johnson VJ, Kissling GE, Fluharty K, Kashon ML, Slaven J, et al. Genetic susceptibility to progressive massive fibrosis in coal miners. *Eur Respir J*. 2008;31(6):1177–82.
124. Imboden M, Downs SH, Senn O, Matyas G, Brändli O, Russi EW, et al. Glutathione S-transferase genotypes modify lung function decline in the general population: SAPALDIA cohort study. *Respir Res*. 2007;8(2):1–17.

125. Stanilova S, Miteva L, Prakova G. IL-12Bpro and GSTP1 polymorphisms in association with silicosis. *Tissue Antigens*. 2008;71(2):169–74.
126. Kauppinen T, Toikkanen J, Pukkala E. From cross-tabulations to multipurpose exposure information systems: A new job-exposure matrix. *Am J Ind Med*. 1998;33(4):409–17.
127. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
128. Emeville E, Broquère C, Brureau L, Ferdinand S, Blanchet P, Multigner L, et al. Copy number variation of GSTT1 and GSTM1 and the risk of prostate cancer in a Caribbean population of African descent. *PLoS One*. 2014;9(9):1–10.

10. Anexos

Anexo 10.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

.....

CEP:..... TELEFONE: (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:...../...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE:(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Biomarcadores associados a alterações na função pulmonar em pacientes com Silicose

2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ubiratan de Paula Santos¹ e PESQUISADORA EXECUTANTE: Elisa Maria Siqueira Lombardi²

CARGO/FUNÇÃO: ¹ Médico da Divisão de Pneumologia do Instituto do Coração-HCFMUSP; ² Médica
CREMESP: 120.397

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto do Coração (InCor)

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO RISCO BAIXO x RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 8 semestres

1. Convite para participação voluntária e objetivos

As informações deste termo de consentimento livre e esclarecido têm o objetivo de esclarecer a você, que é participante voluntário, o propósito deste estudo. É um estudo que tem

como objetivo avaliar fatores que podem provocar alterações na função dos pulmões das pessoas com silicose e em expostos à poeira de sílica mas sem silicose.

A Silicose é uma doença pulmonar que acomete indivíduos que respiram poeira com sílica (por exemplo: trabalhadores de pedreiras, fundições, marmorarias, mineradoras, etc). A sílica inalada pela respiração atinge os pulmões onde provoca uma inflamação que pode levar à silicose, que é uma fibrose, semelhante à uma cicatrização dos pulmões. Quando isto ocorre, pode prejudicar a capacidade dos pulmões de levar oxigênio do ar que respiramos para o sangue e a pessoa começa a ter falta de ar.

2. Relação e descrição dos procedimentos e desconfortos ou riscos com os exames

Para melhor estudar os fatores que podem alterar o funcionamento dos pulmões serão realizados os seguintes procedimentos:

2.1. Entrevista e exame clínico: Você será entrevistado por uma médica, para a coleta de informações sobre onde você trabalha e/ou trabalhou, sobre se você tem ou não sintomas e sobre doenças que tem ou teve. Em seguida, você será examinado pela mesma médica.

2.2. Exames complementares: Depois do exame médico você deverá fazer um exame de função pulmonar, um teste de caminhada com duração prevista de 6 minutos, radiografia e tomografia de tórax, e coleta de 20 ml de sangue e 15 ml de urina para análise de substâncias que medem a inflamação que pode estar ocorrendo nos seus pulmões.

a) Função pulmonar: A função pulmonar é um exame feito em equipamento chamado espirômetro, que vai medir a quantidade e velocidade com que o ar entra e sai dos pulmões durante a respiração normal e durante uma respiração forçada, em que você deverá encher o peito de ar o máximo que puder e soprar em um aparelho que fará as medidas automaticamente. Este exame será feito por uma técnica que tem experiência na realização do exame e acompanhado pela médica. Durante o exame você poderá ter tosse ou sentir um pouco de tontura pelo esforço de respirar

profundamente. **b) Teste de caminhada:** O teste de caminhada será realizado a partir das 14h. Para a realização do teste de caminhada de 6 minutos você será orientado a caminhar num corredor plano com 15 metros de extensão, durante 6 minutos, no passo que conseguir. Antes de começar a caminhada será medida sua pressão arterial, o nível de oxigenação do seu sangue com um aparelho automático fixado no dedo e você responderá perguntas sobre cansaço nas pernas e falta de ar. A seguir,

você começará a caminhada que deverá durar 6 minutos, ou poderá durar menos, caso você fique cansado antes ou caso a médica resolva parar o teste. Este teste mede a sua capacidade de fazer exercício. É um teste simples e com riscos mínimos. Você poderá ficar cansado, ter tosse e, eventualmente, tonturas. **c) Exames de sangue e urina:** Para coleta de sangue você será submetido a uma punção com agulha e seringa descartáveis em veia do antebraço. A coleta será feita por técnico do laboratório do Instituto do Coração com experiência no procedimento. O sangue será analisado no laboratório do Instituto do Coração. Algumas pessoas, quando são submetidos à coleta de sangue, sentem tontura e suor frio, mas não existe risco para a sua

saúde. Para coleta de urina você receberá um pote coletor e será orientado pela técnica de laboratório do Incor. **d) Exames de imagem:** No mesmo dia ou em outro dia você virá ao Instituto do Coração para a realização de radiografia e de tomografia de tórax para avaliação das alterações dos pulmões provocadas pela silicose. Nestes exames você será exposto a radiação emitida pelos aparelhos, mais intensa no caso da tomografia. A exposição à radiação, se ocorrer em doses altas, aumenta o risco de câncer de pulmão. No caso, você fará apenas um exame, cujo risco de causar qualquer problema é desprezível.

3. Benefícios para o participante: Os resultados deste estudo poderão auxiliar na compreensão de fatores relacionados com piora da função do pulmão e na detecção de substâncias no sangue e urina, ou alterações na radiografia ou tomografia que podem estar ligadas a um pior funcionamento do pulmão, e ainda se algum fator identificado pode ajudar a prever se a pessoa com silicose pode ter uma piora da função pulmonar, permitindo providências para o afastamento da exposição mais cedo do que ocorre atualmente.

4. Esclarecimento de dúvidas: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra. Elisa Maria Siqueira Lombardi, que pode ser encontrada na Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, nº 44, Cerqueira

César, no telefone (11) 2661-5734. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

5. Garantias de liberdade e confidencialidade: Você terá garantia de liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Será também garantido o direito de confidencialidade, ou seja, as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Será garantido o seu direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas. Os pesquisadores têm o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

6. Despesas e compensação financeira: Não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação ou ressarcimento financeiro por eventuais complicações a não ser quando ocorrerem intercorrências clínicas após realização dos exames, quando será garantida assistência médica e realização de exames para tratamento destas eventualidades. Serão oferecidos café da manhã após coleta de sangue e almoço.

7. Pesquisas futuras: Pretendemos armazenar parte do material coletado (sangue) para necessidade e/ou oportunidade de pesquisas futuras. Caso surjam novos marcadores biológicos que julgemos pertinentes ao escopo do estudo e contarmos com recursos, as amostras armazenadas poderão ser utilizadas. Neste caso:

Há necessidade de consultá-lo para autorizar o uso deste material doado em outras pesquisas científicas?

(...) **SIM**. Eu quero ser consultado para autorizar o depósito, armazenamento e utilização do meu material biológico a cada pesquisa futura.

(...) **NÃO**. Eu dispensar a autorização futura para cada pesquisa e estou informado(a) que a Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq) irá examinar a nova pesquisa e decidir sobre a utilização ou não do material que estou doando sobre o tempo de armazenamento.

Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Biomarcadores associados a alterações na função pulmonar em pacientes com Silicose".

Eu discuti com a Dra. Elisa Maria Siqueira Lombardi e Dr. Ubiratan de Paula Santos sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha* Data ____/____/____

* para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

Anexo 10.2. Questionário a (ECHRS)

Questionários de sintomas respiratórios (ECHRS)

Para responder a estas questões, por favor, escolha a resposta apropriada e se você não estiver com certeza, por favor, responda “não”.

1. Você teve chiado ou aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?

Se a resposta for “não”, vá para a questão 2. Se “sim”

Não () Sim ()

1.1. Quando você teve chiado, sentiu falta de ar junto?

Não () Sim ()

1.2. Quando você teve falta de ar, sibilos (chiado no peito) estavam sempre presentes?

Não () Sim ()

1.3. Você teve chiado e sibilos (chiado no peito) mesmo quando não estava resfriado?

Não () Sim ()

2. Você acordou com a sensação de aperto no peito alguma vez nos últimos 12 meses?

Não () Sim ()

3. Você acordou por causa de uma crise de falta de ar nos últimos 12 meses?

Não () Sim ()

4. Você acordou por causa de uma crise de tosse nos últimos 12 meses?

Não () Sim ()

5. Você teve uma crise de asma nos últimos 12 meses?

Não () Sim ()

6. Você está usando no momento algum medicamento (incluindo inalações, bombinhas ou comprimidos) para asma?

Não () Sim ()

7. Você tem alguma alergia no nariz (rinite)?

Não () Sim ()

Anexo 10.3. Escala de dispneia *Medical Research Council* Modificado (MRCM)

Escala de dispneia MRCM

1. Tenho falta de ar ao realizar exercício intenso = 0
2. Tenho falta de ar quando apresso o meu passo, ou subo escadas ou ladeiras = 1
3. Preciso parar algumas vezes quando ando no meu passo, ou ando mais devagar que outras pessoas da minha idade = 2
4. Preciso parar muitas vezes devido à falta de ar quando ando perto de 100 metros, ou poucos minutos de caminhada no plano = 3
5. Sinto falta de ar que não saio de casa, ou preciso de ajuda para me vestir ou tomar banho sozinho = 4

Anexo 10.4. Questionário CAT (COPD Assesement Test)

Nome:

Data:

Questionário CAT (COPD Assesement Test)

Nunca tenho tosse	0	1	2	3	4	5	Tenho tosse o tempo todo	
Não tenho nenhum catarro	0	1	2	3	4	5	Meu peito está cheio de catarro	
Não sinto nenhuma pressão no peito	0	1	2	3	4	5	Sinto uma grande pressão no peito	
Não sinto falta de ar quando subo uma ladeira ou escada	0	1	2	3	4	5	Sinto muita falta de ar quando subo uma ladeira ou escada	
Não sinto nenhuma limitação em minhas atividades em casa	0	1	2	3	4	5	Sinto muita limitação em minhas atividades em casa	
Sinto-me confiante para sair de casa apesar da minha doença pulmonar	0	1	2	3	4	5	Não me sinto nada confiante para sair de casa devido a minha doença pulmonar	
Durmo profundamente pulmonar	0	1	2	3	4	5	Não durmo profundamente por causa da minha doença	
Tenho muita energia (disposição)	0	1	2	3	4	5	Não tenho nenhuma energia	

Total:

Anexo 10.5. Questionário sobre comorbidades, tabagismo, antecedentes ocupacionais e dados de exame clínico

Questionário

Sobre história de trabalho e hábitos de vida

Data da entrevista:...../...../.....Nº prontuário:.....

Nome:.....

Data de nascimento:/...../.....

Local de nascimento (Cidade/Estado):.....

Endereço residencial (Rua/Cidade/Estado):.....

Telefones:.....

Tabagismo

Nuca fumou (<100 cigarros na vida e não fuma atualmente) Fumante () Ex-Fumante ()

Se fumante ou ex-fumante:

Com que idade começou a fumar?.....

Com que idade parou de fumar?.....

Quantos cigarros fuma ou fumava por dia?.....

Fumava outros tipos de tabaco que não o cigarro? Não () Sim ()

Se sim, especificar tipo e quantidade.....

Convive com fumantes em ambiente fechado? Não() Sim()

Antecedentes sobre saúde

Comorbidades? Não(), sim(), se sim, qual (quais) ?

Uso de medicações? Não(), sim(), se sim, qual (quais) ?

Já foi submetido à radiografia de tórax? Não(), sim(), se sim, por qual motivo?.....

Tem ou teve doença pulmonar? Não(), Sim(), Qual?.....

Teve trauma torácico importante? Não(), Sim()

Antecedentes Ocupacionais

Relação empregos ordem cronológica	Período (anos)	Nome da Empresa	Ramo de atividade da empresa	Riscos

Nas atividades com risco de exposição a poeiras, gases ou fumaças:

a) Você utilizava equipamentos de proteção individual contra poeira? Não() sim(), se sim, de que tipo () PFF () filtro de carvão ativado () capuz com ar mandado

b) Havia equipamento de exaustão ou aspiração funcionando? Não() sim()

c) Você manipulava algum produto químico específico? Não() sim ()

Se sim, qual?.....

d) Informações complementares sobre atividades:

Exame Clínico

PA:.....FC.....SpO₂%.....FRrepouso.....Peso(kg):.....Altura (m).....

Raça/cor pele (preta, branca, parda, amarela)

Estado geral:.....

Cabeça e pescoço.....

Tórax

Abdome.....

MMII.....

COex:

Nome e assinatura do examinador

Anexo 10.6. Descrição dos métodos envolvidos na realização da pletismografia

- **Espirometria forçada:** realizadas as manobras de capacidade vital forçada utilizando sensor de fluxo (pneumotacógrafo) do tipo Pitot, de acordo com as recomendações técnicas padronizadas. Resumidamente, o indivíduo era acomodado em posição sentada, com peça bucal acoplada aos lábios e clipe nasal para evitar vazamento aéreo, solicitado a realizar algumas respirações tranquilas em volume corrente e em seguida uma inspiração máxima precedendo expiração máxima e rápida, mantendo o esforço durante tempo suficiente para esvaziamento completo dos pulmões (tipicamente com duração maior que 6 segundos e/ou com platô final de volume superior a 1 segundo). Durante a realização da manobra, o pneumotacógrafo fazia o registro do sinal de fluxo, permitindo a obtenção das curvas Fluxo x Volume e Volume x Tempo e a derivação dos parâmetros espirométricos (CVF, VEF1, etc)

- **Espirometria Lenta:** manobra similar a descrita, porém com a expiração lenta, partindo da inspiração máxima até a expiração máxima, sem utilização de esforço expiratório máximo.

- **Medidas de Volumes Pulmonares por Pletismografia:** paciente sentado no interior da cabine de pletismografia fechada, conectado ao circuito através de peça bucal e com narinas vedadas por clipe nasal, sustentando as bochechas com auxílio das mãos, era solicitado a realizar algumas manobras de respiração corrente que eram registradas pelo sensor de fluxo. Após obtida respiração estável, no momento do término da expiração, fecha-se o obturador e solicita-se ao paciente que faça uma respiração curta e rápida, com frequência respiratória entre 30 e 60 ciclos por minuto, contra o obturador fechado. Nesta condição, há variação do volume torácico, sem no entanto saída de ar pela abertura das vias aéreas, permitindo a obtenção do registro da variação de pressão das vias aéreas em função da variação de pressão do ar dentro do pletismógrafo. A inclinação desta curva era obtida, permitindo o cálculo da CRF, a partir da qual eram derivados os demais volumes pulmonares

- **Difusão:** foi realizada medida da difusão do monóxido de carbono (CO) utilizando a técnica de respiração única. A partir da expiração máxima (volume residual), o indivíduo era solicitado a fazer a inspiração de sua capacidade vital (até a CPT portanto), inalando uma mistura gasosa que continha CO 0,3% + Ne 0,5% (gás traçador, não difusível pela membrana alvéolo capilar), em seguida realizando retenção desta mistura gasosa no interior dos alvéolos por aproximadamente 10 segundos. Ao término deste intervalo, o paciente expira o gás dos pulmões, sendo coletada amostra do gás alveolar (após descarta volume do espaço morto), sendo determinadas as concentrações dos gases CO e Ne. Baseado nas diferenças de concentração entre ins e expiração para estes gases, é realizado cálculo da difusão.

Anexo 10.7. Métodos envolvidos desde a coleta até a análise de biomarcadores e polimorfismos genéticos

- **Marcadores sanguíneos inflamatórios e sistêmicos**

Na Divisão de Laboratório do InCor foram realizadas no mesmo dia das coletas as determinações de: Proteína C Reativa, lactato desidrogenase (DHL), ácido úrico, glicemia de jejum, creatinina, fibrinogênio, antígeno carcinoembrionário (CEA), hemograma completo, no parque de equipamentos do próprio laboratório. Foram armazenadas amostras de plasma e soro para determinações futuras, de todas as amostras em conjunto, dos marcadores: interleucina 10 (IL-10), interleucina 1-beta (IL-1 β), antagonista de receptor de interleucina 1 (IL1-ra), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), proteína quimiotática de eosinófilos 2 (eotaxina-2/CCL24), apolipoproteínas subtipos AI, AII, CII e CIII, metaloproteinase-9 (MMP-9), mieloperoxidase (MPO), proteína inflamatória de macrófagos-4 (MIP-4), Molécula de adesão celular vascular solúvel tipo 1 (sVCAM-1), receptor solúvel de TNF subtipos I (sTNFR I) e II (sTNFR II).

O ácido úrico foi determinado por ensaio in vitro pelo método URCA utilizado no sistema de química clínica Dimension® (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). O hemograma foi analisado em equipamentos de automação que realiza a análise de sangue para uso diagnóstico (modelo Sysmex XN 2000), análise quantitativa, identificação, análise percentual e sinalização por meio da impedância elétrica para eritrócitos e plaquetas, dispersão da luz do laser, Citometria de fluxo por Fluorescência (diferencial de leucócitos, reticulócitos e plaquetas fluorescente) e espectrofotometria utilizando laurilsulfato de sódio para hemoglobina. A creatinina foi quantificada por método colorimétrico CREA, utilizado no sistema de química clínica Dimension® (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, USA). O intervalo de referência é de 0.8-1.3 mg/dL para homens. Para as dosagens de proteína C reativa, o sangue foi colocado em tubo com gel separador. Após formação completa do coágulo, as centrifugadas foram quantificadas por meio de anticorpos monoclonais, pelo método de imunonefelometria em equipamento automatizado BN II Systems, utilizando o kit CARDIO PHASE hs CRP (Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Alemanha). O intervalo de referência é de < 1,0 mg/L para avaliação de risco de doença vascular e < 5,0 mg/L para avaliação de processos inflamatórios/infecciosos. A dosagem de DHL foi realizada pelo método LDI, que utiliza L-lactato tamponado a um pH de 9.4 como substrato pelo sistema químico Dimension, através do Cartucho de reagente LDI Flex®, Calibrador Dimension® Enzyme I. A dosagem de microalbuminúria será feita por reagente de diagnóstico in vitro para a determinação quantitativa por meio de imunonefelometria no Sistema Atellica® NEPH 630, Sistema BN II e Sistema BN ProSpec.

As análises de interleucinas e citocinas foram feitas no Laboratório de Análises Especiais, Laboratório de Investigação Médica 03 (LAE – LIM 03) - Departamento de Patologia do HC-FMUSP em equipamento Luminex. As amostras de plasma foram preparadas para análise em uma placa de 96 poços utilizando um kit Bio-plex Human Cytokine 27-plex Assay (Bio-rad, Hercules, Califórnia) e Milliplex MAP Human MMP Panel 2 (Millipore Corp., Billerica, MA) seguindo os protocolos específicos dos kits fornecidos pela Bio-rad e Millipore. Os analitos

foram quantificados utilizando um leitor de microesferas Magpix, que utiliza a tecnologia xMAP, perfil de múltiplos analitos, (Luminex Corp., Austin, TX) e o software xPONENT 4.2 (Luminex). A tecnologia xMAP utiliza microesferas magnéticas fluorescentes que são codificadas por cores e revestidas com anticorpos de captura específicos de analito, e podem dosar simultaneamente vários analitos em uma única amostra. Depois que as microesferas capturam os analitos, um anticorpo de detecção biotinizado se liga a esse complexo. A estreptavidina PE então se liga como uma molécula indicadora. Dentro do equipamento, as microesferas magnéticas são mantidas em uma monocamada por um ímã, onde dois LEDs são usados para excitar o corante ligado à microesfera, e o corante da molécula indicadora, respectivamente. Uma câmera CCD captura essas imagens, que são analisadas pelo software Milliplex Analyst (Millipore). As concentrações de citocinas (pg/ml) foram determinadas com base no ajuste de uma curva padrão para a intensidade média de fluorescência versus pg/ml. A análise de microalbuminúria foi realizada em aparelho Cobas c111 (ROCHE, Indianápolis, USA), pela metodologia de ensaio imunoturbidimétrico.

- **Análise de polimorfismos**

Esse estudo avaliou dois polimorfismos do tipo Copy Number Variations (CNV) e cinco do tipo Single Nucleotide Polymorphisms (SNP), descritos a seguir: *GSTT1* (CNV), *GSTM1* (CNV), *XRCC1* – 194 (SNP), *XRCC1* – 399 (SNP), *XRCC3* (SNP), *XPD* (SNP) e *GSTP1* (SNP). Os polimorfismos do tipo CNVs foram avaliados comparando-se frequências de indivíduos portadores de 0 cópias versus 1 cópia versus 2 ou mais cópias do gene. Além disso também foram comparados agrupando-se indivíduos com 0 ou 1 cópia versus 2 cópias.

Os polimorfismos do tipo SNPs foram avaliados nos seguintes modelos genéticos: - *Modelo Genótipos* (comparação da frequência dos homozigotos para o alelo selvagem versus heterozigotos versus homozigotos para o alelo polimórfico); - *Modelo Dominante* (comparação da frequência de homozigotos para o alelo selvagem versus de heterozigotos + homozigotos para o alelo polimórfico entre os grupos estudados), em que queremos avaliar se o alelo polimórfico possui efeito dominante e somente uma cópia é necessária para manifestação do fenótipo avaliado; - *Modelo Recessivo* (comparação da frequência de homozigotos para o alelo selvagem + heterozigotos versus de homozigotos para o alelo polimórfico entre os grupos estudados), em que queremos investigar se o alelo polimórfico é recessivo e são necessárias as duas cópias do alelo para manifestar o fenótipo.

As análises dos polimorfismos genéticos foram realizadas nas dependências do Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular do Departamento de Medicina Legal da FMUSP. Amostras de sangue periférico (5 ml) dos pacientes foram coletadas em tubos contendo EDTA. A extração do DNA foi realizada pelo processo de Salting-out, de acordo com o protocolo de Muller et al. (127) A determinação do número de cópias e discriminação dos genótipos de *GSTM1* e *GSTT1* foram realizadas, em triplicata, para toda nossa população amostral através da técnica de Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) com a utilização do ensaio *TaqMan Gene Copy Number Assay* (Applied Biosystems). (128) Cada gene foi

amplificado em reações de qPCR distintas em que seus respectivos pares de primers apresentavam região específica de anelamento à sonda marcada com a fluorescência 6-carboxyfluoresceine minor groove binder (6-FMA-MGB – ensaio Hs02595872_cn para *GSTM1* e ensaio Hs01731033_cn para *GSTT1*). Juntamente com a amplificação de *GSTM1* e *GSTT1* ocorreu a amplificação do gene de referência RNaseP. Os dados gerados foram analisados utilizando-se o software de análise CopyCaller versão 2.1 (Life Technologies) que usou o método de medida ΔCt (subtração entre o valor de Ct do gene alvo e do valor de Ct do gene referência) para a predição do número de cópias de *GSTM1* e *GSTT1*.

As análises da presença dos polimorfismos de base única (SNP) dos genes *GSTP1* (rs1695), *XRCC1-194* (rs1799782), *XRCC1-399* (rs25478) e *XPB* (rs13181) foram realizadas pela técnica da PCR quantitativa em Tempo Real (qPCR), com sondas marcadas com corantes fluorescentes (sistema TaqMan® - sondas VIC/FAM) na plataforma de instrumentação StepOnePlus™ (Applied Biosystems), conforme as recomendações do fabricante. Foram utilizados ensaios TaqMan SNP genotyping específicos (*GSTP1-C_3237198_20*; *XRCC1-194-C_11463404_10*; *XRCC1-399-C_622556_20* e *XPB-C_3145033_10*) comercializados pela empresa Thermo Fisher Scientific.

Anexo 10.8. Descrição das diferentes atividades referidas na avaliação dos participantes e respectivos escores de exposição à sílica

Atividade/Escore de exposição à sílica	Descrição
<p>Atividades com escore de exposição grau 0</p> <p><i>*fumos metálicos, de plástico ou borracha</i></p>	<p><i>Outras atividades sem exposição direta/indireta a fontes geradoras de sílica e com exposição a outras poeiras, fumaças ou fumos*</i> (trefilador e rebarbador de peças de borracha; soldador; técnico em manutenção de ar condicionado; mecânico de autos; almoxarife (indústrias sem exposição a sílica))</p> <p><i>Outras atividades sem exposição direta/indireta a fontes geradoras de sílica e sem exposição a outras poeiras, fumaças ou fumos*</i> (coordenação de manutenção de ar condicionado; manutenção de equipamentos hospitalares, bancários; repositor em mercado; carteiro; auxiliar/técnico de enfermagem/enfermeiro; processamento de dados; educador físico; psicólogo; assistente administrativo; fotógrafo; corte de tecidos (confecção); engenheiro eletricista; gerente de desenvolvimento; professor de música; auxiliar de escritório; auxiliar de laboratório; office boy; auxiliar de RH; representante comercial/eventos)</p>
<p>Atividades com escore de exposição grau 1</p> <p><i>*fumos metálicos, de plástico ou borracha</i></p>	<p>operário de construção civil; ajudante geral/produção; fabricação e manipulação de materiais de concreto/cimento; <i>Outras atividades com exposição secundária/indireta à sílica e com exposição a fumaças, fumos*</i>: vasador, operador de forno e fusão/indução; análise química de materiais (laboratório químico e areias); operador de caldeira; técnico metalurgista; pintor industrial; operador de cilindro, rebarbação e lixação de poliuretano (mantas jateadas com areia); <i>Outras atividades com exposição indireta a fontes geradoras de sílica e sem exposição a fumaças ou fumos*</i>: motorista; segurança; coordenação de logística; coordenador de controladoria de processos; projetista/analista dimensional; marcação de peças de porcelana; encanador; armador; técnico em manutenção elétrica; auxiliar de expedição; operador de empilhadeira; montagem de autopeças; inspetor de qualidade; almoxarife</p>
<p>Atividades com escore de exposição grau 2</p>	<p>marleteiro, operador de britadeira, de perfuratriz; marmorista, acabamento de pedras, corte e colocação de piso; rebarbação de peças fundidas em molde de areia; lapidação de pedras preciosas; ceramista; mecânico de manutenção/limpeza de máquinas de mistura de areia</p>
<p>Atividades com escore de exposição grau 3</p>	<p>operador de moinho/máquina de mistura de areia, carga e descarga areia, armazenamento-beneficiamento areia/pedras, moagem, pesagem, mistura, britagem, moldagem, ensacamento; operação de misturador em fábrica de borracha; manipulação/manutenção de tijolos refratários</p>
<p>Atividades com escore de exposição grau 4</p>	<p>jateador de areia; fabricação e manipulação de materiais de concreto/cimento; garimpeiro, minerador subterrâneo, cavador de poço</p>

Anexo 10.9. Correlação entre biomarcadores e variáveis de função pulmonar no grupo de controles expostos sem silicose (N=149)

Variáveis	CVF (%pred)			VEF1 (%pred)			VEF1/CVF			CPT (%pred)			VR/CPT (%pred)			DLco (%pred)		
	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p
Razão neutrófilos/linfócitos	148	-0,037	0,656	148	-0,052	0,528	148	0,029	0,724	148	-0,153	0,063	148	0,007	0,932	148	-0,205	0,012*
Razão plaquetas/linfócitos	148	0,016	0,849	148	0,013	0,874	148	-0,064	0,439	148	-0,023	0,785	148	0,031	0,704	148	-0,045	0,585
Razão linfócitos/monócitos	148	-0,094	0,257	148	-0,069	0,408	148	0,099	0,232	148	0,059	0,478	148	0,032	0,699	148	0,107	0,198
Lactato desidrogenase	148	-0,083	0,317	148	-0,074	0,373	148	0,023	0,778	148	0,013	0,871	148	0,188	0,022	148	-0,098	0,234
Proteína C reativa	148	-0,064	0,441	148	-0,05	0,546	148	-0,024	0,773	148	-0,054	0,512	148	0,066	0,422	148	-0,126	0,126
Fibrinogênio	148	-0,093	0,260	148	-0,068	0,409	148	-0,052	0,53	148	-0,025	0,766	148	0,071	0,391	148	-0,106	0,201
sTNFR1	147	-0,076	0,360	147	-0,069	0,403	147	0,008	0,927	147	-0,096	0,250	147	0,079	0,340	147	-0,215	0,009*
sTNFR2	147	-0,022	0,790	147	-0,044	0,594	147	-0,097	0,241	147	-0,042	0,615	147	0,09	0,279	147	-0,132	0,110
MIP-4	147	0,085	0,303	147	0,064	0,44	147	-0,034	0,683	147	0,163	0,048*	147	0,05	0,550	147	0,163	0,048*
IL-1ra	147	-0,096	0,248	147	-0,095	0,254	147	0,055	0,512	147	-0,111	0,179	147	-0,024	0,774	147	-0,136	0,101
TNF alfa	147	0,052	0,533	147	0,056	0,497	147	0,038	0,649	147	-0,04	0,628	147	-0,131	0,114	147	0,008	0,926
Eotaxina-2	147	-0,137	0,099	147	-0,019	0,822	147	0,019	0,818	147	-0,117	0,157	147	0,04	0,631	147	-0,065	0,437
Distância TC6M	148	0,128	0,121	148	0,086	0,301	148	0,035	0,669	148	0,097	0,240	148	-0,126	0,126	148	0,116	0,159

N: número de indivíduos; *p<0,05. *Correlação de Spearman.

Anexo 10.10. Correlação entre biomarcadores e variáveis de função pulmonar no grupo com silicose (N=97)

Variáveis	CVF (%pred)			VEF1 (%pred)			VEF1/CVF			CPT (%pred)			VR/CPT (%pred)			DLco (%pred)		
	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p
Neutrófilo/linfócito ratio	97	-0,322	0,001*	97	-0,324	0,001*	97	-0,23	0,023*	97	-0,13	0,204	97	0,288	0,004*	97	-0,364	<0,001*
Plaqueta/linfócito ratio	97	-0,04	0,699	97	-0,126	0,220	97	-0,155	0,130	97	0,09	0,381	97	0,048	0,643	97	-0,066	0,519
Linfócito/monócito ratio	97	0,33	0,001*	97	0,346	0,001*	97	0,257	0,011*	97	0,205	0,044*	97	-0,271	0,007*	97	0,417	<0,001*
Desidrogenase láctica	97	-0,44	<0,001*	97	-0,426	<0,001*	97	-0,182	0,075	97	-0,331	0,001*	97	0,307	0,002*	97	-0,518	<0,001*
Proteína C reativa	97	-0,337	0,001*	97	-0,395	<0,001*	97	-0,227	0,025*	97	-0,338	0,001*	97	0,258	0,011*	97	-0,468	<0,001*
Fibrinogênio	97	-0,321	0,001*	97	-0,356	<0,001*	97	-0,214	0,035*	97	-0,222	0,029*	97	0,327	0,001*	97	-0,378	<0,001*
sTNFR1	96	-0,253	0,013*	96	-0,196	0,056	96	-0,109	0,289	96	-0,181	0,077	96	0,304	0,003*	96	-0,451	<0,001*
sTNFR2	96	-0,37	<0,001*	96	-0,354	<0,001*	96	-0,198	0,053	96	-0,335	0,001*	96	0,298	0,003*	96	-0,573	<0,001*
MIP-4	96	0,074	0,474	96	0,089	0,386	96	0,049	0,632	96	0,134	0,194	96	0,034	0,743	96	0,031	0,763
IL-1ra	97	-0,406	<0,001*	97	-0,403	<0,001*	97	-0,209	0,040*	97	-0,229	0,024*	97	0,448	<0,001*	97	-0,421	<0,001*
TNF alfa	97	-0,33	0,001*	97	-0,314	0,002*	97	-0,131	0,200	97	-0,195	0,055	97	0,281	0,005*	97	-0,355	<0,001*
Eotaxina-2	97	-0,22	0,031*	97	-0,064	0,53	97	0,138	0,178	97	-0,135	0,188	97	0,127	0,215	97	-0,103	0,317
Distância TC6M	96	0,378	<0,001*	96	0,433	<0,001*	96	0,364	<0,001*	96	0,277	0,006*	96	-0,301	0,003*	96	0,421	<0,001*

N: número de indivíduos; *p<0,05. *Correlação de Spearman.

Anexo 10.11. Associação entre Tabagismo e as variáveis CVF, VEF1 e DLco (% pred) relacionadas à função pulmonar na amostra total de expostos (N:246).

Variáveis	Categorias	Nunca fumou (N=189)		Ex fumante (N=57)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CVF (%pred)	melhor função pulmonar	152	81,7	46	82,1	0,005	0,943
	pioir função pulmonar	34	18,3	10	17,9		
VEF1 (%pred)	melhor função pulmonar	138	73,8	37	66,1	1,276	0,259
	pioir função pulmonar	49	26,2	19	33,9		
DLco (%pred)	melhor função pulmonar	165	87,3	43	76,8	3,726	0,054
	pioir função pulmonar	24	12,7	13	23,2		

Nota: N: número de indivíduos; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito.

Teste de *Qui-Quadrado*

Anexo 10.12. Tempo e Intensidade da exposição e função pulmonar nos expostos à sílica (N=246).

Variáveis	CVF (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	198	16,76	8,59	17	1,5	44	44	16,03	11,44	13	0,4	35	4034,5	0,444
Graduação total de exposição	198	2,08	0,78	2	1	4	44	2,72	1,10	2,583	1	4	2954	0,001*

Variáveis	VEF ₁ (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	175	16,77	8,77	17	1,5	44	68	16,73	10,16	17	0,4	35	5828	0,804
Graduação total de exposição	175	2,07	0,73	2	1	4	68	2,48	1,12	2,059	1	4	4834,5	0,022*

Variáveis	DLco (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	208	17,2	8,8	17	1,5	44	37	14,2	10,9	10	0,4	37	2997,5	0,032*
Graduação total de exposição	208	2,0	0,7	2	1	4	37	3,1	1,1	4	1	4	1875,5	<0,001*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05; Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito. * teste *Mann Whitney*.

Anexo 10.13. Associação entre Tabagismo e função pulmonar em indivíduos com silicose (N=97).

Amostra pacientes com silicose (N=97)							
Variáveis	Categorias	Nunca fumou (N=68)		Ex fumante (N=29)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CVF (%pred)	melhor função pulmonar	41	61,2	20	69	0,528	0,468
	pioor função pulmonar	26	38,8	9	31		
VEF ₁ (%pred)	melhor função pulmonar	33	49,3	12	41,4	0,504	0,478
	pioor função pulmonar	34	50,7	17	58,6		
VEF ₁ /CVF (%pred)	melhor função pulmonar	15	22,1	7	24,1	0,05	0,823
	pioor função pulmonar	53	77,9	22	75,9		
DLco (%pred)	melhor função pulmonar	48	70,6	17	58,6	1,317	0,251
	pioor função pulmonar	20	29,4	12	41,4		

N: número de indivíduos; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito. * Teste de *Qui-Quadrado*

Anexo 10.14. Tempo e Intensidade da exposição e função pulmonar em indivíduos com silicose (N=97).

Variáveis	CVF (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	61	18,6	9,7	18	1,5	37	35	16,1	11,7	15	0,4	35	908	0,224
Graduação total de exposição	61	2,3	0,8	2	1	4	35	2,9	1,1	2,9	1	4	743	0,012*

Variáveis	VEF1 (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	45	19,83	10,02	20	1,5	37	51	16,07	10,81	15	0,4	35	901	0,070
Graduação total de exposição	45	2,22	0,73	2	1	4	51	2,74	1,12	2,5	1	4	837,5	0,021*

Variáveis	DLco (%pred)												U	p
	melhor função pulmonar						pior função pulmonar							
	N	Média	DP	Mediana	Min	Max	N	Média	DP	Mediana	Min	Max		
Tempo total de exposição (anos)	65	19,9	9,8	20	1,5	37	32	13,4	10,8	10	0,4	37	658,5	0,003*
Graduação total de exposição	65	2,1	0,7	2	1	4	32	3,2	1,1	4	1	4	440,5	<0,001*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05. Teste *Mann Whitney*.

Anexo 10.15. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, da Capacidade Vital Forçada (CVF), no total de expostos à sílica, G2+G3 (N=246).

CVF (%pred)	<u>melhor função pulmonar</u>						<u>pior função pulmonar</u>						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	198	2,0	0,9	1,871	0,6	7,6	44	2,8	1,4	2,611	0,9	7,2	2816,5	<0,001
Plaqueta/linfócito ratio	198	128,8	45,2	124,962	41,9	298,9	44	148,8	65,7	128,272	80,3	375,4	3669	0,102
Desidrogenase láctica	198	198,5	40,0	194,5	105	451	44	276,5	105,5	264,5	144	611	2175	<0,001*
Proteína C reativa	198	2,8	4,4	1,305	0,16	38,6	44	11,0	19,2	3,12	0,32	85,2	3107,5	0,003*
Fibrinogênio	198	301,7	63,0	295	150	544	44	351,7	102,7	325	184	621	2995	0,001*
sTNFR1	197	3153,0	1446,9	2897	147,56	10511	43	3909,7	2134,1	3598	29,46	12232	3030	0,003*
sTNFR2	197	13525,5	8863,0	10926	1455	56512	43	23558,9	16452,1	21370	586,87	72016	2601	<0,001*
IL-1ra	197	15,8	33,6	5,95	1,1	232,94	44	80,0	134,9	27,495	1,1	740,69	2336	<0,001*
TNF alfa	197	13,0	15,4	8,64	1,22	116,66	44	29,3	64,8	12,94	1,83	431,34	2871,5	<0,001*
Eotaxina-2	197	293,9	242,4	213,87	15,75	1623	44	364,5	201,7	330,27	59,73	909,58	3188	0,006*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05; Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito. Teste *Mann Whitney*.

Anexo 10.16. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, do VEF₁ no total de expostos à sílica, G2+G3 (N=246).

VEF ₁ (%pred)	<u>melhor função pulmonar</u>						<u>pior função pulmonar</u>						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	175	2,0	0,9	1,867	0,6	7,6	68	2,6	1,3	2,384	0,7	7,2	4341	0,001*
Plaqueta/linfócito ratio	175	125,9	40,1	123,7	50,8	266,2	68	148,5	67,0	132,207	41,9	375,4	4896	0,032*
Desidrogenase láctica	175	197,5	38,8	195	105	451	68	252,7	94,8	217	143	611	3809	<0,001*
Proteína C reativa	175	2,7	4,4	1,12	0,16	38,6	68	8,6	15,8	2,985	0,37	85,2	3661	<0,001*
Fibrinogênio	175	296,1	60,0	291	150	544	68	351,9	92,4	329,5	200	621	3642	<0,001*
sTNFR1 (pg/ml)	174	3108,3	1424,9	2850,5	147,56	10511	67	3771,4	1933,4	3521	29,46	12232	4323	0,002*
sTNFR2 (pg/ml)	174	12728,0	7645,2	10424,5	1455	45306	67	22017,8	15583,6	17237	586,87	72016	3574,5	<0,001*
IL-1ra (pg/ml)	174	15,1	32,4	5,95	1,1	221,52	68	59,1	114,3	14,37	1,68	740,69	3577,5	<0,001*
TNF alfa (pg/ml)	174	13,2	15,9	8,64	1,22	116,66	68	23,0	53,0	12,415	1,83	431,34	4563,5	0,006*
Eotaxina-2 (pg/ml)	174	281,9	212,4	213,32	16,31	1235	68	364,5	280,7	274,275	15,75	1623	4729,5	0,015*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05; Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito. Teste *Mann Whitney*.

Anexo 10.17. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, do DL_{CO} no total de expostos à sílica, G2+G3 (N=246).

DL _{CO} (%pred)	melhor função pulmonar						pior função pulmonar						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	208	2,0	0,9	1,836	0,6	7,6	37	3,2	1,3	3,001	1,4	7,2	1599	<0,001*
Plaqueta/linfócito ratio	208	127,8	46,0	123,258	41,9	375,4	37	157,1	62,7	142,468	76,3	359,8	2692	0,004*
Desidrogenase láctica	208	198,7	38,8	194,5	105	351	37	292,1	109,1	281	143	611	1489,5	<0,001*
Proteína C reativa	208	2,9	4,5	1,305	0,16	38,6	37	12,4	20,4	3,55	0,37	85,2	2274	<0,001*
Fibrinogênio	208	299,4	61,5	295	150	544	37	379,1	102,4	345	200	621	1856,5	<0,001*
sTNFR1 (pg/ml)	207	3053,9	1460,2	2804	29,46	10511	36	4593,8	1778,7	4444	2258	12232	1546,5	<0,001*
sTNFR2 (pg/ml)	207	12582,6	7427,2	10573	586,87	41563	36	30592,9	16132,0	29574	3103	72016	1151,5	<0,001*
IL-1ra (pg/ml)	207	16,4	32,9	6,12	1,1	221,52	37	88,1	146,2	28,53	1,78	740,69	1917	<0,001*
TNF alfa (pg/ml)	207	13,1	15,3	8,64	1,22	116,66	37	31,5	70,4	14,43	1,83	431,34	2316	<0,001*
Eotaxina-2 (pg/ml)	207	287,3	221,8	214,44	15,75	1235	37	406,4	285,4	317,2	79,36	1623	2562,5	0,001*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05. Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito. Teste de Mann-Whitney

Anexo 10.18. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, da CVF na amostra de pacientes com silicose, G3 (N=97).

CVF (%pred)	<u>melhor função pulmonar</u>						<u>pior função pulmonar</u>						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	61	2,2	1,0	2,071	0,6	6	35	3,0	1,4	2,999	0,9	7,2	695	0,005*
Plaqueta/linfócito ratio	61	146,7	53,9	140,71	41,9	298,9	35	157,4	70,1	142,468	81,6	375,4	1041	0,840
Desidrogenase láctica	61	214,5	55,8	207	115	451	35	301,7	103,2	285	148	611	435	<0,001*
Proteína C reativa	61	4,0	6,3	1,66	0,16	38,6	35	13,6	20,7	4,77	0,37	85,2	701	0,005*
Fibrinogênio	61	322,5	65,5	307	219	519	35	368,9	104,1	336	200	621	761	0,020*
sTNFR1 (pg/ml)	61	3481,1	1520,8	3335	147,56	8105	34	4012,3	2330,1	3677	29,46	12232	852	0,151
sTNFR2 (pg/ml)	61	19099,5	12207,7	14901	1455	56512	34	26640,9	17088,5	23698,5	586,87	72016	758	0,030*
IL-1ra (pg/ml)	61	20,3	35,1	8,9	1,1	232,94	35	85,4	146,1	28,53	1,68	740,69	614,5	0,001*
TNF alfa (pg/ml)	61	14,5	15,9	10,01	2,63	102,87	35	31,4	71,1	14,43	3,14	431,34	704	0,006*
Eotaxina-2 (pg/ml)	61	345,2	281,4	220,55	15,75	1623	35	387,3	201,3	382,94	59,73	909,58	847	0,093

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05. Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito.

Teste de Mann-Whitney

Anexo 10.19. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, do VEF₁ na amostra de pacientes com silicose, G3 (N=97).

VEF ₁ (%pred)	<u>melhor função pulmonar</u>						<u>pior função pulmonar</u>						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	45	2,2	1,0	2,035	0,6	6	51	2,9	1,4	2,667	0,9	7,2	805	0,012*
Plaqueta/linfócito ratio	45	139,4	42,0	136,442	66,4	246,8	51	160,4	71,5	143,213	41,9	375,4	1015	0,331
Desidrogenase láctica	45	216,9	55,0	209	115	451	51	273,3	100,6	257	143	611	745,5	0,003*
Proteína C reativa	45	3,8	6,9	1,41	0,28	38,6	51	10,9	17,7	4,02	0,37	85,2	712	0,001*
Fibrinogênio	45	314,5	52,2	306	229	441	51	366,7	99,6	345	200	621	763	0,005*
sTNFR1 (pg/ml)	45	3490,3	1544,9	3335	147,6	8105	50	3838,8	2097,7	3656,5	29,46	12232	990,5	0,316
sTNFR2 (pg/ml)	45	17804,5	10756,9	13127	1455	45306	50	25430,7	16476,1	21990,5	586,9	72016	810,5	0,019*
IL-1ra (pg/ml)	45	16,7	23,7	7,92	1,1	127,39	51	68,4	126,8	23,93	1,68	740,69	679	0,001*
TNF alfa (pg/ml)	45	13,4	12,3	9,17	2,63	76,08	51	27,2	60,4	12,94	3,14	431,34	816,5	0,015*
Eotaxina-2 (pg/ml)	45	330,2	210,0	255,9	16,31	885,68	51	381,1	288,1	306,85	15,75	1623	1051	0,479

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05. Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito.

Teste de Mann-Whitney

Anexo 10.20. Análises comparativas de biomarcadores, entre os grupos de melhor e pior valor, em % do predito, do DLco na amostra de pacientes com silicose, G3 (N=97).

DLco (%pred)	<u>melhor função pulmonar</u>						<u>pior função pulmonar</u>						U	p
	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx	N	Média	DP	Mediana	Min	Máx		
Neutrófilo/linfócito ratio	65	2,2	1,0	1,904	0,6	5,4	32	3,3	1,3	3,196	1,4	7,2	474	<0,001*
Plaqueta/linfócito ratio	65	144,7	56,9	130,661	41,9	375,4	32	163,0	64,7	148,091	81,6	359,8	868	0,187
Desidrogenase lática	65	217,2	50,8	209	115	351	32	305,2	111,8	284,5	143	611	494	<0,001*
Proteína C reativa	65	4,2	6,5	1,75	0,16	38,6	32	14,1	21,4	5,31	0,37	85,2	649,5	0,003*
Fibrinogênio	65	319,8	62,2	309	219	519	32	384,0	107,9	352,5	200	621	641,5	0,002*
sTNFR1 (pg/ml)	65	3115,6	1615,0	2897	29,46	8105	31	4800,7	1814,3	4566	2572	12232	421,5	<0,001*
sTNFR2 (pg/ml)	65	15847,9	10108,3	12649	586,87	41563	31	33882,1	14833,7	32822	7459	72016	317	<0,001*
IL-1ra (pg/ml)	65	18,6	26,8	9,17	1,1	135,7	32	94,8	152,8	30,8	3,14	740,7	523	<0,001*
TNF alfa (pg/ml)	65	13,2	11,6	9,44	2,63	76,08	32	35,5	75,0	17,275	3,01	431,34	565,5	<0,001*
Eotaxina-2 (pg/ml)	65	325,3	223,3	238,5	15,8	1106	32	428,0	298,7	411,9	79,4	1623	776	0,043*

N: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; Min: mínimo; Max: máximo; *p<0,05. Melhor função pulmonar: ≥80% valor predito; pior função pulmonar: < 80% valor predito.

Teste *Mann-Whitney*

Anexo 10.21. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e presença de silicose

Polimorfismos genéticos	Exposto sem silicose (N=149)		Silicose (N=97)		χ^2	p	p Fisher
	N	%	N	%			
CNV <i>GSTT1</i>							
0 cópias	26	18,3	19	20,2	2,993	0,224	0,217
1 cópia	79	55,6	42	44,7			
2 cópias ou mais	37	26,1	33	35,1			
CNV <i>GSTT1</i> agrupado							
0 ou 1 cópia	105	73,9	61	64,9	2,220	0,136	0,148
2 cópias ou mais	37	26,1	33	35,1			
CNV <i>GSTM1</i>							
0 cópias	50	35,2	36	38,3	0,401	0,818	0,821
1 cópia	67	47,2	44	46,8			
2 cópias	25	17,6	14	14,9			
CNV <i>GSTM1</i> agrupado							
0 ou 1 cópia	117	82,4	80	85,1	0,302	0,583	0,721
2 cópias	25	17,6	14	14,9			
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo genótipo							
Homozigoto selvagem	125	88	84	89,4	0,119	0,942	1,00 ^b
Heterozigoto	15	10,6	9	9,6			
Homozigoto polimórfico	2	1,4	1	1,1			
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante							
Homozigoto selvagem	125	88	84	89,4	0,099	0,753	0,836
Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	17	12	10	10,6			
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo							
					0,054	0,817	1,00 ^b

Homozigoto selvagem + heterozigoto	140	98,6	93	98,9			
Homozigoto polimórfico	2	1,4	1	1,1			
XRCC1 - 399 Modelo Genótipo							
Homozigoto selvagem	74	52,1	49	52,1	3,99	0,136	0,152
Heterozigoto	63	44,4	36	38,3			
Homozigoto polimórfico	5	3,5	9	9,6			
XRCC1 - 399 Modelo Dominante							
Homozigoto selvagem	74	52,1	49	52,1	0	0,998	1,00
Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	68	47,9	45	47,9			
XRCC1 - 399 Modelo Recessivo							
Homozigoto selvagem + heterozigoto	137	96,5	85	90,4	3,714	0,054	0,088
Homozigoto polimórfico	5	3,5	9	9,6			
XRCC3 Modelo Genótipo							
Homozigoto selvagem	80	56,3	47	50	6,054	0,048*	0,055
Heterozigoto	57	40,1	36	38,3			
Homozigoto polimórfico	5	3,5	11	11,7			
XRCC3 Modelo Dominante							
Homozigoto selvagem	80	56,3	47	50	0,914	0,339	0,353
Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	62	43,7	47	50			
XRCC3 Modelo Recessivo							
Homozigoto selvagem + heterozigoto	137	96,5	83	88,3	5,99	0,014*	0,018*
Homozigoto polimórfico	5	3,5	11	11,7			
XPD Modelo Genótipo							
Homozigoto selvagem	67	47,2	41	43,6	0,696	0,706	0,758
Heterozigoto	62	43,7	46	48,9			

Homozigoto polimórfico	13	9,2	7	7,4				
XPD Modelo Dominante								
Homozigoto selvagem	67	47,2	41	43,6	0,290	0,590	0,597	
Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	75	52,8	53	56,4				
XPD Modelo Recessivo								
Homozigoto selvagem + heterozigoto	129	90,8	87	92,6	0,213	0,645	0,812	
Homozigoto polimórfico	13	9,2	7	7,4				
GSTP1 Modelo Genótipo								
Homozigoto selvagem	56	39,4	40	42,6	0,254	0,881	0,890	
Heterozigoto	61	43	39	41,5				
Homozigoto polimórfico	25	17,6	15	16				
GSTP1 Modelo Dominante								
Homozigoto selvagem	56	39,4	40	42,6	0,228	0,633	0,685	
Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	86	60,6	54	57,4				
GSTP1 Modelo Recessivo								
Homozigoto selvagem + heterozigoto	117	82,4	79	84	0,109	0,741	0,860	
Homozigoto polimórfico	25	17,6	15	16				

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado; ^b: resultado do teste Exato de Fisher.

Anexo 10.22. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável CVF (%pred) na amostra total de expostos (N=246)

CVF (%pred) - Amostral total (N=246)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=198)		Pior função (N=44)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	32	17	12	27,3	4,197	0,123
	1 cópia	103	54,8	17	38,6		
	2 cópias ou mais	53	28,2	15	34,1		
CNV <i>GSTT1</i>	0 ou 1 cópia	135	71,8	29	65,9	0,599	0,439
	2 cópias ou mais	53	28,2	15	34,1		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	67	35,6	21	47,7	1,245	0,537
	1 cópia	87	46,3	5	11,4		
	2 cópias	34	18,1	44	100		
CNV <i>GSTM1</i>	0 ou 1 cópia	154	81,9	39	88,6	1,152	0,283
	2 cópias	34	18,1	5	11,4		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	163	86,7	42	95,5	2,777	0,295
	Heterozigoto	22	11,7	2	4,5		
	Homozigoto polimórfico	3	1,6	0	0		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	163	86,7	42	95,5	2,656	0,103
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	25	13,3	2	4,5		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	185	98,4	44	100	0,711	1,000
	Homozigoto polimórfico	3	1,6	0	0		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	97	51,6	24	54,5	6,556	0,036*
	Heterozigoto	83	44,1	14	31,8		
	Homozigoto polimórfico	8	4,3	6	13,6		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	97	51,6	24	54,5	0,124	0,724
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	91	48,4	20	45,5		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	180	95,7	38	86,4	5,534	0,019*
	Homozigoto polimórfico	8	4,3	6	13,6		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	100	53,2	27	61,4	1,949	0,384
	Heterozigoto	76	40,4	13	29,5		
	Homozigoto polimórfico	12	6,4	4	9,1		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	100	53,2	27	61,4	0,961	0,327
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	88	46,8	17	38,6		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	176	93,6	40	90,9	0,407	0,523
	Homozigoto polimórfico	12	6,4	4	9,1		
<i>XPD</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	88	46,8	19	43,2	0,77	0,680
	Heterozigoto	86	45,7	20	45,5		
	Homozigoto polimórfico	14	7,4	5	11,4		
<i>XPD</i> Modelo	Homozigoto selvagem	88	46,8	19	43,2		

Dominante	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	100	53,2	25	56,8	0,189	0,664
<i>XPD</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	174	92,6	39	88,6	0,728	0,394
	Homozigoto polimórfico	14	7,4	5	11,4		
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	75	39,9	17	38,6	0,4	0,819
	Heterozigoto	82	43,6	18	40,9		
	Homozigoto polimórfico	31	16,5	9	20,5		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	75	39,9	17	38,6	0,024	0,878
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	113	60,1	27	61,4		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	157	83,5	35	79,5	0,393	0,531
	Homozigoto polimórfico	31	16,5	9	20,5		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito

Anexo 10.23. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável VEF₁ (%pred) na amostra total de expostos (N=246)

VEF ₁ (%pred)- Amostral total (N=246)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=175)		Pior função (N=68)		χ ²	p
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	28	16,9	17	25,4	7,157	0,028*
	1 cópia	94	56,6	25	37,3		
	2 cópias ou mais	44	26,5	25	37,3		
CNV <i>GSTT1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	122	73,5	42	62,7	2,675	0,102
	2 cópias ou mais	44	26,5	25	37,3		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	60	36,1	26	38,8	0,163	0,922
	1 cópia	79	47,6	31	46,3		
	2 cópias	27	16,3	10	14,9		
CNV <i>GSTM1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	139	83,7	57	85,1	0,064	0,800
	2 cópias	27	16,3	10	14,9		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	144	86,7	62	92,5	2,127	0,345
	Heterozigoto	19	11,4	5	7,5		
	Homozigoto polimórfico	3	1,8	0	0		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	144	86,7	62	92,5	1,562	0,211
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	22	13,3	5	7,5		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	163	98,2	67	100	1,227	0,559
	Homozigoto polimórfico	3	1,8	0	0		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	91	54,8	31	46,3	6,174	0,045*
	Heterozigoto	69	41,6	28	41,8		
	Homozigoto polimórfico	6	3,6	8	11,9		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	91	54,8	31	46,3	1,399	0,237
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	75	45,2	36	53,7		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	160	96,4	59	88,1	5,859	0,015*
	Homozigoto polimórfico	6	3,6	8	11,9		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	90	54,2	37	55,2	4,35	0,117
	Heterozigoto	68	41	22	32,8		
	Homozigoto polimórfico	8	4,8	8	11,9		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	90	54,2	37	55,2	0,02	0,889
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	76	45,8	30	44,8		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	158	95,2	59	88,1	3,785	0,052
	Homozigoto polimórfico	8	4,8	8	11,9		
<i>XPD</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	83	50	23	34,3	5,06	0,080
	Heterozigoto	71	42,8	36	53,7		

	Homozigoto polimórfico	12	7,2	8	11,9		
<i>XPD</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	83	50	23	34,3	4,728	0,030*
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	83	50	44	65,7		
<i>XPD</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	154	92,8	59	88,1	1,35	0,245
	Homozigoto polimórfico	12	7,2	8	11,9		
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	63	38	30	44,8		
	Heterozigoto	73	44	27	40,3	0,983	0,612
	Homozigoto polimórfico	30	18,1	10	14,9		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	63	38	30	44,8	0,927	0,336
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	103	62	37	55,2		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	136	81,9	57	85,1	0,332	0,564
	Homozigoto polimórfico	30	18,1	10	14,9		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito

Anexo 10.24. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável DLco (%pred) na amostra total de expostos (N=246)

DLco (%pred) - Amostral total (N=246)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=208)		Pior função (N=37)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	36	18,2	9	24,3	3,278	0,194
	1 cópia	107	54	14	37,8		
	2 cópias ou mais	55	27,8	14	37,8		
CNV <i>GSTT1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	143	72,2	23	62,2	1,521	0,217
	2 cópias ou mais	55	27,8	14	37,8		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	69	34,8	17	45,9	2,962	0,227
	1 cópia	93	47	17	45,9		
	2 cópias	36	18,2	3	8,1		
CNV <i>GSTM1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	162	81,8	34	91,9	2,286	0,131
	2 cópias	36	18,2	3	8,1		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	176	88,9	32	86,5	0,735	0,692
	Heterozigoto	20	10,1	4	10,8		
	Homozigoto polimórfico	2	1	1	2,7		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	176	88,9	32	86,5	0,177	0,674
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	22	11,1	5	13,5		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	196	99	36	97,3	0,709	0,400
	Homozigoto polimórfico	2	1	1	2,7		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	102	51,5	21	56,8	0,959	0,619
	Heterozigoto	83	41,9	15	40,5		
	Homozigoto polimórfico	13	6,6	1	2,7		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	102	51,5	21	56,8	0,343	0,558
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	96	48,5	16	43,2		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	185	93,4	36	97,3	0,83	0,362
	Homozigoto polimórfico	13	6,6	1	2,7		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	104	52,5	23	62,2	1,169	0,557
	Heterozigoto	80	40,4	12	32,4		
	Homozigoto polimórfico	14	7,1	2	5,4		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	104	52,5	23	62,2	1,166	0,280
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	94	47,5	14	37,8		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	184	92,9	35	94,6	0,136	0,712
	Homozigoto polimórfico	14	7,1	2	5,4		
<i>XPD</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	94	47,5	13	35,1	1,942	0,379
	Heterozigoto	88	44,4	20	54,1		
	Homozigoto polimórfico	16	8,1	4	10,8		
<i>XPD</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	94	47,5	13	35,1	1,914	0,167
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	104	52,5	24	64,9		
<i>XPD</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	182	91,9	33	89,2		

Recessivo	Homozigoto polimórfico	16	8,1	4	10,8	0,298	0,585
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	76	38,4	19	51,4	3,388	0,184
	Heterozigoto	85	42,9	15	40,5		
	Homozigoto polimórfico	37	18,7	3	8,1		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	76	38,4	19	51,4	2,177	0,140
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	122	61,6	18	48,6		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	161	81,3	34	91,9	2,47	0,116
	Homozigoto polimórfico	37	18,7	3	8,1		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito

Anexo 10.25. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável CVF (%pred) na amostra com silicose (N=97)

CVF (%pred) - Amostral silicose (N=97)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=61)		Pior função (N=35)		χ^2	P
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	7	12,1	11	31,4	5,314	0,07
	1 cópia	28	48,3	14	40		
	2 cópias ou mais	23	39,7	10	28,6		
CNV <i>GSTT1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	35	60,3	25	71,4	1,171	0,279
	2 cópias ou mais	23	39,7	10	28,6		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	22	37,9	14	40	0,049	0,976
	1 cópia	27	46,6	16	45,7		
	2 cópias	9	15,5	5	14,3		
CNV <i>GSTM1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	49	84,5	30	85,7	0,026	0,872
	2 cópias	9	15,5	5	14,3		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	50	86,2	33	94,3	1,674	0,433
	Heterozigoto	7	12,1	2	5,7		
	Homozigoto polimórfico	1	1,7	0	0		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	50	86,2	33	94,3	1,485	0,223
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	8	13,8	2	5,7		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	57	98,3	35	100	0,61	1,000
	Homozigoto polimórfico	1	1,7	0	0		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	30	51,7	19	54,3	4,484	0,106
	Heterozigoto	25	43,1	10	28,6		
	Homozigoto polimórfico	3	5,2	6	17,1		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	30	51,7	19	54,3	0,057	0,811
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	28	48,3	16	45,7		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	55	94,8	29	82,9	3,578	0,059
	Homozigoto polimórfico	3	5,2	6	17,1		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	26	44,8	21	60	2,227	0,328
	Heterozigoto	25	43,1	10	28,6		
	Homozigoto polimórfico	7	12,1	4	11,4		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	26	44,8	21	60	2,01	0,156
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	32	55,2	14	40		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	51	87,9	31	88,6	0,009	0,926
	Homozigoto polimórfico	7	12,1	4	11,4		
<i>XPD</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	26	44,8	15	42,9	2,333	0,311
	Heterozigoto	30	51,7	16	45,7		
	Homozigoto polimórfico	2	3,4	4	11,4		
<i>XPD</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	26	44,8	15	42,9	0,034	0,853
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	32	55,2	20	57,1		

<i>XPD</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	56	96,6	31	88,6	2,303	0,129
	Homozigoto polimórfico	2	3,4	4	11,4		
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	22	37,9	17	48,6	1,015	0,602
	Heterozigoto	26	44,8	13	37,1		
	Homozigoto polimórfico	10	17,2	5	14,3		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	22	37,9	17	48,6	1,015	0,314
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	36	62,1	18	51,4		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	48	82,8	30	85,7	0,141	0,707
	Homozigoto polimórfico	10	17,2	5	14,3		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito

Anexo 10.26. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável VEF₁ (%pred) na amostra com silicose (N=97)

VEF ₁ (%pred) - Amostral silicose (N=97)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=45)		Pior função (N=51)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	6	14	13	26	2,559	0,278
	1 cópia	22	51,2	19	38		
	2 cópias ou mais	15	34,9	18	36		
CNV <i>GSTT1</i>	0 ou 1 cópia	28	65,1	32	64	0,013	0,911
	2 cópias ou mais	15	34,9	18	36		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	17	39,5	19	38	0,37	0,831
	1 cópia	21	48,8	23	46		
	2 cópias	5	11,6	8	16		
CNV <i>GSTM1</i>	0 ou 1 cópia	38	88,4	42	84	0,368	0,544
	2 cópias	5	11,6	8	16		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	37	86	46	92	1,569	,491b
	Heterozigoto	5	11,6	4	8		
	Homozigoto polimórfico	1	2,3	0	0		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	37	86	46	92	0,854	0,355
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	6	14	4	8		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	42	97,7	50	100	1,175	0,462
	Homozigoto polimórfico	1	2,3	0	0		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	23	53,5	25	50	2,348	0,309
	Heterozigoto	18	41,9	18	36		
	Homozigoto polimórfico	2	4,7	7	14		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	23	53,5	25	50	0,113	0,737
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	20	46,5	25	50		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	41	95,3	43	86	2,312	0,128
	Homozigoto polimórfico	2	4,7	7	14		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	20	46,5	27	54	3,523	0,172
	Heterozigoto	20	46,5	15	30		
	Homozigoto polimórfico	3	7	8	16		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	20	46,5	27	54	0,519	0,471
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	23	53,5	23	46		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	40	93	42	84	1,805	0,179
	Homozigoto polimórfico	3	7	8	16		
<i>XPB</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	22	51,2	18	36	4,251	0,119
	Heterozigoto	20	46,5	26	52		
	Homozigoto polimórfico	1	2,3	6	12		
<i>XPB</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	22	51,2	18	36	2,168	0,141
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	21	48,8	32	64		

<i>XPD</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	42	97,7	44	88	3,109	0,078
	Homozigoto polimórfico	1	2,3	6	12		
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	15	34,9	24	48	2,188	0,335
	Heterozigoto	19	44,2	20	40		
	Homozigoto polimórfico	9	20,9	6	12		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	15	34,9	24	48	1,633	0,201
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	28	65,1	26	52		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	34	79,1	44	88	1,363	0,243
	Homozigoto polimórfico	9	20,9	6	12		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito; pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito

Anexo 10.27. Resultado das associações entre os polimorfismos do estudo (nos diferentes modelos genéticos) e a variável DLco (%pred) na amostra com silicose (N=97)

DCLO (%pred) - Amostral total (N=97)							
Polimorfismos	Genótipos	Melhor função (N=65)		Pior função (N=32)		χ^2	p
		N	%	N	%		
CNV <i>GSTT1</i>	0 cópias	11	17,7	8	25	0,736	0,692
	1 cópia	29	46,8	13	40,6		
	2 cópias ou mais	22	35,5	11	34,4		
CNV <i>GSTT1</i> Modelo aditivo	0 ou 1 cópia	40	64,5	21	65,6	0,011	0,915
	2 cópias ou mais	22	35,5	11	34,4		
CNV <i>GSTM1</i>	0 cópias	22	35,5	14	43,8	1,369	0,504
	1 cópia	29	46,8	15	46,9		
	2 cópias	11	17,7	3	9,4		
CNV <i>GSTM1</i>	0 ou 1 cópia	51	82,3	29	90,6	1,166	0,28
	2 cópias	11	17,7	3	9,4		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	56	90,3	28	87,5	1,958	,518b
	Heterozigoto	6	9,7	3	9,4		
	Homozigoto polimórfico	0	0	1	3,1		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	56	90,3	28	87,5	0,177	0,674
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	6	9,7	4	12,5		
<i>XRCC1</i> - 194 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	62	100	31	96,9	1,958	0,340
	Homozigoto polimórfico	0	0	1	3,1		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	30	48,4	19	59,4	2,605	0,272
	Heterozigoto	24	38,7	12	37,5		
	Homozigoto polimórfico	8	12,9	1	3,1		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	30	48,4	19	59,4	1,021	0,312
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	32	51,6	13	40,6		
<i>XRCC1</i> - 399 Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	54	87,1	31	96,9	2,331	0,127
	Homozigoto polimórfico	8	12,9	1	3,1		
<i>XRCC3</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	27	43,5	20	62,5	3,378	,195b
	Heterozigoto	26	41,9	10	31,3		
	Homozigoto polimórfico	9	14,5	2	6,3		
<i>XRCC3</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	27	43,5	20	62,5	3,032	0,082
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	35	56,5	12	37,5		
<i>XRCC3</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	53	85,5	30	93,8	1,396	0,237
	Homozigoto polimórfico	9	14,5	2	6,3		
<i>XPB</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	30	48,4	11	34,4	1,723	0,423
	Heterozigoto	28	45,2	18	56,3		
	Homozigoto polimórfico	4	6,5	3	9,4		
<i>XPB</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	30	48,4	11	34,4	1,685	0,194
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	32	51,6	21	65,6		
<i>XPB</i> Modelo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	58	93,5	29	90,6		

Recessivo	Homozigoto polimórfico	4	6,5	3	9,4	0,262	0,609
<i>GSTP1</i> Modelo Genótipo	Homozigoto selvagem	22	35,5	18	56,3	5,19	0,075
	Heterozigoto	27	43,5	12	37,5		
	Homozigoto polimórfico	13	21	2	6,3		
<i>GSTP1</i> Modelo Dominante	Homozigoto selvagem	22	35,5	18	56,3	3,723	0,054
	Heterozigoto + Homozigoto polimórfico	40	64,5	14	43,8		
<i>GSTP1</i> Modelo Recessivo	Homozigoto selvagem + heterozigoto	49	79	30	93,8	3,409	0,065
	Homozigoto polimórfico	13	21	2	6,3		

N: número de indivíduos; Teste Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher; Melhor função pulmonar: $\geq 80\%$ valor predito;
 pior função pulmonar: $< 80\%$ valor predito