

BEATRIZ-MERCEDES VALERA-LOZANO

**ÉTUDE DE LA VARIABILITÉ CARDIAQUE CHEZ
LES INUIT ADULTES DU NUNAVIK EXPOSÉS AU
MERCURE**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en Épidémiologie
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

DÉPARTEMENT DE MÉDECINE SOCIALE ET PRÉVENTIVE
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

AVRIL 2007

RÉSUMÉ

Le présent projet vise à déterminer l'impact du mercure sanguin sur la variabilité cardiaque (VC) chez des adultes du Nunavik en tenant compte des concentrations des oméga-3 et d'autres facteurs potentiellement confondants. Des échantillons sanguins ont été prélevés chez 280 adultes de 40 ans et plus et, des électrocardiogrammes ambulatoire de type Holter ont été enregistrés pendant 2 heures consécutives afin de calculer des indices de temps et de fréquence de la VC. En corrélation simple, le mercure n'a été associé faiblement qu'à la basse fréquence (LF) ($r = -0.18$; $p = 0.02$) et à la déviation standard des intervalles RR (SDNN) ($r = -0.14$; $p = 0.047$) mais ces associations sont devenues non significatives après le contrôle statistique des facteurs confondants ($\beta = -0.09$, $p = 0.35$; $\beta = -0.04$, $p = 0.37$ respectivement). En conclusion, aucun effet du mercure sur la VC n'a pas été constaté dans cette population.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the impact of mercury levels on heart rate variability (HRV) in an adult population of Nunavik taking into account the influence of n-3 fatty acids and other possible confounding factors. Blood samples were collected in a sub-sample of 280 adults 40 years and older and, ambulatory electrocardiograms (Holter monitoring) were performed during 2 hours in order to derive time and frequency domains indices of HRV. In simple correlation, mercury was weakly associated with low frequency (LF) ($r = -0.18$; $p = 0.02$) and the standard deviation of RR intervals (SDNN) ($r = -0.14$; $p = 0.047$) but these associations became non statistically significant after adjusting for confounders ($\beta = -0.09$, $p = 0.35$; $\beta = -0.04$, $p = 0.37$ respectively). In conclusion, no impact of mercury on HRV was observed in this population.

AVANT- PROPOS

Le présent travail a été réalisé sous la direction d'Éric Dewailly, professeur titulaire au Département de médecine sociale et préventive de l'Université Laval et sous la co-direction de Paul Poirier, cardiologue à l'Institut de cardiologie et de pneumologie de l'Hôpital Laval et professeur adjoint à la Faculté de Pharmacie de l'Université Laval.

L'analyse statistique ainsi que la rédaction du mémoire a été effectuée à l'Unité de recherche en santé publique (URSP) du CHUL – CHUQ où j'ai disposé de toutes les ressources nécessaires pour mener à bien ce travail.

Le présent document se compose d'un article scientifique, écrit en anglais, qui constitue le corps du mémoire (chapitre 5), et contient l'essentiel des résultats de cette étude. Le reste du document présente, en français, la problématique et les objectifs de l'étude, ainsi que la revue de littérature, la méthodologie, la discussion générale et la conclusion. L'article va être soumis pour publication à une revue scientifique à déterminer plus tard cette année. Dans cet article intitulé «Study of heart rate variability in Inuit adults of Nunavik exposed to mercury». B. Valera, É. Dewailly, P. Poirier, je suis l'auteure principale et les co-auteurs sont les Drs Éric Dewailly et Paul Poirier. Mon directeur et mon co-directeur m'ont apporté une aide importante pour la correction, la validation des résultats et surtout pour la rédaction en français et en anglais.

REMERCIEMENTS

Pendant deux ans de travail, j'ai eu la chance de rencontrer des personnes très professionnelles mais aussi très humaines et généreuses. Je voudrais remercier en premier lieu mon directeur de recherche, le Dr Éric Dewailly pour m'avoir accepté dans son équipe de travail ainsi que pour son support financier et professionnel. Également un gros merci à mon co-directeur, le Dr Paul Poirier pour son aide et ses critiques toujours constructives.

J'aimerais aussi remercier les professeurs du Département de médecine sociale et préventive, lesquels ont beaucoup apporté à ma formation ainsi que toute l'équipe de l'Unité de recherche en santé publique. Je voudrais remercier d'une façon spéciale mes collègues Marie-Ludivine Château-Dégât et Renée Dallaire, qui sont toujours prêtes à m'aider et qui m'ont donné des conseils judicieux et très utiles à plusieurs occasions. À Suzanne Gingras et à Louis Rochette, un gros merci aussi pour leur précieuse aide concernant la biostatistique et à Lise Côté pour son aide dans la mise en page de ce document.

Un remerciement spécial à ma famille et à mes amis pour leur amour et encouragement.

Finalement, je remercie tous les participants à l'étude ainsi que Claudette Fortin qui a fait la lecture des enregistrements Holter à l'Hôpital Laval.

TABLE DES MATIÈRES

1.0 PROBLÉMATIQUE.....	1
2.0 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
2.1 CONTAMINATION PAR LE MERCURE AU NUNAVIK	4
2.2 COMPARAISON DES NIVEAUX DE MERCURE AU NUNAVIK PAR RAPPORT À D'AUTRES POPULATIONS	5
2.3 DÉFINITION ET PROPRIÉTÉS DU MERCURE	6
2.4 MÉCANISMES DE TOXICITÉ CARDIAQUE DU MÉTHYLMERCURE.....	7
2.5 LE SYSTÈME NERVEUX AUTONOME (SNA) ET L'EXPOSITION AU MERCURE	8
2.5.1 <i>Définition de SNA et variabilité cardiaque</i>	8
2.5.2 <i>Évidences épidémiologiques concernant la toxicité cardiaque du MeHg.</i> ..	9
2.6 FACTEURS POTENTIELLEMENT CONFONDANTS.....	10
3.0 HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS	14
3.1 HYPOTHÈSE	14
3.2 OBJECTIF GÉNÉRAL	14
3.3 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	14
4.0 MÉTHODOLOGIE	15
5.0 RÉSULTATS.....	19
5.1 ARTICLE.....	19
6.0 DISCUSSION	42
7.0 CONCLUSION GÉNÉRALE	50
8.0 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	51

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE PARTICIPANTS.....	38
TABLE 2. TIME AND FREQUENCY DOMAINS PARAMETERS.....	39
TABLE 3. SIMPLE REGRESSION AND MULTIPLE REGRESSION BETWEEN MERCURY AND HOLTER PARAMETERS	40
TABLE 4. PARTIAL CORRELATION COEFFICIENTS	41
FIGURE 1. TACHOGRAMME	17
FIGURE 2. PUISSANCE SPECTRALE DE LA VARIABILITÉ CARDIAQUE (PSD: POWER SPECTRAL DENSITY)	18

LISTE DES ABRÉTIATIONS

NN :	Moyenne des intervalles RR
SDNN :	Déviatiion standard des intervalles RR
CVRR:	Coefficient de variatiion des intervalles RR
SDANN :	Déviatiion standard des intervalles R-R mesurée pendant une période de 5 minutes
rMSSD :	Racine carrée de la somme de la différence entre les intervalles successifs
pNN50:	Pourcentage d'intervalles qui sont différents de l'intervalle précédent de plus de 50 ms
HF :	Haute fréquence
LF :	Basse fréquence
WC:	Tour de taille
HOMA-IR:	Indice de résistance à l'insuline
MeHg:	Méthylmercure
SNA / ANS:	Système Nerveux Autonome
VC / HRV :	Variabilité cardiaque
DHA :	Acide docosahexanoïque
EPA :	Acide eicosapentanoïque
LDL-cholestérol :	Lipoprotéine de basse densité
HDL-cholestérol :	Lipoprotéine de haute densité
INSPQ :	Institut national de santé publique du Québec
ICP-MS :	Spectrométrie de masse à plasma d'argon induit
CRML :	Centre de recherche sur les maladies lipidiques
PLCN :	Programme de lutte contre les contaminants dans le Nord
FMD :	Maladie foétale de Minamata
r :	Coefficient de corrélation de Pearson
β :	Coefficient de régression
p :	Valeur p
n :	Taille d'échantillon
IC 95% :	Intervalle de confiance à 95%

1.0 Problématique

La contamination environnementale est un sujet qui reçoit beaucoup d'attention de la part des scientifiques et du grand public surtout lorsqu'elle peut affecter la santé humaine. De nombreuses populations partout dans le monde sont confrontées à ce problème. La population du Nord du Canada n'y échappe pas. Les contaminants émis dans l'environnement dans les régions du sud sont transportés au Nord par les vents et les courants océaniques. Ces substances sont déposées dans les sédiments terrestres et lacustres et s'accumulent ensuite chez les animaux marins. Étant donné que la diète traditionnelle constitue une partie importante de l'alimentation des populations habitant l'Arctique, les contaminants peuvent atteindre des concentrations très élevées chez l'humain (1).

Parmi les contaminants les plus importants pour la santé humaine, on trouve les organochlorés, les métaux lourds et les radio-isotopes. Le mercure (Hg) est l'un des contaminants le plus important de l'Arctique canadien. Il est présent dans la plupart des poissons prédateurs et des mammifères marins sous la forme de méthylmercure (MeHg), molécule plus toxique que le mercure élémentaire (1).

Le mercure est connu pour sa toxicité rénale et neurologique. Plus récemment, un effet toxique du MeHg sur le contrôle autonome cardiaque a été suggéré (2-4). Le système nerveux autonome (SNA) contrôle les organes végétatifs, c'est-à-dire, ceux qui ne dépendent pas de stimuli conscients. Afin que le cœur ait un fonctionnement adéquat, un équilibre entre l'activité sympathique et parasympathique du SNA est nécessaire (5). La diminution de la variabilité cardiaque (VC), soit un cœur dont le rythme ne varie pas ou très peu, a été associée au risque de mort subite (6-10) et de mortalité de toutes causes (11). Aux Îles Féroé, Grandjean *et al.* (2) ont constaté une diminution de l'activité sympathique et parasympathique chez des adolescents de 14 ans dont la mère avait été exposée au mercure pendant la grossesse. Cette cohorte avait été étudiée à l'âge de 7 ans et une diminution de la variabilité cardiaque en fonction

des concentrations de MeHg avait été constatée seulement chez les garçons (4). Ces résultats suggèrent que le système cardiovasculaire soit sensible aux effets du MeHg pendant la période prénatale.

Chez les adultes, l'effet du MeHg sur la variabilité cardiaque n'a jamais été étudié. La population des Îles Féroé est très similaire à celle du Nord du Canada en ce qui concerne leurs habitudes alimentaires et les types de contaminants, même s'il existe des différences génétiques.

Un aspect important à considérer dans la présente étude est le fait que les aliments traditionnels contiennent aussi des quantités élevées d'acides gras poly-insaturés (oméga-3), lesquels améliorent la santé cardiovasculaire en prévenant en particulier les arythmies ventriculaires (12, 13) et la mort subite (14). Le mercure pourrait annuler cet effet bénéfique des oméga-3 sur le système cardiovasculaire (15, 16). D'ailleurs, le sélénium qui est un autre nutriment présent dans la diète traditionnelle pourrait offrir une certaine protection à cette population concernant l'impact délétère du mercure. Le sélénium fait partie des enzymes antioxydants du plasma qui contribuent à diminuer l'activité oxydante décrite pour le mercure (17, 18).

Entre 1977 et 1982, des échantillons sanguins ont été prélevés chez 142 résidents Inuit du Nunavik et des concentrations de mercure plus élevées que celles recommandées par Santé Canada ont été détectées (19). Ces résultats ont soulevé l'inquiétude auprès des organisations autochtones qui se sont joints aux organismes fédéraux et territoriaux pour mettre en place le Programme de lutte contre les contaminants dans le Nord (PLCN) qui a été établi en 1991. Postérieurement en 1992, une enquête a été menée au Nunavik par Dewailly *et al.* (20). Ils ont rapporté que les concentrations de mercure chez les adultes étaient 10 fois plus élevées que celles des habitants de la partie sud du Québec (21). Les

niveaux de mercure avaient diminué par rapport aux années 70-80 mais demeuraient encore élevés.

À l'automne 2004, douze ans plus tard, l'enquête «Qanuippitaa?» a été conduite dans les mêmes 14 villages du Nunavik afin de collecter les informations nécessaires permettant d'actualiser les niveaux d'exposition de cette population aux contaminants et d'évaluer l'impact de ceux-ci sur la santé de ses habitants. La présente étude est basée sur des données tirées de cette enquête.

2.0 Revue de la littérature

2.1 Contamination par le mercure au Nunavik

Les populations qui habitent dans les régions circumpolaires ont des concentrations sanguines très élevées en mercure et cela varie d'une région à l'autre dépendamment des habitudes alimentaires (1). La diète des Inuit du Nunavik est composée en partie de mammifères marins et de poissons, lesquels constituent une source importante d'exposition au méthylmercure (22).

Comme mentionné auparavant, les premières données concernant l'exposition des Inuit du Nunavik au mercure ont été collectées entre 1977 et 1982. Des échantillons sanguins ont été prélevés chez 142 individus et une concentration moyenne de 240 nmol/L a été détectée (19). Cette concentration peut être considérée élevée si on tient compte que Santé Canada établi comme concentration sanguine admissible au-dessous de 20 µg/L (100 nmol/L) chez les adultes (23).

Par la suite, en 1992, l'enquête «Santé Québec auprès des Inuit du Nunavik» a été conduite dans les 14 villages de cette région (20). Cette fois-là, des échantillons sanguins provenant de 492 individus ont été analysés et des concentrations de mercure variant entre 4 et 560 nmol/L (moyenne 109 nmol/L) ont été détectées. Même si ces concentrations sont de la moitié inférieures à celles observées entre 1977 et 1982, elles demeurent encore beaucoup plus élevées que les concentrations rapportées dans les populations du sud et même d'autres régions de l'Arctique.

2.2 Comparaison des niveaux de mercure au Nunavik par rapport à d'autres populations

Dans les populations dont la diète n'est pas basée sur la consommation de poissons et de mammifères marins, les concentrations moyennes de mercure se trouvent près de 10 nmol/L. Lors de la dernière enquête conduite au Nunavik, des échantillons sanguins ont été collectés chez 34 résidents du Nunavik d'origine caucasienne (20). Une concentration moyenne de mercure de 19 nmol/L a été détectée, laquelle est beaucoup moins élevée que les niveaux retrouvés chez les Inuit. Des niveaux de mercure ont été aussi mesurés par la même équipe dans la population du sud du Québec et la plupart des échantillons sanguins (78%) présentaient des concentrations de mercure au-dessous de 10 nmol/L (21). Également dans le sud de Québec, Leblanc *et al.* (24) ont observé une concentration plasmatique moyenne de 3.7 nmol/L. Finalement, une étude conduite chez 1127 américains a rapporté une concentration sanguine moyenne de 10 nmol/L (25).

Cependant, dans d'autres populations de l'Arctique se nourrissant aussi d'aliments traditionnels, les concentrations de MeHg sont beaucoup plus élevées. Des données collectées chez 286 Inuit au Nunavut (est de l'Arctique canadien) entre 1972 et 1989 ont montré une concentration moyenne de mercure de 97 nmol/L (écart= 5-1000 nmol/L). Ailleurs, les concentrations observées chez 76 Dénés ont été de 53 nmol/L (écart= 7-332 nmol/L) (19). Au Nord du Québec, des échantillons sanguins collectés auprès de 1129 Cris (Nord du Québec) entre 1971 et 1985 ont montré une concentration de mercure de 42.9 µg/L (215 nmol/L) (19). Aux Îles Féroé, une étude conduite par Grandjean *et al.* (26) chez 53 femmes a détecté une concentration médiane égale à 60 nmol/L (12.1µg/L) (écart= 13-250 nmol/L) tandis qu'au Groenland, Pedersen *et al.* (27) ont rapporté une concentration de 24.9 µg/L (124.5 nmol/L) chez 47 Groenlandais.

2.3 Définition et propriétés du mercure

Le mercure se retrouve dans la nature sous trois formes : mercure élémentaire (Hg^0), inorganique (Hg^{2+}) et sous forme de composé organique (Hg^{3+}). Ce dernier s'appelle méthylmercure lors de sa liaison avec le groupe méthyle (28).

Le mercure est présent dans les roches mais peut être aussi libéré dans l'environnement lors des processus industriels comme la combustion du carbone. Dans ce cas, le mercure, qui se trouve sous la forme gazeuse (Hg^0), peut être transformé en Hg^{2+} par des mécanismes qui ne sont pas encore bien connus. Le Hg^{2+} hydrosoluble est ensuite transporté par la pluie pour être finalement déposé dans les sédiments marins et terrestres. À ce moment là, il est transformé en méthylmercure grâce à des interactions biogéochimiques (28, 29).

En milieu aquatique, les plantes et les petits organismes comme le plancton absorbent du méthylmercure selon un processus d'absorption passive en surface ou lors d'absorption de nourriture. Étant une substance rémanente, le MeHg peut se bioaccumuler dans les organismes vivants et entraîner une concentration de plus en plus importante chez les espèces d'un ordre plus élevé, comme par exemple les poissons prédateurs, les oiseaux piscivores et les mammifères marins qui se nourrissent de poissons. Ce processus s'appelle «bioamplification» (28, 29).

Le méthylmercure s'absorbe par voie gastro-intestinale à 95%. C'est un composé avec des caractéristiques lipophiles qui forme un complexe hydrosoluble avec la L-cystéine (28). Cette liaison lui donne la possibilité de traverser les barrières hémato-encéphalique et placentaire et réagir directement avec les cellules embryonnaires (30) et celles du cerveau (31). Ainsi, les concentrations de MeHg dans le placenta peuvent excéder celles du sang de la mère (30, 32). Le MeHg a une demi-vie d'environ 50 jours ce qui permet d'utiliser le sang comme marqueur d'exposition récente (22). La plupart du MeHg présent dans l'organisme est éliminé par les selles, une moindre proportion par la bile et moins de 10% dans les urines.

Le MeHg s'accumule également dans les cheveux (30) ce qui permet l'utilisation de ceux-ci comme marqueur d'exposition à plus long terme (33). Étant donné que les cheveux poussent d'environ 1cm par mois, il est possible de modéliser l'exposition au mercure rétrospectivement selon la longueur des cheveux analysés.

2.4 Mécanismes de toxicité cardiaque du méthylmercure

Les mécanismes impliqués dans la toxicité cardiaque du MeHg ne sont pas encore très bien élucidés. Nous ne mentionnerons que les mécanismes qui semblent avoir une place importante dans la toxicité du MeHg au niveau cardiovasculaire.

Parmi les mécanismes supposés être responsables de la toxicité cardiaque du MeHg, l'oxydation lipidique semble être un des plus importants (34, 35). Le mercure peut agir comme catalyseur de la réaction de Fenton, laquelle produit des radicaux hydroxyles à partir d'une réaction entre le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène. Le radical hydroxyle, le plus dangereux des radicaux libres, est impliqué dans l'athérosclérose (36-38).

Un autre mécanisme qui peut expliquer la toxicité du MeHg est l'inactivation des groupes thiols des antioxydants du plasma comme le glutathion (GSH) (39). De cette façon, le glutathion ne pourra pas exercer sa fonction dans l'inactivation des radicaux libres et l'accumulation de ces derniers prédisposera à l'oxydation cellulaire. Le mercure diminue les niveaux de glutathion dans l'organisme par différents mécanismes. Il peut modifier la fonction des enzymes comme la GSH réductase et la GSH synthétase. Cette dernière s'occupe de la synthèse du GSH tandis que la GSH réductase intervient afin de recycler le GSH oxydé et lui retourner ses propriétés antioxydantes (39).

Étant donné l'affinité du mercure pour les groupes thiols, il peut également inhiber l'enzyme acétylcholine transférase qui est impliquée dans l'étape finale de

production d'acétylcholine (neurotransmetteur du système parasympathique) (40). D'ailleurs, le mercure peut établir des liaisons sulfure-mercure-sulfure et par conséquent, bloquer les canaux sodiques dans les myocytes (41, 42). Il peut aussi bloquer l'enzyme Na/K ATPase par un mécanisme réversible ligand-dépendant (43). La myosine ATPase, responsable de la contraction du muscle cardiaque, est une autre enzyme qui peut être affectée par le mercure à cause de son affinité aux groupes thiols (44).

Le mercure peut aussi réagir avec le sélénium et former du séléniure de mercure inerte ce qui réduit la biodisponibilité du sélénium et en même temps, son activité antioxydante puisque sous forme de séléniure, il ne pourra pas agir comme substrat à la glutathion peroxydase (28).

2.5 Le système nerveux autonome (SNA) et l'exposition au mercure

2.5.1 Définition de SNA et variabilité cardiaque

Le système nerveux autonome (SNA) agit sur les deux parties du système cardiovasculaire pour moduler la pression artérielle et donc l'apport en oxygène. Le cœur possède un tissu particulier, le tissu nodal, qui est un réseau de cellules conductrices reliées à des nœuds d'automatisme lui permettant de battre de manière autonome mais à rythme constant en l'absence de toute innervation. Le SNA est la partie du système nerveux qui contrôle l'automatisme cardiaque, il assure le fonctionnement du cœur sans qu'il ait besoin de stimuli conscients (5)

La variabilité cardiaque, définie comme la variation de l'intervalle de temps séparant deux battements cardiaques consécutifs (intervalle R-R de l'électrocardiogramme) est considérée comme le reflet de l'activité du SNA cardiaque (45). Celle-ci est constituée de l'activité parasympathique et de l'activité sympathique. La première est modulée par le neurotransmetteur acétylcholine et

diminue le rythme cardiaque tandis que la deuxième agit à travers la noradrénaline pour augmenter le rythme cardiaque.

Une diminution de la variabilité cardiaque implique des arythmies. Parmi les plus dangereuses, on retrouve la fibrillation ventriculaire, qui a été décrite comme la cause principale de mort subite (5). L'association entre la variabilité cardiaque réduite et la mort subite a été constatée chez les diabétiques de type 2 (6), chez des patients avec défaillance cardiaque (7-9) et chez les personnes âgées (10). La diminution de la variabilité cardiaque a été aussi associée à la mortalité de toutes causes, cardiovasculaire et non cardiovasculaire chez les hommes d'âge moyen (11). Cette association a été observée par Tsuji *et al.* dans le cadre de l'étude de Framingham chez les personnes âgées (46) mais aussi dans la population générale (47).

2.5.2 Évidences épidémiologiques concernant la toxicité cardiaque du MeHg

Parmi les principaux effets toxiques du MeHg, on trouve la toxicité rénale et neurologique. Néanmoins, un impact sur le système cardiovasculaire a été suggéré plus récemment. En effet, le MeHg a été associé au risque d'infarctus du myocarde (35) ainsi qu'à des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose (34) et la tension artérielle (4, 27). Quelques évidences épidémiologiques suggèrent aussi une influence du MeHg sur le contrôle autonome cardiaque. Chez l'humain, l'influence du MeHg sur la variabilité cardiaque a été étudiée chez des individus exposés *in utero* à des concentrations élevées de ce contaminant (2-4). Chez les animaux, des anomalies dans la variabilité cardiaque ont été détectées en présence de chlorure de MeHg (48).

Aux Îles Féroé, Sorensen *et al.* (4) ont étudié une cohorte d'enfants pour lesquels des mesures de MeHg dans les cheveux de la mère et dans le cordon ombilical à la naissance ont été effectuées. La concentration moyenne géométrique de MeHg

détectée dans le cordon ombilical a été de 22.6 $\mu\text{g/L}$ (113 nmol/L) avec un écart variant de 0.9 à 351 $\mu\text{g/L}$ (4.5 - 1755 nmol/L) (49). À l'âge de 7 ans, les paramètres de la variabilité cardiaque chez 913 enfants ont été analysés et une diminution de la variation du rythme cardiaque de 47% a été trouvée mais seulement chez les garçons dans la catégorie d'exposition la plus basse (entre 1 et 10 $\mu\text{g/L}$). Plus tard, à l'âge de 14 ans, Grandjean *et al.* (2) ont réévalué la même cohorte et une diminution de l'activité parasympathique et sympathique d'environ 6.7% a été constatée. Ils suggèrent que cette variation puisse être due aux effets du MeHg sur les régions du cerveau responsables de la modulation sympathique et parasympathique du système cardiovasculaire. Le coefficient de variation des intervalles R-R (CVRR) a diminué aussi d'environ 2.7%.

D'ailleurs, Oka *et al.* (3) ont étudié l'effet du MeHg sur le SNA chez des patients présentant la maladie foétale de Minamata qui avaient atteint l'âge adulte. Pour être considéré comme atteint, des concentrations de MeHg supérieures à 1 ppm dans le tissu du cordon ombilical et à 50 ppm dans les cheveux de la mère étaient requises. Dans cette étude, 9 patients ont été recrutés et comparés à 13 contrôles. Lors des analyses, ils ont constaté une diminution de l'intervalle R-R et de la haute fréquence (indice parasympathique) chez les patients par rapport aux contrôles. La déviation standard et le coefficient de variation des intervalles R-R tendaient à être inférieurs chez les patients mais cette différence n'a pas atteint le seuil de signification statistique. Ces résultats suggèrent une diminution de l'activité parasympathique chez les patients atteints de la maladie foétale de Minamata.

2.6 Facteurs potentiellement confondants

Les acides gras insaturés (oméga-3) présents dans les poissons et mammifères marins ont des effets positifs sur la santé humaine (15, 16, 50-54). Parmi les effets bénéfiques de ces acides gras, on trouve l'augmentation de la variabilité cardiaque (54-56) et les résultats de plusieurs études suggèrent que l'acide

docosahexanoïque (DHA) soit responsable des propriétés anti-arythmiques (12, 50, 57) des acides gras insaturés. Le DHA diminue le rythme cardiaque (12, 13), ce qui peut prévenir les arythmies ventriculaires (12, 13, 50, 58) et la mort subite (54) surtout chez les hommes (12, 13, 57), en augmentant le seuil du potentiel d'action des cardiomyocytes. De cette façon, il pourrait stabiliser l'activité électrique cardiaque et prolonger la période réfractaire relative. Il pourrait aussi moduler les canaux sodiques et potassiques ou interagir avec le système adrénergique et moduler l'activité sympathique et parasympathique (13). Grimsgaard *et al.* (12) ont rapporté un effet positif du DHA sur la fonction ventriculaire gauche. Toutefois, les effets protecteurs des oméga-3 sur le système cardiovasculaire pourraient être contrebalancés par l'effet négatif du mercure (15, 16, 35).

Dewailly *et al.* (59) ont mesuré des concentrations élevées de DHA et EPA (acide eicosapentanoïque) dans la population du Nunavik surtout chez les personnes plus âgées. Les niveaux plasmatiques de DHA (moyenne géométrique : 4.5% des acides gras totaux) et EPA (moyenne géométrique : 2.0% des acides gras totaux) détectés dans cette population en 1992 étaient supérieurs à ceux trouvés par la même équipe chez les habitants du sud du Québec (60) (moyenne géométrique DHA : 1.2%, moyenne géométrique EPA : 0.5%). Ils ont démontré également une corrélation modérée entre les niveaux de mercure sanguin et les oméga-3 chez les Inuit du Nunavik, signant ainsi leurs origines alimentaires communes (produits marins).

Le sélénium est un nutriment qui se trouve à des concentrations très élevées chez les personnes qui consomment de grandes quantités de mammifères marins et de poissons (61). Le sélénium entre dans la composition des enzymes antioxydantes du plasma comme la glutathion peroxydase (17). Celles-ci neutralisent les radicaux libres pour empêcher le processus de peroxydation lipidique qui a des conséquences néfastes pour la santé humaine. De cette façon, le sélénium pourrait jouer un rôle important dans la prévention de l'athérosclérose (62). Par

contre, le mercure pourrait bloquer l'effet du sélénium en formant le séléniure de mercure, substance incapable d'établir une liaison avec la glutathion peroxydase pour exercer son action antioxydante (18). Les Inuit du Nunavik ont des niveaux élevés de sélénium car cette population se nourrit principalement de poissons et de mammifères marins (61). En 1992, lors de l'enquête «Santé Québec auprès des Inuit du Nunavik», Dewailly *et al.* (59) ont mesuré les niveaux plasmatiques de sélénium chez 40 Inuit et ils ont détecté une concentration plasmatique moyenne d'environ 2 $\mu\text{mol/L}$ ce qui était supérieur aux niveaux de sélénium chez les Québécois (environ 1 $\mu\text{mol/L}$) (63).

D'un autre côté, la variabilité cardiaque peut être également influencée par des facteurs tels que l'âge, le sexe, l'obésité, la glycémie, l'insulinémie, le cholestérol, le tabagisme et la consommation d'alcool, tous pouvant être potentiellement confondants dans notre étude (6, 14, 57, 64-80).

En effet, l'âge et le sexe ont été reportés comme des facteurs qui peuvent augmenter le rythme cardiaque. Les hommes ont un risque plus élevé d'avoir une diminution de la variabilité cardiaque (57, 64, 65). Concernant l'âge, les personnes âgées sont plus susceptibles de présenter une variabilité cardiaque diminuée (64, 66, 67).

Par rapport à l'**obésité**, Poirier *et al.* (68) en étudiant l'effet de celle-ci sur le SNA cardiaque, ont trouvé qu'une diminution du 10% de la masse corporelle améliorerait la modulation autonome cardiaque en augmentant l'activité parasympathique lequel se traduit par une diminution du rythme cardiaque. Dans une autre étude (67), il a été constaté qu'une augmentation du ratio tour de taille / tour de hanches était associée avec une diminution du rMSSD qui représente l'activité parasympathique et de la basse fréquence qui représente principalement l'activité sympathique.

La **glycémie** est également importante puisque l'augmentation de la concentration de glucose a été associée à une diminution de la variabilité cardiaque (6, 69-71) dû principalement à une exacerbation de l'activité sympathique. Ce même résultat a été trouvé en présence de concentrations d'**insuline** élevées (68, 72, 73) peut-être à cause d'une diminution de la sensibilité du nœud sinusal aux stimuli parasympathiques et sympathiques (72).

Par rapport au **cholestérol**, une corrélation inverse a été retrouvée entre le LDL-cholestérol et la variabilité cardiaque (14, 65, 68). L'augmentation des niveaux de LDL-cholestérol peut diminuer l'élasticité des artères et influencer la modulation des barorécepteurs, affectant le contrôle réflexe de la variabilité du rythme cardiaque (74).

La variabilité cardiaque peut être modifiée aussi par la consommation d'alcool et de tabac (65, 75-80). Dans le cas de la **consommation d'alcool**, Bennett *et al.* (75) ont observé des modifications de la modulation autonome cardiaque lors d'une étude réalisée chez des animaux. Koskinen *et al.* (76) ont observé une diminution de la modulation sympathique du rythme cardiaque dans une étude où l'ingestion d'alcool chez 12 individus sains a été contrôlée. Un effet similaire a été rapporté par Flanagan *et al.* (77) tandis que Janzsky *et al.* (78) ont trouvé que la consommation de vin était associée à une augmentation de la variabilité cardiaque chez des femmes atteintes de maladie coronarienne. Une telle association n'a pas été observée dans le cas de la bière ou de boissons spiritueuses. La **consommation de tabac** a été associée aussi à la diminution de la variabilité cardiaque (65, 79) surtout à cause d'une diminution de l'activité des barorécepteurs (80).

3.0 Hypothèse et objectifs

3.1 Hypothèse

L'augmentation de l'exposition au mercure diminue la variabilité cardiaque chez les adultes du Nunavik.

3.2 Objectif général

Étudier l'effet du mercure sanguin sur la variabilité cardiaque chez les adultes du Nunavik.

3.3 Objectifs spécifiques

1. Déterminer l'exposition au mercure chez les adultes de 40 ans et plus au Nunavik.
2. Évaluer si la concentration de mercure sanguin est associée à la variabilité cardiaque selon les paramètres de l'analyse temporelle et spectrale.
3. Prendre en compte les facteurs confondants possibles comme la concentration d'oméga-3 (DHA et EPA) et de sélénium et d'autres comme l'âge, le sexe, obésité, la glycémie, les niveaux d'insuline, le cholestérol, la consommation d'alcool et le statut tabagique.

4.0 Méthodologie

À l'automne 2004, l'enquête «Qanuippitaa ?» a été conduite dans les 14 villages du Nunavik. L'enquête générale incluait les individus de 18 ans et plus mais seulement les adultes de 40 ans et plus ont été invités à participer à l'enregistrement de la variabilité cardiaque (monitorage de la fréquence cardiaque pendant 2 heures consécutives). Nous nous sommes concentrés sur ce groupe puisque c'était le groupe d'âge qui avait les concentrations de MeHg le plus élevées lors de la dernière enquête conduite en 1992.

La collecte des données a été effectuée à bord du brise-glace «Amundsen». La collecte a été faite pendant les mois d'août et septembre 2004 et les participants ont été invités à se rendre sur le bateau. Les individus qui ont accepté de participer à l'étude ont signé le formulaire de consentement. Le protocole de cette étude a été approuvé par le Comité d'Étique de l'Université Laval. L'information concernant les variables utilisées dans la présente étude ont été collectées à l'aide de questionnaires et lors d'une session clinique. Les questionnaires ont servi à recueillir des données concernant l'âge, le sexe, la consommation d'alcool et le statut tabagique. Pendant la session clinique, des échantillons sanguins à jeun ont été prélevés afin de mesurer la concentration de mercure, DHA, EPA, sélénium, insuline, glucose et cholestérol. Des mesures anthropométriques (tour de taille) et physiologiques (variabilité cardiaque) ont été aussi prises au cours de cette session.

Pour mesurer le tour de taille, le ruban a été placé de façon horizontale, au niveau où un rétrécissement de la taille a été perceptible. La mesure a été prise en fin d'expiration. Dans les cas où la taille n'a pas été suffisamment définie, la mesure a été prise au niveau estimé de la dernière côte flottante (81).

La détermination du mercure et du sélénium a été faite au laboratoire de toxicologie de l'Institut nationale de santé publique du Québec (INSPQ) en utilisant la méthode ICP-MS (M-557). Il s'agit d'une méthode de spectrométrie de masse à plasma d'argon induit. La détection du sélénium a été effectuée dans le sang total tandis que pour le mercure une dilution de 20 fois avec hydroxyde d'ammonium a été nécessaire avant l'analyse.

Pour la mesure des acides gras poly-insaturés (DHA et EPA) dans les membranes des érythrocytes, une purification des membranes ainsi qu'une extraction lipidique avec une combinaison de chloroforme/méthanol (82) et une méthylation des acides gras a été requise. Finalement, la détection a été faite en utilisant une méthode de chromatographie gazeuse capillaire avec une colonne DB-23 (39 m x 0.25 mm x 0.25 µm épaisseur). Cette méthode est couramment utilisée au Centre de recherche sur les maladies lipidiques du CHUL (CRML).

Les analyses biochimiques ont été effectuées sur un auto-analyseur Hitachi 917 avec des réactifs de la compagnie Roche Diagnostique. La mesure du HDL-cholestérol, cholestérol total et triglycérides est une mesure directe basée sur l'inhibition sélective de la réaction avec les autres lipoprotéines. Le LDL-cholestérol est calculé à l'aide de la formule de Friedewald (83). La mesure de glucose a été faite en utilisant une réaction enzymatique avec hexokinase tandis que les analyses d'insuline, ont été réalisées sur un auto-Analyseur Modular analytics E170 (module Elecsys) de Roche à l'aide d'un test par électrochimiluminiscence «ECLIA». Ce test utilise deux anticorps monoclonaux dont l'interaction est spécifique à l'insuline humaine. La résistance à l'insuline (Homa-IR) a été calculée à partir de la formule (insuline à jeun x glucose à jeun / 22.5) (84).

Afin de mesurer la variabilité cardiaque, des électrocardiogrammes ambulatoires de type HOLTER ont été installés pendant une période de 2 heures. La lecture des enregistrements a été faite à l'Institut de pneumologie et cardiologie de l'Hôpital

Laval. Pour l'analyse temporelle, nous avons tenu compte de la moyenne des intervalles entre les battements (intervalle R-R) qui a été nommée NN pour les analyses, la déviation standard des intervalles R-R (SDNN), la déviation standard des intervalles R-R mesurée pendant une période de 5 minutes (SDANN), la racine carrée de la somme de la différence entre les intervalles successifs (rMSSD), et le pourcentage d'intervalles qui sont différents de l'intervalle précédent de plus de 50 ms (pNN50). En plus des mesures temporelles déjà mentionnées, l'analyse de mesures de fréquence est aussi possible en appliquant des transformations mathématiques aux données obtenues à partir de l'électrocardiogramme. Les mesures de fréquence incluent l'analyse spectrale de la variabilité cardiaque. Dans ce cas, les intervalles R-R sont représentés dans un tachogramme (figure 1) dans lequel l'axe des y représente l'intervalle R-R et l'axe des x le nombre total de battements.

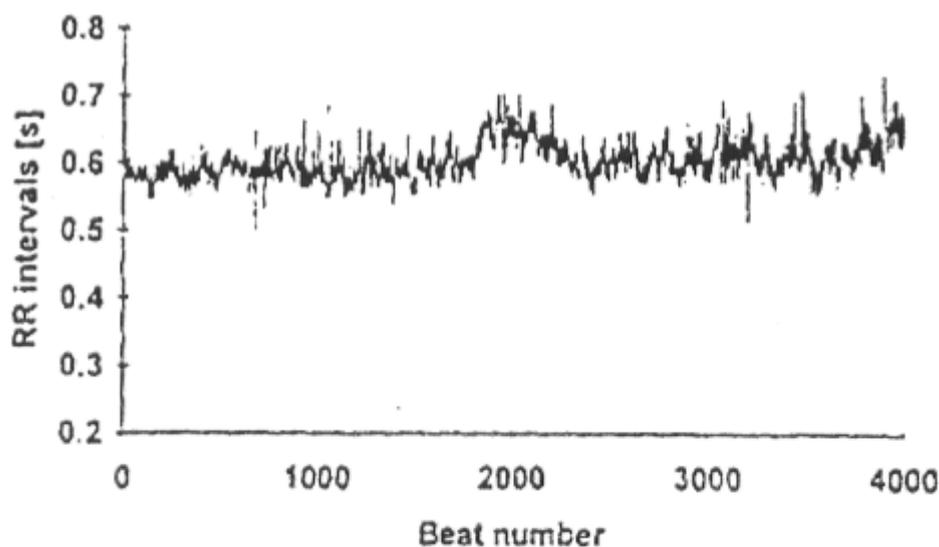


Figure 1. Tachogramme (85)

L'analyse spectrale du tachogramme transforme le signal de temps en fréquence dans l'axe des x en représentant le signal comme une combinaison d'ondes sinusoïdales et co-sinusoïdales avec différentes amplitudes et fréquences (figure 2).

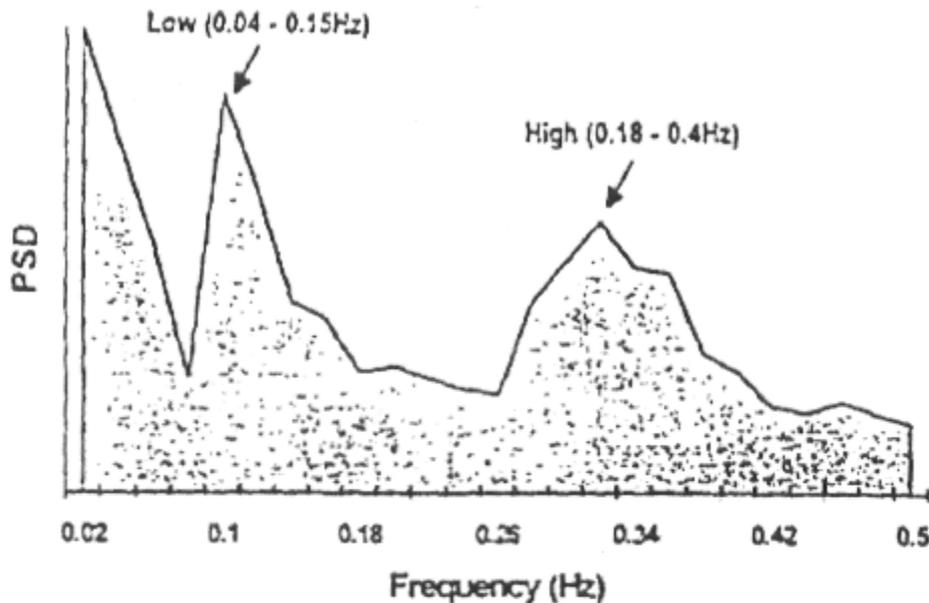


Figure 2. Puissance spectrale de la variabilité cardiaque (PSD: Power spectral density) (85)

La méthode utilise une transformation mathématique de Fourier. Le spectre de la variabilité cardiaque inclut la bande de très basses fréquences (VLF= 0.0033-0.04 Hz) qui peut être un indice d'activité parasympathique et de stimuli neuroendocriniens et thermogéniques, la bande de basse fréquence (LF= 0.04-0.15 Hz) qui est un indice d'activité sympathique et parasympathique, et la bande de hautes fréquences (HF= 0.15-0.40 Hz) qui est un indicateur de l'activité parasympathique seulement. Le ratio LF/HF est utilisé pour évaluer la balance sympatho-vagale (68, 86).

Le chapitre suivant est un manuscrit en anglais qui sera soumis pour publication décrivant les résultats obtenus lors de cette étude. Il s'intitule «Étude de la variabilité cardiaque chez les Inuit adultes du Nunavik exposés au mercure»

5.0 Résultats

5.1 Article

STUDY OF HEART RATE VARIABILITY AMONG INUIT ADULTS OF NUNAVIK EXPOSED TO MERCURY

ÉTUDE DE LA VARIABILITÉ CARDIAQUE CHEZ LES INUIT ADULTES DU NUNAVIK EXPOSÉS AU MERCURE

Valera. B,¹ Dewailly. E,¹ Poirier. P²

1. Public Health Research Unit, CHUL-CHUQ, Quebec, Canada.
2. Quebec Heart and Lungs Institute, Laval Hospital Research Center, Canada.

RÉSUMÉ

Introduction : Le mercure est un contaminant qui atteint des concentrations très élevées au Nunavik (Nord du Québec). Il est présent sous forme de méthylmercure chez les poissons et mammifères marins qui constituent une partie importante de la diète traditionnelle des Inuit. Des évidences épidémiologiques suggèrent un effet du mercure sur la variabilité cardiaque (VC), laquelle mesure l'activité sympathique et parasympathique du système nerveux autonome (SNA) sur le cœur.

Objectif : Étudier l'effet du mercure sanguin sur la variabilité cardiaque chez les adultes du Nunavik en tenant compte des oméga-3 et d'autres facteurs potentiellement confondants.

Méthodologie : À l'automne 2004 l'enquête «Qanuippitaa?» a été conduite dans les 14 villages du Nunavik et des informations ont été collectées chez 280 adultes de 40 ans et plus. Des électrocardiogrammes ambulatoires de type Holter ont été enregistrés pendant 2 heures consécutives afin d'obtenir des indices de temps et de fréquence décrivant la variabilité cardiaque. La relation entre le mercure et les paramètres de la variabilité cardiaque a été étudiée à l'aide de la corrélation simple tandis que pour le contrôle des facteurs confondants la régression linéaire multiple a été utilisée.

Résultats : Le mercure n'a été associé faiblement qu'à la basse fréquence (LF) ($r = -0.18$; $p = 0.02$) et à la déviation standard des intervalles RR (SDNN) ($r = -0.14$; $p = 0.047$) mais ces associations sont devenues non significatives après le contrôle des facteurs confondants.

Conclusion : Aucun impact du mercure sanguin sur la variabilité cardiaque n'a été détecté dans cette population.

ABSTRACT

Background: Mercury is a contaminant that reaches high concentrations in Nunavik (North of Quebec). It is found as methylmercury (MeHg) in marine mammals and predator fish, which constitute an important part of the traditional Inuit diet. MeHg has been suggested to influence heart rate variability (HRV) which represents the cardiac parasympathetic and sympathetic modulation of the autonomic nervous system (ANS).

Objective: To study the impact of MeHg levels on HRV in an adult population of Nunavik taking into account the influence of possible confounding factors such as n-3 fatty acids.

Methodology: In fall 2004, the Health Survey «Qanuippitaa?» was conducted in the 14 coastal villages of Nunavik and information was collected in a sub-sample of 280 adults 40 years and older. Several indices from the time and the frequency domains of HRV were derived from a 2-hour Holter monitoring. Statistical analyses were conducted through linear regression and multiple regression was used in order to control for confounders.

Results: Mercury was weakly associated with low frequency ($r = -0.18$; $p = 0.02$) and standard deviation of RR intervals (SDNN) ($r = -0.14$; $p = 0.047$) in simple correlation but these associations became non significant after adjusting for confounders.

Conclusion: No impact of mercury blood concentration on HRV was detected in this adult population.

Keywords: mercury, heart rate variability, Inuit

Background

Mercury is a contaminant of great concern in the Arctic and in the North of Quebec (Nunavik) (1). Mercury can be transformed to methylmercury (MeHg) by biomethylation of the inorganic mercury present in aquatic sediments. It accumulates in the aquatic food chain and reaches its highest concentrations in long-lived and predatory fish and whales (2). Arctic populations are highly exposed to MeHg since their traditional diet is still largely based on fish and marine mammals consumption.

One study carried out between 1977 and 1982 including 142 adults of Nunavik revealed a mean mercury blood concentration of 240 nmol/L (3). Ten years later, another study was conducted by Dewailly *et al.* (4) where the investigators noticed that blood mercury levels had decreased (mean= 109 nmol/L) but still remained tremendously elevated if compared with Southern Quebec (mean= 3.7 nmol/L) (5) or Nunavik residents of Caucasian origin (mean= 18.6 nmol/L) (4). They also reported that Inuit in the 45 to 75-yr age group had the highest mean blood mercury concentration.

MeHg is well known for its toxic activity on the central nervous system (CNS) but recently, some authors have suggested that it can also interfere with the normal functioning of the cardiovascular system (6-10). Some studies have reported an association between mercury and myocardial infarction (6), elevated blood pressure (7, 8), and reduced heart rate variability (HRV) (7, 9, 10). This latter reflects the cardiac parasympathetic and sympathetic activities of the autonomic nervous system (ANS) but information concerning the influence of MeHg on HRV is sparse. Reduced HRV can cause ventricular fibrillation, which can lead to sudden cardiac death (11-15). The diminution of HRV has been also associated with cardiac mortality and all cause mortality (16-18).

The effect of MeHg on HRV has been only studied in subjects exposed *in utero* (7, 9, 10). In a cohort study of 7-year-old children from the Faroe Islands, the coefficient of variation of the heart rate (CVRR) in boys decreased by 47% in a range of cord blood concentrations from 1 to 10 $\mu\text{g/L}$ (5-50 nmol/L). This was depicted as an indication of parasympathetic nervous dysfunction in children exposed to low doses of MeHg during the prenatal period (7). This cohort was examined at 14 years old and a diminution of the coefficient of variation of the heart rate of 2.7% was detected as well as a diminution in the parasympathetic and sympathetic activity of 6.7% (10).

On the other hand, Oka *et al.* (9) conducted a case-control study to assess the chronic effect of exposure to high doses of MeHg on HRV in subjects suffering from the fetal Minamata disease (FMD). Some of HRV indices such as the R-R interval (NN) and high frequency (HF) were lower in FMD patients as SDNN and CVRR tended to be lower in FMD group but this difference did not reach statistical significance.

Up to now, the influence of the background mercury levels on HRV in adults environmentally exposed has not been studied. The aim of the present study was to assess the effect of blood mercury on HRV among Inuit adults of Nunavik taking into account the influence of n-3 fatty acids and other possible confounding factors. We hypothesized that an increase of blood mercury levels is associated with reduced HRV.

Materials and methods

In fall 2004, the Health Survey «Qanuippitaa?» was conducted in the 14 coastal villages of Nunavik. The survey included all permanent residents, except the non-Inuit households and the individuals living full time in public institutions. A proportional stratification by village was used as the sampling method. A total of 677 Inuit households were randomly selected from Nunavik population lists and a total of 1527 individuals 15 years and older were contacted. In the present study, we used the 2-hour Holter data collected only among 280 adults 40 years and older. All the information used in this study was gathered on board of the research icebreaker «Amundsen». For this purpose, each participant was invited to fill out questionnaires and to attend one clinical evaluation. Each individual who accepted to participate in the survey provided a written informed consent. The study protocol was approved by the ethical committee of Laval University. Questionnaires were used to gather information regarding age, gender, smoking habits and alcohol consumption. During the clinical session, blood samples were collected and anthropometrics and physiologic measures were taken. As anthropometrics variables, we measured waist circumference (WC), which was obtained using a graduated tape when subjects were in a standing position (19).

HRV indices were derived from a 2-hour Holter monitoring. Indices from the time and the frequency domains were calculated. Time domain parameters include the median of all R-R intervals (NN), standard deviation of R-R intervals (SDNN), standard deviation of the average R-R intervals calculated over 5-minute periods (SDANN), the square root of the mean squared differences of successive R-R intervals (rMSSD) and the proportion of interval differences of successive R-R intervals > 50 ms (pNN50). rMSSD and pNN50 are indices of cardiac parasympathetic modulation. The analysis of the frequency domain included very low frequency (VLF= 0.0033-0.04 Hz), which may be an index of parasympathetic activity and neuroendocrine and thermogenesis stimulus, low frequency (LF= 0.04-0.15 Hz) which represents both sympathetic and parasympathetic activity, and high

frequency (HF= 0.15-0.40 Hz) which is an index of solely parasympathetic activity. The LF/HF ratio represents the sympatho-vagal balance (20, 21).

The determination of mercury and selenium (INSPQ method: M-557) was performed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The analysis of selenium was performed in whole blood while for mercury determination, samples were diluted 20 fold in a solution containing ammonium hydroxide before analysis. The detection limit for mercury is 0.5 nmol/l and for selenium is 0.1 μ mol/l. Biochemistry analyses were performed with the use of an Auto-analyzer Hitachi 917. Plasma glucose was measured enzymatically through a reaction with hexokinase. The measure of high-density lipoprotein (HDL-cholesterol), triglycerides and total-cholesterol was a direct measure based on the selective inhibition of the reaction with others proteins. Low-density lipoprotein (LDL-cholesterol) was calculated using the Friedewald's formula (22). The determination of insulin was performed with an Auto-analyzer Roche Modular analytics E170 (Elecsys module) using a commercial double-antibody radioimmunoassay. Insulin sensitivity was estimated from the HOMA model (Homeostasis model assessment) as fasting insulin x fasting glucose/22.5 (23). The fatty acid composition of the erythrocyte membranes was measured after membrane purification, chloroform / methanol lipid extraction (24) and methylation of fatty acids, followed by capillary gas-liquid chromatography using a DB-23 column (39 x 0.25 mm ID x 0.25 μ m thickness) in a HP-Packard GC chromatograph.

Statistical analyses: Owing to the sampling carried out during the «Qanuippitaa?» survey, all variables were weighted up using the bootstrap method. This permit to compensate for any distortion introduced by the sampling procedure and to generalize the results to the entire population of Nunavik. As an initial step, a descriptive statistic of all variables was carried out and geometric means are presented for variables which did not follow a normal distribution. The

relation between blood mercury levels and Holter parameters was analysed using Pearson correlation and Spearman coefficients were also reported to verify that parametric methods were adequate to study the relation between mercury and Holter parameters. $p < 0.05$ was considered of statistical significance. The influence of potential confounding factors was examined through multiple regressions. Variables associated with Holter parameters ($p < 0.2$) were included in the regression model and selected as confounders if their exclusion modulated the regression coefficient between mercury levels and Holter parameters by more than 10%. Squared partial correlation coefficients of variables retained in the final models were also calculated in order to determine which of them explained a significant proportion of the models variance. Final models were analysed to verify if the assumptions of a linear regression were respected. Thus, linearity, normality and homoscedasticity (variance stability) were examined plotting jackknife residuals versus predicted values of the dependent and independent variables. Collinearity between variables included in the final models were also analysed to avoid including in the same model two variables highly correlated.

Results

During the survey, 472 individuals 40 years and older were eligible for the study whereas 280 (59%) accepted to participate. For the statistical analyses, we excluded 69 individuals due to technical problems related to HRV (artefacts, bad connection, etc), 1 individual with blood mercury data not available, and 5 individuals that were not Inuit. The final sample included 205 individuals.

Characteristics of the participants are presented in Table 1. For variables not normally distributed, the geometric mean is reported. The mean age of the participants was 51.4 yr and the study sample included 85 men (mean age: 52.8 yr) and 120 women (mean age: 51.2 yr). Mercury did not follow a normal distribution and log-transformation was applied. The mean concentration of blood mercury was 133.2 nmol/L (27 µg/L) ranging from 2.4 to 760 nmol/L. Mercury blood

concentrations increased with age ($r= 0.35$; $p< 0.0001$) and were similar in women and men ($p= 0.63$).

Holter parameters are presented in Table 2. The distribution of all variables but NN and LF/HF ratio was skewed and log-transformations were applied. For these variables, geometric means are shown. The correlations between mercury and Holter parameters are presented in Table 3. Blood mercury concentration was weakly correlated with LF ($r= -0.18$; $p= 0.02$) and SDNN ($r= -0.14$; $p= 0.047$) while correlations with others HRV indices did not reach statistical significance.

The influence of possible confounding factors on the association between mercury and outcome variables was assessed using multiple regressions. The variables considered as potentially confounders were gender, age, waist circumference (WC), insulin sensitivity (HOMA-IR), LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, smoking habits, alcohol consumption, n-3 fatty acids [Docosahexanoic acid (DHA) and Eicosapentanoic acid (EPA)] and selenium. We decided to include the latter in the analyses since levels of selenium in this population are elevated (25) and it could counteract the toxic effect of mercury (26). The adjusted regression coefficients as well as the squared multiple correlation coefficients are presented in Table 3.

In multiple regression, the significant associations obtained in simple correlation for LF and SDNN became non significant after adjusting for confounding factors. We also calculated the squared partial correlation coefficients to determine which confounding factors included in the final models explained a significant proportion of the variance (Table 4). Insulin sensitivity (measured as HOMA-IR) explained a significant proportion of the variance in most models while age, explained a significant proportion of the variance only in LF, NN and LF/HF ratio models. Gender explained a significant proportion of the variance only in HF and LF/HF

ratio models while EPA explained only a small proportion of the variance in the SDANN model.

In final models, the analysis of the jackknife residuals showed that assumptions of the linear regression had been respected. Jackknife residuals were normally distributed and a homogeneous variance distribution (homoscedasticity) was observed. Linearity assumption was also respected in all models.

Discussion

This is the first study concerning HRV in adults exposed to MeHg through environmental background exposure and we did not find any significant association between mercury levels and HRV indices after adjusting for confounding factors.

Of note, 50% of the participants had mercury concentrations located in a zone considered at risk according to recommendations of Health Canada which is defined as mercury blood concentrations higher than 20 $\mu\text{g/L}$ (100 nmol/L) but lower than 100 $\mu\text{g/L}$ (500 nmol/L) (27). If compared with the latest study conducted in 1992 by Dewailly *et al.* (4), mercury concentration diminished for the same age group but still remains elevated (133 vs. 168 nmol/L in 1992) (28). The comparison with mercury levels obtained in other populations is difficult because we included only adults 40 years and older and available data concerning adults's exposure often include a wider range of age. Previous studies showing an impact of mercury on HRV have involved children exposed *in utero* (7, 10) and adults suffering from FMD (9). Indeed, changes in normal HRV were also detected in rats exposed to MeHg chloride (29).

In children exposed *in utero*, an effect of MeHg on HRV was detected in the Faroe Islands at 7 years-age (7) and this influence persisted when the same cohort was re-studied at 14 years (10). At 7 years, a diminution of HRV was found only in boys

with mercury concentrations in the range 1-10 $\mu\text{g/L}$ (5-50 nmol/L) whereas at 14 years, only a slight diminution of HRV was observed in this range of concentrations. However, a diminution in sympathetic and parasympathetic activities was observed in the sample ranging from 0.9 to 351 $\mu\text{g/L}$ (4.5-1755 nmol/L). Even when the results at 14 years are not similar to those obtained at 7 years, these results suggest a chronic influence of MeHg on HRV in children exposed *in utero*. The authors suggested that changes observed in HRV could be the result of an effect of MeHg on the brainstem nuclei that regulates HRV. Furthermore, evidence indicate that the developing brain in the prenatal period could be considerably more sensitive to the toxic effects of MeHg than the mature adult brain (30, 31). These aspects could explain the differences between our results and those obtained in Faroe Islands.

On the other hand, Oka *et al.* (9) evaluated the effect of mercury on HRV in 9 adults who were exposed *in utero* to high doses of MeHg following industrial contamination of the Minamata Bay (Japan). Individuals included in the study suffering from fetal Minamata disease (FMD), had lower NN and HF than controls. These results support that the cardiac autonomic activity may be vulnerable to MeHg toxicity during the prenatal period. In this population, most of the cases recorded were probably exposed both prenatally and postnatally due to the long-term contamination of fish in the Minamata Bay but this could not be confirmed (30).

We tried to minimize the confounding bias assessing the influence of most of the confounding factors described in the scientific literature. We also evaluated the possible confounding effect of nutrients such as n-3 fatty acids and selenium, which are of particular interest in Arctic populations. n-3 fatty acids can positively modulate HRV and this effect has been described mainly for DHA, which can diminish the heart rate (32, 33), prevent ventricular arrhythmias (34), and sudden death (35). These nutrients reach high levels in adults because they consume

more fish and marine mammals than children. This aspect constitutes an important difference between our population and children studied by other investigators (7, 10). The levels of DHA and EPA found in the Inuit of Nunavik are higher than those detected in Quebecers (25) and they increased linearly with mercury blood concentration ($r= 0.50$, $p< 0.0001$; $r= 0.60$, $p< 0.0001$ respectively). Also, these substances showed an important confounding effect in almost all models but only EPA explained a small proportion of the variance in the SDANN model. Selenium is another key nutrient of the traditional diet that was also extensively studied during the last decade. It is currently believed that selenium may exert an antagonist effect on mercury toxicity (26). The most important source of selenium among all traditional foods in Nunavik is the mattak (beluga whale skin) (36) which contains between 4 and 10 $\mu\text{g/g}$ of selenium (3). In our population, selenium blood level was elevated (4.40 $\mu\text{mol/L}$) if compared with those found in southern Quebec (28) and in children of the Faroe Island (37). Also, selenium levels increased with mercury blood concentrations ($r= 0.63$, $p< 0.0001$) and it was a confounder for some of the HRV models. These substances could protect this population from the deleterious effect of mercury on HRV but further studies are needed to verify this hypothesis.

Among other confounding variables included in the final models, insulin sensitivity (measured as HOMA-IR) explained a significant proportion of the variance in almost all HRV models. It is known that the autonomic nervous system is impaired in patients with diabetes. HRV diminishes with higher blood glucose concentrations, possibly due to an increase in the sympathetic activity (12, 38-40). Others variables such as age and gender explained a significant proportion of the variance in some models. It is known that HRV diminishes with age (41) and males are more at risk of a reduced HRV than females (42, 43).

The non-significant association found in our study could be explained by the fact that exposure to mercury during the adult life has no impact on HRV but it is also important to keep in mind some limitations of the study that could influence the

results. Data used in this study were collected as part of a general health survey and the sample size may not be appropriate to detect a significant association between mercury and HRV. Secondly, the participation rate to ambulatory electrocardiograms was not high (34.2%) and this could bias the results if individuals not included in the study have different profiles than those included in it. Although the weighting method used allows to minimize the bias due to non-response, we can not be sure of the absence of some residual bias since the proportion of non-response is high in this study. Among the main causes of refusing, some individuals which did not sign the informed consent (47%) and others with invalid Holter due to technical problems such as bad connections, artefacts, etc (26%). For the participants with invalid Holter, the available information concerning mercury concentration as well as socio-demographic and clinical variables allowed the comparison with participants included in the study. Both groups were comparables (data not shown) which indicates that exclusion of the participants with invalid Holter did not introduce a selection bias. Finally, the non-significant association could be biased if a parametric method such as linear regression is used while the relation between mercury and Holter parameters is not linear. We verified that Pearson and Spearman coefficients (non parametric method) were similar which indicates the appropriate use of a parametric method. Also, we verified if the final models respected the linear regression assumptions. Analysis of jackknife residuals indicate normality and homoscedacity of the residuals. In summary, our results showed that mercury is not associated with HRV in this adult population of Nunavik after taking into account confounding factors. Seeing that nutriment (n-3 fatty acids and selenium) had an important confounding effect, further studies we will carry out to investigate the role of nutrients (n-3 fatty acids and selenium) on HRV in this population.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank ArcticNet and the Northern Contaminants Program (NCP) of Indian and Northern Affairs of Canada for the financial support of this project. We also thank the participants to the survey, Claudette Fortin from Laval Hospital who analysed the electrocardiograms and Marie-Ludivine Château- Dégât for her useful comments.

References

1. Rapport de l'évaluation des contaminants dans l'Arctique Canadien-Phase II (RECAC II). 2003:83.
2. Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury--current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med* 2003;349:1731-7.
3. Arctic Monitoring Assessment Programme (AMAP). AMAP Assessment Report: Arctic Pollution Issues. Oslo, Norway: AMAP, 1998.
4. Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Lebel G, Levallois P, Weber JP. Exposure of the Inuit population of Nunavik (Arctic Quebec) to lead and mercury. *Arch Environ Health* 2001;56:350-7.
5. Leblanc A, Lapointe S, Beaudet A, et al. Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec. Institut National de Santé Publique du Québec. 2003:64.
6. Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P, et al. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;347:1747-54.
7. Sorensen N, Murata K, Budtz-Jorgensen E, Weihe P, Grandjean P. Prenatal methylmercury exposure as a cardiovascular risk factor at seven years of age. *Epidemiology* 1999;10:370-5.
8. Pedersen EB, Jorgensen ME, Pedersen MB, et al. Relationship between mercury in blood and 24-h ambulatory blood pressure in Greenlanders and Danes. *Am J Hypertens* 2005;18:612-8.
9. Oka T, Matsukura M, Okamoto M, et al. Autonomic nervous functions in fetal type Minamata disease patients: assessment of heart rate variability. *Tohoku J Exp Med* 2002;198:215-21.
10. Grandjean P, Murata K, Budtz-Jorgensen E, Weihe P. Cardiac autonomic activity in methylmercury neurotoxicity: 14-year follow-up of a Faroese birth cohort. *J Pediatr* 2004;144:169-76.
11. Makikallio TH, Huikuri HV, Makikallio A, et al. Prediction of sudden cardiac death by fractal analysis of heart rate variability in elderly subjects. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1395-402.

12. Kataoka M, Ito C, Sasaki H, Yamane K, Kohno N. Low heart rate variability is a risk factor for sudden cardiac death in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;64:51-8.
13. Galinier M, Pathak A, Fourcade J, et al. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2000;21:475-82.
14. La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, et al. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation* 2003;107:565-70.
15. Kruger C, Lahm T, Zugck C, et al. Heart rate variability enhances the prognostic value of established parameters in patients with congestive heart failure. *Z Kardiol* 2002;91:1003-12.
16. Seccareccia F, Pannozzo F, Dima F, et al. Heart rate as a predictor of mortality: the MATISS project. *Am J Public Health* 2001;91:1258-63.
17. Tsuji H, Larson MG, Venditti FJ, Jr., et al. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1996;94:2850-5.
18. Tsuji H, Venditti FJ, Jr., Manders ES, et al. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994;90:878-83.
19. Pouliot M, Despres J, Lemieux E, et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994;73:460-468.
20. Poirier P, Bogaty P, Philippon F, Garneau C, Fortin C, Dumesnil JG. Preclinical diabetic cardiomyopathy: relation of left ventricular diastolic dysfunction to cardiac autonomic neuropathy in men with uncomplicated well-controlled type 2 diabetes. *Metabolism* 2003;52:1056-61.
21. Poirier P, Hernandez TL, Weil KM, Shepard TJ, Eckel RH. Impact of diet-induced weight loss on the cardiac autonomic nervous system in severe obesity. *Obes Res* 2003;11:1040-7.

22. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
23. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
24. Dewailly E, Ayotte P, Blanchet C, et al. Weighing contaminant risks and nutrient benefits of country food in Nunavik. *Arctic Med Res* 1996;55 Suppl 1:13-9.
25. Dewailly E, Blanchet C, Lemieux S, et al. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease risk factors among the Inuit of Nunavik. *Am J Clin Nutr* 2001;74:464-73.
26. Chen C, Yu H, Zhao J, et al. The roles of serum selenium and selenoproteins on Mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environ Health Perspect* 2006;114:297-301.
27. Summary and conclusions of the sixty-first meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. JECFA/61/SC.20-22.20-22.
28. Dewailly E, Bruneau S, C. L, et al. The contaminants. Report of the Santé Québec Health Survey among the Inuit of Nunavik (1992). Montreal: Ministère de la Santé et des Services Sociaux, Gouvernement du Québec. 1994:73-107.
29. Arito H, Takahashi M. Effect of methyl mercury on sleep patterns in the rat. In: Suzuki T, Imura N, Clarkson TW, eds. *Advances in Mercury Toxicology*. New York: Plenum. 1991:381-394.
30. Grandjean P. Mercurial uncertainties in Environmental Health. *Annals New York Academy of sciences*:239-245.
31. International programme on chemical safety. Environmental Health criteria 101. Methylmercury. World Health Organization. Geneva 1990.

32. Grimsgaard S, Bonna KH, Hansen JB, Myhre ES. Effects of highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on hemodynamics in humans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:52-9.
33. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetiere P, et al. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 2003;108:820-5.
34. Schrepf R LT, Weber PC, Theisen K, Sellmayer A. Immediate effects of n-3 fatty acid infusion on the induction of sustained ventricular tachycardia. *Lancet* 2004;363:1441-1442.
35. Christensen JH, Skou HA, Fog L, et al. Marine n-3 fatty acids, wine intake, and heart rate variability in patients referred for coronary angiography. *Circulation* 2001;103:651-7.
36. Blanchet C, Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Receveur O, Holub B. Contribution of selected traditional and market food to Nunavik Inuit women's diet. *Can J Diet Prac Res* 2000;61:50-59.
37. Grandjean P, Weihe P, Jorgensen PJ, Clarkson T, Cernichiari E, Videro T. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Arch Environ Health* 1992;47:185-95.
38. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care* 2005;28:668-74.
39. Paolisso G, Manzella D, Rizzo MR, Barbieri M, Gambardella A, Varricchio M. Effects of glucose ingestion on cardiac autonomic nervous system in healthy centenarians: differences with aged subjects. *Eur J Clin Invest* 2000;30:277-84.
40. Singh JP, Larson MG, O'Donnell CJ, et al. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2000;86:309-12.
41. Soejima K, Akaishi M, Oyamada K, Meguro T, Mitamura H, Ogawa S. Influence of age on ambulatory electrocardiogram-derived heart rate variability. *Can J Cardiol* 1999;15:181-184.

42. Kuch B, Hense HW, Sinnreich R, et al. Determinants of short-period heart rate variability in the general population. *Cardiology* 2001;95:131-8.
43. Kupari M, Virolainen J, Koskinen P, Tikkanen MJ. Short-term heart rate variability and factors modifying the risk of coronary artery disease in a population sample. *Am J Cardiol* 1993;72:897-903.

Table 1. Characteristics of the participants

Variables	N	Mean	IC 95%	Range
Age (years)	205	51.4	51.1 - 53.7	40 - 73
Gender (%)	205			
Female		120 (58.6%)		
Male		85 (41.5%)		
Mercury (nmol/L)*	205	97.8	87.5 - 109.4	2.4 - 760.0
Fasting insulin (pmol/L)*	203	50.4	45.1 - 56.4	13.0 - 448.0
Fasting glucose (mmol/L)*	202	4.7	4.6 - 4.8	2.8 - 15.1
Homa-IR *	201	10.7	9.6 - 12.0	1.9 - 244.3
Total-Cholesterol (mmol/L)	202	5.4	5.2 - 5.5	3.3 - 8.2
LDL-Cholesterol (mmol/L)	202	3.0	2.9 - 3.1	0.7 - 6.1
HDL-Cholesterol (mmol/L)	202	1.7	1.6 - 1.8	0.8 - 4.3
Triglycerides (mmol/L)*	202	1.1	1.0 - 1.2	0.3 - 5.5
EPA (% fatty acids)*	205	2.12	1.96 - 2.29	0.50 - 7.27
DHA (% fatty acids)	205	6.65	6.42 - 6.87	1.56 - 10.09
Selenium (μ mol/L)*	203	4.39	4.09 - 4.70	1.5 - 23.0
WC (cm)	204	95.0	93.0 - 97.0	66.0 - 136.0
Smoking habits (%)	198			
Daily smoker		116 (59.0%)		
Occasionally		7 (3.5%)		
Not at all		75 (37.9%)		
Alcohol consumption (%)	139			
Daily		1 (0.7%)		
3-6 times / week		9 (6.5%)		
1-2 times / week		28 (20.1%)		
1-3 times / month		26 (18.7%)		
<1 time / month		47 (33.8%)		
never		28 (20.1%)		

*log-transformed variables are presented as geometric mean; Homa-IR: insulin sensitivity; EPA: Eicosapentanoic acid; DHA: Docosahexanoic acid; WC: Waist circumference; LDL-cholesterol: Low density lipoprotein; HDL-cholesterol: high density lipoprotein

Table 2. Time and frequency domains parameters

Outcome variables	Mean	IC 95%	Range
VLF (ms ²)*	707 / 6.4 †	643 - 777	45 - 5999
LF (ms ²)*	390 / 6.0 †	347 - 438	16 - 6596
HF (ms ²)*	143 / 4.9 †	127 - 161	16 - 2329
LF/HF	3.1	2.9 - 3.3	0.4 - 13.0
NN (ms)	818	802 - 834	557 - 1167
SDNN (ms)*	77	73 - 80	24 - 226
SDANN (ms)*	48	45 - 50	12 - 189
rMSSD (ms)*	28	27 - 30	12 - 93
pNN50 (%)*	5	4.6 - 6.3	0 - 57

* log-transformed variables are presented as geometric mean; † for VLF, LF and HF the Log mean is also shown.

Table 3. Simple regression and multiple regression between mercury and Holter parameters

Outcome variables	Mercury (nmol/L) ^ψ			
	Simple correlation		Multiple regression	
	r Pearson	r Spearman	adjusted β	R ² model
VLF (ms ²) ^{ψ a}	-0.13	-0.05	-0.07	0.10**
LF (ms ²) ^{ψ b}	-0.18*	-0.07	-0.09	0.22***
HF (ms ²) ^{ψ c}	-0.11	-0.01	-0.06	0.14**
LF/HF ^d	-0.10	-0.13	0.02	0.21***
NN (ms) ^e	0.04	0.07	-5.60	0.15***
SDNN (ms) ^{ψ f}	-0.14*	-0.09	-0.04	0.10**
SDANN (ms) ^{ψ g}	-0.09	-0.04	-0.06	0.11**
rMSSD (ms) ^{ψ h}	-0.11	-0.05	-0.03	0.07**
pNN50 (%) ^{ψ i}	-0.11	-0.06	-0.12	0.13**

* p< 0.05; ** p< 0.01; *** p< 0.0001

^ψ log-transformed variables

a: model adjusted for selenium, triglycerides, age, DHA, gender and homa-IR

b: model adjusted for selenium, smoking, DHA, WC, homa-IR and age

c: model adjusted for smoking, Selenium, triglycerides, EPA, DHA, homa-IR, HDL, gender

d: model adjusted for alcohol, DHA, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol, age and gender

e: model adjusted for alcohol, homa-IR and age

f: model adjusted for selenium, EPA and homa-IR

g: model adjusted for DHA, selenium, triglycerides, EPA and homa-IR

h: model adjusted for EPA, DHA and homa-IR

i: model adjusted for alcohol, homa-IR, DHA, age and WC

Table 4. Partial correlation coefficients

Outcome variables	Independent variables	Partial R² (%)	p-value
VLF (ms ²)*	Mercury *	1.17	0.45
	Homa-IR	4.20	0.0041
LF (ms ²)*	Mercury *	2.16	0.50
	Homa-IR	2.17	0.04
	age	8.22	<0.0001
HF (ms ²)*	Mercury *	0.79	0.58
	Homa-IR	3.46	0.004
	Gender	2.70	0.022
LF/HF	Mercury *	1.11	0.91
	Age	2.80	0.0003
	Gender	10.64	<0.0001
NN (ms)	Mercury *	0.37	0.64
	Age	9.54	<0.0001
	Homa-IR	1.43	0.02
SDNN (ms)*	Mercury *	1.46	0.37
	Homa-IR	7.89	<0.0001
SDANN (ms)*	Mercury *	0.66	0.27
	Homa-IR	3.57	0.0080
	EPA	1.84	0.04
rMSSD (ms)*	Mercury *	1.27	0.46
	Homa-IR	5.51	0.0007
pNN50 (%)*	Mercury *	0.83	0.37

In this table, we present only the confounding factors that explain a significant proportion of the variance.

*log-transformed variables; Homa-IR: Insulin sensitivity; EPA: Eicosapentanoic acid

6.0 Discussion

Les résultats obtenus dans la présente étude ne supportent pas une influence du mercure sur la variabilité cardiaque. Bien que les concentrations sanguines de MeHg détectées soient élevées, les associations entre le mercure et les paramètres de la variabilité cardiaque n'ont pas atteint le seuil de signification après le contrôle des facteurs confondants.

En regardant la distribution de la concentration sanguine de mercure, on constate que 50% des individus qui ont participé à cette étude avaient des niveaux excédant la concentration admissible recommandée par Santé Canada (23). Ces concentrations, même si elles demeurent encore élevées, ont légèrement diminué par rapport au 1992 pour le même groupe d'âge (20). Malheureusement, la comparaison avec d'autres populations devient difficile puisque nous avons inclus seulement les adultes de 40 ans et plus et généralement les données provenant d'autres populations réfèrent à des groupes d'âge plus larges.

L'effet du mercure sur la variabilité cardiaque chez les adultes n'avait pas été étudié jusqu'à présent. Des évidences suggérant un tel effet chez l'humain ont été soulevées à partir d'études conduites chez des enfants exposés *in utero*. Cela pourrait expliquer les différences entre les résultats obtenus dans la présente étude et ceux des études antérieures. Dans l'étude de cohorte conduite chez des enfants aux Îles Féroé (2, 4), une diminution de la variabilité cardiaque à l'âge de 7 ans et 14 ans en fonction de la concentration de MeHg dans le cordon ombilical a été observée. Cette étude a apporté des pistes intéressantes concernant l'effet du mercure sur le SNA. À l'âge de 7 ans (n= 913), une relation non-linéaire entre le mercure et le coefficient de variation de l'intervalle R-R a été observée. Une diminution significative de la variabilité cardiaque (47%) a été observée seulement dans la plage de concentrations entre 1 et 10 µg/L (5-50 nmol/L) (4). À l'âge de 14 ans (n= 878), des associations significatives n'ont pas été observées dans cet

intervalle de concentrations mais une diminution de la variabilité cardiaque a été quand même constatée pour toute la plage de concentrations (0.9-351 µg/L) (4.5-1755 nmol/L) (2). Cependant, dans cette étude des facteurs potentiellement confondants comme des oméga-3 n'ont pas été contrôlés. Cela est un aspect important puisque les niveaux d'oméga-3 sont élevés aux Îles Féroé étant donné que c'est une population qui consomme beaucoup d'aliments marins. Dans une étude conduite chez 62 femmes enceintes, les concentrations moyennes de DHA (5,87% d'acides gras) et d'EPA (0,83% d'acides gras) étaient similaires à celles détectées dans notre étude malgré le fait qu'aux Îles Féroé, la population d'étude était plus jeune (âge moyen : 26.3 ans) (87). De plus, les oméga-3 traversent la barrière placentaire et ils ont un rôle important dans la formation du système nerveux pendant la période prénatale (88).

Chez des animaux, une étude a rapporté des anomalies dans le rythme cardiaque suite à l'administration de chlorure de MeHg (48). Néanmoins, ces résultats doivent être analysés avec précaution puisque l'espérance de vie dans les laboratoires est souvent courte et les effets à long terme d'une substance sont difficiles à étudier.

Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus chez les enfants des Îles Féroé. En fait, il est difficile d'appliquer les résultats obtenus chez des enfants aux adultes (22). Nous croyions possible de trouver un effet du mercure sur la variabilité cardiaque vu les niveaux élevés de mercure dans la population du Nunavik. Néanmoins, comme décrit auparavant (22), le système nerveux semble être plus susceptible à l'effet du mercure pendant la période prénatale. De plus, la population impliquée dans cette étude présente d'autres caractéristiques associées à la VC. Dans cette population, les différents indices de variabilité cardiaque ont été principalement déterminés par la résistance à l'insuline tandis que l'âge et le sexe ont expliqué une proportion significative de la variance dans quelques modèles. Chez les patients diabétiques, le SNA peut être affecté surtout à cause d'une augmentation de l'activité sympathique. Une diminution de la VC a

été détectée en présence de concentrations élevées d'insuline et de glucose (68-73). Il est connu aussi que la variabilité cardiaque diminue avec l'âge. En évaluant le comportement de la variabilité cardiaque par groupe d'âge, Soejima *et al.* (89) ont trouvé que les individus de plus de 40 ans avaient une VC diminuée par rapport aux individus plus jeunes. Le sexe est un autre facteur qui a été décrit comme prédicteur de la VC; les hommes sont plus à risque d'avoir une VC réduite (64, 65).

Nous avons aussi proposé que les nutriments présents dans les aliments traditionnels comme les oméga-3 et le sélénium pourraient protéger cette population de l'effet délétère du mercure. Nous appuyons notre hypothèse sur le fait que les niveaux de ces nutriments sont élevés chez les Inuit du Nunavik par rapport aux populations du sud du Québec et que des effets protecteurs sur le système cardio-vasculaire ont été décrits précédemment. Les acides gras poly-insaturés oméga-3 peuvent diminuer le rythme cardiaque (12, 13) et prévenir la fibrillation ventriculaire (58), qui constitue la principale cause de mort subite (54). Le sélénium joue un rôle antioxydant important, faisant partie de la glutathion peroxydase, enzyme qui permet l'inactivation des radicaux libres (17, 18). Les oméga-3 (DHA et EPA) ont eu un effet confondant pour la plupart des modèles. Par exemple, le DHA a été un facteur confondant pour l'association entre le mercure et le rMSSD, le ratio LF/HF, la SDANN, le pNN50, la VLF, la LF et la HF alors que l'EPA l'a été pour l'association entre le mercure et le rMSSD, le NN, la SDNN, la SDANN et la HF. Le sélénium, par sa part, a eu un effet confondant pour le modèle de la SDNN, la SDANN, la VLF, la LF et la HF. Cependant, ces facteurs n'expliquent pas une proportion significative de la variance que dans le cas de la SDANN où l'EPA a expliqué 1,84% de la variance ($p= 0,043$). Dans cette étude, nous avons aussi observé que tant les oméga-3 (DHA et EPA) que le sélénium sont corrélés positivement avec le mercure [$r= 0,50$ ($p< 0,0001$); $r= 0,60$ ($p< 0,0001$) et $r= 0,63$ ($p< 0,0001$) respectivement] mais ces évidences ne sont pas suffisantes pour démontrer un effet protecteur de ces substances sur la VC.

Biais et limites de l'étude

Dans les études épidémiologiques, le contrôle de tous les biais est une question parfois difficile. Dans la présente étude, nous avons réussi à éviter certains d'entre eux mais il existe toujours la possibilité de quelques biais résiduels.

Le problème principal des enquêtes transversales porte sur le fait que la relation temporelle entre le facteur de risque étudié et la maladie peut être difficile à établir puisqu'il est impossible de connaître lequel précède l'autre. Dans le cas des études transversales à visée étiologique, l'association entre l'exposition et l'issue de santé est étudiée à un moment précis mais ce devis d'étude est quand même approprié si l'exposition antérieure est connue ou si la mesure d'exposition actuelle peut être considérée comme un bon reflet de l'exposition passée. Dans cette étude, l'exposition au mercure peut être considérée stable pendant les deux mois précédant la collecte des données puisque la demi-vie du mercure dans l'organisme est d'environ 50 jours. Au Nunavik, chez un échantillon de 211 femmes en âge de procréer, les concentrations de mercure ont été mesurées dans les cheveux au premier, deuxième et troisième trimestre de la grossesse. Les corrélations significatives obtenues entre le premier et deuxième trimestre ($r= 0.85$; $p< 0.01$) et le premier et le troisième trimestre ($r= 0.69$; $p< 0.01$) montrent que l'exposition au mercure est relativement constante pendant la grossesse. Cette information nous aide à avoir une idée des variations saisonnières de l'exposition au mercure dans cette population même si ce n'est pas exactement le même groupe d'âge.

La VC est aussi mesurée à un moment donné et il est difficile de savoir si les modifications observées sont permanentes ou transitoires. La mesure de la VC peut changer en quelques semaines, surtout à la suite d'un infarctus du myocarde. Toutefois, chez les individus en bonne santé, la VC ne devrait pas beaucoup fluctuer (90), ce qui est le cas de la population étudiée ici.

D'ailleurs, malgré le fait que dans les études transversales la temporalité entre l'exposition et l'issue de santé soit difficile à établir, il est plus probable que le mercure influence la VC que le contraire. De plus, ces deux paramètres ne sont pas sous le contrôle direct des individus ce qui diminue le risque de biais d'information.

À cause du type d'échantillonnage effectué dans cette étude, les résultats obtenus ont été pondérés en utilisant la méthode «bootstrap». La pondération permet de généraliser les résultats à toute la population du Nunavik de 40 ans et plus et, de cette façon, assurer la représentativité de l'échantillon. Le taux de collaboration à la section des électrocardiogrammes de type Holter a été de 44%. Cependant, dû au fait que l'échantillonnage a été effectué par ménages, il faut multiplier ce taux de collaboration par le taux de réponse au questionnaire ménage (77.8%) afin d'obtenir le taux de réponse spécifique à la section de la mesure de la variabilité cardiaque (34,2%). Le taux de réponse relativement faible pourrait conduire à un risque potentiel de biais de sélection si les individus qui n'ont pas participé à l'étude diffèrent de ceux inclus dans les analyses. Ce type de biais est difficile à vérifier. Néanmoins, en utilisant la pondération, il est possible de minimiser le biais dû à la non-réponse. L'ajustement pour la non-réponse consiste à redresser l'échantillon des répondants par une modification de la pondération afin de le rendre, dans la mesure du possible, semblable à l'échantillon initial. Cependant, étant donné que le taux de non-réponse a été élevé dans cette étude, il pourrait exister encore un risque de biais résiduel. Parmi les causes de non-réponse, on trouve principalement des individus qui n'ont pas signé le formulaire de consentement (47%) et des enregistrements non-valides à cause de mauvaises connections des fils ou de cassettes dysfonctionnelles (26%). Dans la plupart des cas, l'information concernant les individus qui n'ont pas participé à l'étude n'est pas disponible ce qui empêche de faire la comparaison avec ceux inclus dans les analyses. Néanmoins, pour les individus dont l'enregistrement n'a pas été valide, nous disposons de l'information concernant toutes les autres variables. Afin de savoir si l'exclusion de ces individus biaisait les résultats, des comparaisons ont

été faites et aucune différence significative n'a été constatée entre les deux groupes. Donc, l'exclusion de ces individus ne semble pas avoir influencé les résultats obtenus dans cette étude.

L'utilisation d'une méthode statistique non appropriée est un autre aspect qui pourrait biaiser les résultats. Dans notre cas, nous avons utilisé la régression linéaire qui assume un comportement linéaire entre la variable dépendante et indépendante. Les associations non significatives détectées pourraient être biaisées si la relation n'est pas linéaire où que d'autres postulats tels que l'indépendance des données, l'homogénéité de la variance et la normalité des résidus ne sont pas respectés. Le postulat de l'indépendance de données a été respecté puisqu'il s'agit des mesures qui ont été prises individuellement. Pour ce qui est des autres postulats, ils ont été vérifiés dans les modèles finaux en utilisant des graphiques des résidus jackknife versus les valeurs prédites de la variable dépendante, indépendante et les co-variables. Nous avons constaté que les résidus suivaient la normalité, la linéarité et l'homoscedasticité. Donc, nous assumons que l'utilisation d'une méthode d'analyse paramétrique comme la régression linéaire a été adéquate dans cette étude.

D'ailleurs, la méthode de collecte des données est un aspect important dont il faut tenir compte dans les études épidémiologiques parce qu'elle peut influencer sur la qualité de l'information recueillie. Dans cette étude, nous ne pensons pas être confrontés à ce type de biais mais nous discuterons brièvement les méthodes utilisées pour la mesure des variables de l'étude.

L'exposition au mercure a été déterminée en mesurant sa concentration sanguine, ce qui constitue un bon marqueur d'exposition récente (91, 92). La méthode de laboratoire utilisée pour la détermination du mercure total a été préalablement validée et c'est une méthode couramment utilisée au Laboratoire de Toxicologie de l'INSPQ. Ceci a été crédité ISO 17025 par le Conseil Standard du Canada. Ce

laboratoire participe à un programme de contrôle de la qualité dans le cadre du Programme de lutte contre les contaminants dans le Nord (PLCN) ainsi qu'au programme de comparaison inter-laboratoire des centres de toxicologie.

Les variables dépendantes ont été recueillies en utilisant des électrocardiogrammes ambulatoires de type Holter. Celle-ci est une méthode non-invasive et reproductible utilisée pour étudier l'activité autonome cardiaque (45). En comparant cette dernière avec l'électrocardiogramme conventionnel, le Holter ambulatoire permet d'obtenir une mesure de l'activité autonome cardiaque qui n'est pas influencée par l'effet placebo (93). Pendant l'évaluation électrocardiographique, l'individu suit des activités de routine ce qui permet d'obtenir un meilleur aperçu de l'activité sympathique et parasympathique. D'ailleurs, les résultats obtenus avec le Holter appliqué pendant 2 à 15 minutes sont similaires à ceux obtenus avec le Holter de 24 heures (94, 95). Cependant, le Holter d'une durée de 2 heures donne la possibilité d'obtenir beaucoup plus d'intervalles R-R que le Holter appliqué pendant 2 à 15 minutes, ce qui aide à obtenir une mesure fiable de la VC. Les données utilisées dans cette étude ont été analysées à l'Hôpital Laval par une technicienne qui n'avait pas accès aux informations concernant les individus, incluant le niveau d'exposition au mercure. À cet effet, seulement le numéro d'identification a été fourni avec les cassettes.

Concernant les variables de contrôle, plusieurs d'entre elles comme l'âge, le sexe, la consommation de tabac et d'alcool, ont été collectées en utilisant des questionnaires rédigés en anglais et en inuktitut afin d'assurer la bonne compréhension des participants. Les questionnaires utilisés dans l'enquête «Qanuippitaa?» ont été adaptés à ceux utilisés pendant l'enquête «Santé Québec auprès des Inuit du Nunavik» en 1992. Avant de conduire l'enquête en 2004, les questionnaires ont subi deux pré-tests afin d'être validés.

La mesure du tour de taille a été prise par des infirmières qualifiées en respectant les méthodes standard décrites dans le protocole de l'étude. Nous avons choisi cette variable pour mesurer l'obésité puisque l'indice de masse corporelle (IMC), couramment utilisé, peut surestimer la mesure d'obésité dans cette population (96). Les Inuit ont les jambes plus courtes que les individus d'origine caucasienne (97) et cela affecte le calcul de l'IMC (98-100). De plus, le tour de taille prédit mieux l'obésité abdominale que l'IMC (81) et est facilement mesurable ce qui diminue la possibilité d'erreurs.

Le biais de confusion est un autre aspect important à analyser dans les études épidémiologiques. Cependant, il est difficile de contrôler tous les facteurs confondants et on ne peut pas assurer que l'existence d'une confusion résiduelle ne puisse affecter les résultats. Dans notre cas, nous avons tenu compte de la plupart des facteurs qui peuvent influencer les paramètres du Holter et nous avons ajusté pour ceux qui changeaient le coefficient de régression de 10% ou plus. Nous avons évalué aussi l'influence des oméga-3 et du sélénium, nutriments d'importance particulière pour les populations de l'Arctique. Néanmoins, le contrôle de facteurs comme l'activité physique et la consommation de médicaments anti-hypertenseurs n'a pas été possible à cause d'une proportion élevée de valeurs manquantes.

7.0 Conclusion générale

Le mercure n'a pas été associé à la VC dans la population inuite du Nunavik. Parmi les facteurs confondants retenus dans les modèles finaux; l'âge, le sexe et la résistance à l'insuline (mesurée à l'aide de l'indice HOMA-IR) sont les variables qui ont expliqué une proportion significative de la variance dans certains des modèles. Les nutriments présents dans les poissons et les mammifères marins comme les oméga-3 (DHA et EPA) et le sélénium ont un effet confondant important dans cette étude. Cependant, les évidences dont nous disposons présentement ne permettent pas de supporter hors de toute doute que ces derniers protègent les Inuit du Nunavik de l'effet du mercure sur la VC. Prochainement des analyses plus approfondies seront menées afin d'investiguer le rôle de ces nutriments dans la VC.

8.0 Références bibliographiques

1. Rapport de l'évaluation des contaminants dans l'Arctique Canadien-Phase II (RECAC II). 2003:83.
2. Grandjean P, Murata K, Budtz-Jorgensen E, Weihe P. Cardiac autonomic activity in methylmercury neurotoxicity: 14-year follow-up of a Faroese birth cohort. *J Pediatr* 2004;144:169-76.
3. Oka T, Matsukura M, Okamoto M, et al. Autonomic nervous functions in fetal type Minamata disease patients: assessment of heart rate variability. *Tohoku J Exp Med* 2002;198:215-21.
4. Sorensen N, Murata K, Budtz-Jorgensen E, Weihe P, Grandjean P. Prenatal methylmercury exposure as a cardiovascular risk factor at seven years of age. *Epidemiology* 1999;10:370-5.
5. Valère PE, Gryman R, Lehner JP, Coatantiec G. *Dictionnaire de cardiologie* 1986:169-171.
6. Kataoka M, Ito C, Sasaki H, Yamane K, Kohno N. Low heart rate variability is a risk factor for sudden cardiac death in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;64:51-8.
7. Galinier M, Pathak A, Fourcade J, et al. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2000;21:475-82.
8. La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, et al. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation* 2003;107:565-70.
9. Kruger C, Lahm T, Zugck C, et al. Heart rate variability enhances the prognostic value of established parameters in patients with congestive heart failure. *Z Kardiol* 2002;91:1003-12.
10. Makikallio TH, Huikuri HV, Makikallio A, et al. Prediction of sudden cardiac death by fractal analysis of heart rate variability in elderly subjects. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1395-402.

11. Seccareccia F, Pannozzo F, Dima F, et al. Heart rate as a predictor of mortality: the MATISS project. *Am J Public Health* 2001;91:1258-63.
12. Grimsgaard S, Bonna KH, Hansen JB, Myhre ES. Effects of highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on hemodynamics in humans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:52-9.
13. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetiere P, et al. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 2003;108:820-5.
14. Christensen JH, Toft E, Christensen MS, Schmidt EB. Heart rate variability and plasma lipids in men with and without ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1999;145:181-6.
15. Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P, et al. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;347:1747-54.
16. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssonen K, Lakka TA, Salonen JT. Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Circulation* 2000;102:2677-9.
17. Toufektsian MC, Boucher F, Pucheu S, et al. Effects of selenium deficiency on the response of cardiac tissue to ischemia and reperfusion. *Toxicology* 2000;148:125-32.
18. Chen C, Yu H, Zhao J, et al. The roles of serum selenium and selenoproteins on Mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environ Health Perspect* 2006;114:297-301.
19. Wheatley B, Paradis S. Exposure of canadian aboriginal peoples to methylmercury. *Water Air Soil Pollution*. 1995;80:3-11.
20. Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Lebel G, Levallois P, Weber JP. Exposure of the Inuit population of Nunavik (Arctic Quebec) to lead and mercury. *Arch Environ Health* 2001;56:350-7.
21. Laliberté C, Dewailly É, Gringras S, et al. Mercury contamination in fishermen of the lower North Shore of the Gulf of St-Lawrence (Québec, Canada). In Vernet JP (Ed). *Impact of heavy metals in the environment*. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier Press. 1992:15-28.

22. International programme on chemical safety. Environmental Health criteria 101. Methylmercury. World Health Organization. Geneva 1990.
23. Summary and conclusions of the sixty-first meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. JECFA/61/SC.20-22.20-22.
24. Leblanc A, Lapointe S, Beaudet A, et al. Étude sur l'établissement de valeurs de référence d'éléments traces et de métaux dans le sang, le sérum et l'urine de la population de la grande région de Québec. Institut National de Santé Publique du Québec. 2003:64.
25. Kingman A, Albertini T, Brown LJ. Mercury concentrations in urine and whole blood associated with amalgam exposure in a US military population. *J Dent Res* 1998;77:461-71.
26. Grandjean P, Weihe P, Jorgensen PJ, Clarkson T, Cernichiari E, Videro T. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Arch Environ Health* 1992;47:185-95.
27. Pedersen EB, Jorgensen ME, Pedersen MB, et al. Relationship between mercury in blood and 24-h ambulatory blood pressure in Greenlanders and Danes. *Am J Hypertens* 2005;18:612-8.
28. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: Part 1: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern Med Rev* 2002;7:456-71.
29. Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury--current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med* 2003;349:1731-7.
30. Cernichiari E, Brewer R, Myers GJ, et al. Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicology* 1995;16:705-10.
31. Kerper LE, Ballatori N, Clarkson TW. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am J Physiol* 1992;262:R761-5.
32. Muckle G, Dewailly E, Ayotte P. Prenatal exposure of Canadian children to polychlorinated biphenyls and mercury. *Can J Public Health* 1998;89 Suppl 1:S20-5, 22-7.

33. Amin-Zaki L, Elhassani S, Majeed MA, Clarkson TW, Doherty RA, Greenwood M. Intra-uterine methylmercury poisoning in Iraq. *Pediatrics* 1974;54:587-95.
34. Salonen JT, Seppanen K, Lakka TA, Salonen R, Kaplan GA. Mercury accumulation and accelerated progression of carotid atherosclerosis: a population-based prospective 4-year follow-up study in men in eastern Finland. *Atherosclerosis* 2000;148:265-73.
35. Salonen JT, Seppanen K, Nyyssonen K, et al. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. *Circulation* 1995;91:645-55.
36. Ganther HE. Interactions of vitamin E and selenium with mercury and silver. *Ann N Y Acad Sci* 1980;355:212-26.
37. Welsh SO. The protective effect of vitamin E and N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) against methyl mercury toxicity in the rat. *J Nutr* 1979;109:1673-81.
38. Jansson G, Harms-Ringdahl M. Stimulating effects of mercuric- and silver ions on the superoxide anion production in human polymorphonuclear leukocytes. *Free Radic Res Commun* 1993;18:87-98.
39. Divine KK, Ayala-Fierro F, Barber DS, Carter DE. Glutathione, albumin, cysteine, and cys-gly effects on toxicity and accumulation of mercuric chloride in LLC-PK1 cells. *J Toxicol Environ Health A* 1999;57:489-505.
40. Cheng JP, Yang YC, Hu WX, et al. Effect of methylmercury on some neurotransmitters and oxidative damage of rats. *J Environ Sci (China)* 2005;17:469-73.
41. Kurata Y, Hisatome I, Tsuboi M, et al. Effect of sulfhydryl oxidoreduction on permeability of cardiac tetrodotoxin-insensitive sodium channel. *Life Sci* 1998;63:1023-35.
42. Hisatome I, Kurata Y, Sasaki N, et al. Block of sodium channels by divalent mercury: role of specific cysteinyl residues in the P-loop region. *Biophys J* 2000;79:1336-45.

43. Anner BM, Moosmayer M, Imesch E. Mercury blocks Na-K-ATPase by a ligand-dependent and reversible mechanism. *Am J Physiol* 1992;262:F830-6.
44. Moreira CM, Oliveira EM, Bonan CD, Sarkis JJ, Vassallo DV. Effects of mercury on myosin ATPase in the ventricular myocardium of the rat. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003;135C:269-75.
45. Sztajzel J. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *Swiss Med Wkly* 2004;134:514-22.
46. Tsuji H, Venditti FJ, Jr., Manders ES, et al. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994;90:878-83.
47. Tsuji H, Larson MG, Venditti FJ, Jr., et al. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1996;94:2850-5.
48. Arito H, Takahashi M. Effect of methyl mercury on sleep patterns in the rat. In: Suzuki T, Imura N, Clarkson TW, eds. *Advances in Mercury Toxicology*. New York: Plenum. 1991:381-394.
49. Budtz-Jorgensen E, Grandjean P, Jorgensen PJ, Weihe P, Keiding N. Association between mercury concentrations in blood and hair in methylmercury-exposed subjects at different ages. *Environ Res* 2004;95:385-93.
50. Christensen JH, Christensen MS, Dyerberg J, Schmidt EB. Heart rate variability and fatty acid content of blood cell membranes: a dose-response study with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1999;70:331-7.
51. Siscovick DS, Raghunathan T, King I, et al. Dietary intake of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Clin Nutr* 2000;71:208S-12S.
52. Mozaffarian D, Lemaitre RN, Kuller LH, Burke GL, Tracy RP, Siscovick DS. Cardiac benefits of fish consumption may depend on the type of fish meal consumed: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2003;107:1372-7.

53. Hallgren CG, Hallmans G, Jansson JH, et al. Markers of high fish intake are associated with decreased risk of a first myocardial infarction. *Br J Nutr* 2001;86:397-404.
54. Christensen JH, Skou HA, Fog L, et al. Marine n-3 fatty acids, wine intake, and heart rate variability in patients referred for coronary angiography. *Circulation* 2001;103:651-7.
55. Holguin F, Tellez-Rojo MM, Lazo M, et al. Cardiac autonomic changes associated with fish oil vs soy oil supplementation in the elderly. *Chest* 2005;127:1102-7.
56. Villa B, Calabresi L, Chiesa G, Rise P, Galli C, Sirtori CR. Omega-3 fatty acid ethyl esters increase heart rate variability in patients with coronary disease. *Pharmacol Res* 2002;45:475.
57. Mori TA, Bao DQ, Burke V, Puddey IB, Beilin LJ. Docosahexaenoic acid but not eicosapentaenoic acid lowers ambulatory blood pressure and heart rate in humans. *Hypertension* 1999;34:253-60.
58. Schrepf R LT, Weber PC, Theisen K, Sellmayer A. Immediate effects of n-3 fatty acid infusion on the induction of sustained ventricular tachycardia. *Lancet* 2004;363:1441-1442.
59. Dewailly E, Blanchet C, Lemieux S, et al. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease risk factors among the Inuit of Nunavik. *Am J Clin Nutr* 2001;74:464-73.
60. Dewailly E, Blanchet C, Gingras S, et al. Relations between n-3 fatty acid status and cardiovascular disease risk factors among Quebecers. *Am J Clin Nutr* 2001;74:603-11.
61. Blanchet C, Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Receveur O, Holub B. Contribution of selected traditional and market food to Nunavik Inuit women's diet. *Can J Diet Prac Res* 2000;61:50-59.
62. Tomiyama H, Hashimoto H, Hirayama Y, et al. Synergistic acceleration of arterial stiffening in the presence of raised blood pressure and raised plasma glucose. *Hypertension* 2006;47:180-8.

63. Dewailly E, Bruneau S, C. L, et al. The contaminants. Report of the Santé Québec Health Survey among the Inuit of Nunavik (1992). Montreal: Ministère de la Santé et des Services Sociaux, Gouvernement du Québec. 1994:73-107.
64. Kuch B, Hense HW, Sinnreich R, et al. Determinants of short-period heart rate variability in the general population. *Cardiology* 2001;95:131-8.
65. Kupari M, Virolainen J, Koskinen P, Tikkanen MJ. Short-term heart rate variability and factors modifying the risk of coronary artery disease in a population sample. *Am J Cardiol* 1993;72:897-903.
66. Antelmi I, de Paula RS, Shinzato AR, Peres CA, Mansur AJ, Grupi CJ. Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *Am J Cardiol* 2004;93:381-5.
67. Kim JA, Park YG, Cho KH, et al. Heart rate variability and obesity indices: emphasis on the response to noise and standing. *J Am Board Fam Pract* 2005;18:97-103.
68. Poirier P, Hernandez TL, Weil KM, Shepard TJ, Eckel RH. Impact of diet-induced weight loss on the cardiac autonomic nervous system in severe obesity. *Obes Res* 2003;11:1040-7.
69. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care* 2005;28:668-74.
70. Paolisso G, Manzella D, Rizzo MR, Barbieri M, Gambardella A, Varricchio M. Effects of glucose ingestion on cardiac autonomic nervous system in healthy centenarians: differences with aged subjects. *Eur J Clin Invest* 2000;30:277-84.
71. Singh JP, Larson MG, O'Donnell CJ, et al. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2000;86:309-12.

72. Muscelli E, Emdin M, Natali A, et al. Autonomic and hemodynamic responses to insulin in lean and obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2084-90.
73. Emdin M, Gastaldelli A, Muscelli E, et al. Hyperinsulinemia and autonomic nervous system dysfunction in obesity: effects of weight loss. *Circulation* 2001;103:513-9.
74. de Divitiis M, Rubba P. Cholesterol-lowering and vascular reactivity in relation to coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999;9:133-42.
75. Bennett AJ, Sponberg AC, Graham T, Suomi SJ, Higley JD, DePetrillo PB. Initial ethanol exposure results in decreased heart rate variability in ethanol-naive rhesus monkeys. *Eur J Pharmacol* 2001;433:169-72.
76. Koskinen P, Virolainen J, Kupari M. Acute alcohol intake decreases short-term heart rate variability in healthy subjects. *Clin Sci (Lond)* 1994;87:225-30.
77. Flanagan DE, Pratt E, Murphy J, et al. Alcohol consumption alters insulin secretion and cardiac autonomic activity. *Eur J Clin Invest* 2002;32:187-92.
78. Janszky I, Ericson M, Blom M, et al. Wine drinking is associated with increased heart rate variability in women with coronary heart disease. *Heart* 2005;91:314-8.
79. Gerhardt U, Vorneweg P, Riedasch M, Hohage H. Acute and persistent effects of smoking on the baroreceptor function. *J Auton Pharmacol* 1999;19:105-8.
80. Pope CA, Eatough DJ, Gold DR, et al. Acute exposure to environmental tobacco smoke and heart rate variability. *Environ Health Perspect* 2001;109:711-6.
81. Pouliot M, Despres J, Lemieux E, et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994;73:460-468.

82. Dewailly E, Ayotte P, Blanchet C, et al. Weighing contaminant risks and nutrient benefits of country food in Nunavik. *Arctic Med Res* 1996;55 Suppl 1:13-9.
83. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
84. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
85. John D, Catherine T, MacArthur. Heart Rate Variability. Research Network on Socioeconomic Status and Health. Summary prepared by Ichiro Kawachi in collaboration with the Allostatic Load Working Group. 1997.
86. Poirier P, Bogaty P, Philippon F, Garneau C, Fortin C, Dumesnil JG. Preclinical diabetic cardiomyopathy: relation of left ventricular diastolic dysfunction to cardiac autonomic neuropathy in men with uncomplicated well-controlled type 2 diabetes. *Metabolism* 2003;52:1056-61.
87. Olsen SF, Hansen HS, Sommer S, et al. Gestational age in relation to marine n-3 fatty acids in maternal erythrocytes: a study of women in the Faroe Islands and Denmark. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1203-9.
88. Suzuki H, Manabe S, Wada O, Crawford MA. Rapid incorporation of docosahexaenoic acid from dietary sources into brain microsomal, synaptosomal and mitochondrial membranes in adult mice. *Int J Vitam Nutr Res* 1997;67:272-8.
89. Soejima K, Akaishi M, Oyamada K, Meguro T, Mitamura H, Ogawa S. Influence of age on ambulatory electrocardiogram-derived heart rate variability. *Can J Cardiol* 1999;15:181-184.
90. Molgaard H, Sorensen K, Bjerregaard P. Attenuated 24-h heart rate variability in apparently healthy subjects, subsequently suffering sudden cardiac death. *Clinical Autonomic Research* 1991;1:233-237.

91. ATSDR. Toxicological profile for mercury. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Agency for toxic substances and disease registry. 1999:617.
92. TDR (Toxicological desk reference). Mercury. In: Ryan Rp, Terry CE, Leffeingwell SS, (eds.). Toxicology desk reference. The toxic exposure and medical monitoring index. Fifth edition 1999-2000. Taylor and Francis 1999: 811-828.
93. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European society and cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *European Heart Journal* 1996;17:354-381.
94. Bigger JT, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC. The ability of several short-term measures of RR variability to predict mortality after myocardial infarction. *Circulation* 1993;88:927-34.
95. Melanson EL, Donahoo WT, Krantz MJ, Poirier P, Mehler PS. Resting and ambulatory heart rate variability in chronic anorexia nervosa. *Am J Cardiol* 2004;94:1217-20.
96. Charbonneau-Roberts G S-UH, Kuhnlein HV, Egeland GM. Body mass index may overestimate the prevalence of overweight and obesity among the Inuit. *Int J Circumpolar Health* 2005;64:163-169.
97. Szathmary E. Human biology of the Arctic. In: Arctic, D. Damas, ed. *Handbook of North American Indians*. Washington, DC: Smithsonian Institution 1984;5:64-71.
98. Bagust A, Walley T. An alternative to body mass index for standardizing body weight for stature. *Q J Med* 2000;93:589-596.
99. Norgan N. Population differences in body composition in relation to the body mass index. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:S10-S25; discussion S26-S27.
100. Collins S, Duffield A, Myatt M. Adult assessment of nutritional status in emergency-affected populations. GENEVA: ACC/SCN 2000.