

TEIICHI OIKAWA

HORMÔNIOS TIREOIDIANOS, ANTI-TPO E CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO
TOTAL NA AVALIAÇÃO DA DISFUNÇÃO GLANDULAR EM POPULAÇÃO
RIBEIRINHA DA AMAZÔNIA.

Belém, Pará
2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

TEIICHI OIKAWA

HORMÔNIOS TIREOIDIANOS, ANTI-TPO E CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO
TOTAL NA AVALIAÇÃO DA DISFUNÇÃO GLANDULAR EM POPULAÇÃO
RIBEIRINHA DA AMAZÔNIA.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical
da Universidade Federal do Pará como requisito para
obtenção do título de Doutor em Doenças Tropicais.
Orientadora: Profa. Dra. Maria da Conceição
Nascimento Pinheiro
Área de concentração: Clínica em Doenças Tropicais

Belém, Pará

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFPA

Oikawa, Teiichi, 1944-

Hormônios tireoidianos, anti-TPO e concentrações de mercúrio total na avaliação da disfunção glandular em população ribeirinha da Amazônia. / Teiichi Oikawa. - 2015.

Orientador: Maria da Conceição Nascimento Pinheiro.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Belém, 2015.

1. Hormônios tireoidianos. 2. Mercúrio - Amazônia. 3. Glândula tireóide - Doenças. 4. Mercúrio - Toxicologia. I. Título.

CDD 22. ed. 615.925663

TEIICHI OIKAWA

**HORMÔNIOS TIREOIDIANOS, ANTI-TPO E CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO
TOTAL NA AVALIAÇÃO DA DISFUNÇÃO GLANDULAR EM COMUNIDADES
RIBEIRINHAS DA AMAZÔNIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Doenças Tropicais.

Área de concentração: Clínica em Doenças Tropicais

Aprovada em: __ / __ / __

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a Maria da Conceição Nascimento Pinheiro (orientador)

Universidade Federal do Pará

Prof^a Dr^a

Universidade Federal do Pará

Prof^a Dr^a

Universidade Federal do Pará

Prof^a Dr^a

Universidade Federal do Pará

Aos meus pais Chika Oikawa e Rikuro Oikawa
(*in memoriam*), por condutas e convicções
inabaláveis que fizeram a minha formação.

À minha esposa Rosa, companheira e amiga de
todos os momentos, meus agradecimentos.

Aos meus filhos Keiko, Fernando e Ricardo, a
razão de tudo.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela minha existência.

A. Prof. Dra. Maria da Conceição Pinheiro Nascimento, pela orientação e todo o cuidado que teve na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Araujo, pelas ajudas inestimáveis para a realização do trabalho.

À Dra. Marina Bernardes pelo auxílio nos levantamentos estatísticos, meus agradecimentos.

"A coisa mais bela que podemos vivenciar é o mistério. Ele é fonte fundamental de toda verdadeira arte e de toda ciência".

Albert Einstein

“O senhor é o meu pastor, nada me faltará.”

Salmo, 23:1

Resumo

Há evidências que o acúmulo de mercúrio na tireóide pode causar distúrbios endócrinos e imunes. Populações ribeirinhas da Amazônia com histórico de exposição prolongada ao mercúrio têm sido investigadas para danos neurológicos, porém, pouco se conhece sobre os distúrbios hormonais e imunes específicos da tireóide. O objetivo deste estudo foi verificar a associação das concentrações de HgT em amostras de cabelo com as concentrações dos hormônios tireoidianos e com a titulação do anticorpo anti-TPO. O estudo incluiu 86 ribeirinhos do Tapajós com exposição em longo prazo ao mercúrio. Participaram homens e mulheres com idade entre 14 e 54 anos, residentes no local por mais de cinco anos. As concentrações hormonais no soro (TSH, T3 e T4 livre) e os títulos de Anti-TPO foram obtidas através de método imunoenzimático. Mercúrio total (HgT) em amostras de cabelo foi medido pela espectrofotometria de absorção atômica usando o Mercury Analyzer SP3D da Nippon Corporation. Disfunções hormonais ocorreram em 10,3% com aumento de T3, 2,3% com redução de T4L, 3,4% de redução de TSH e 4,6% com aumento de TSH que expressou o máximo valor de 8,9 μ U/m. Títulos de Anti-TPO foram normais em todos os participantes. Não houve correlação dos marcadores hormonais (TSH, T3 e T4L) nem do Anti-TPO com os níveis de mercúrio. Os resultados mostraram que as concentrações de HgT em cabelo, de TSH no soro e os títulos de Anti-TPO não foram influenciados pelo sexo; que os níveis dos hormônios tireoidianos e os títulos de Anti-TPO não mostraram associação com os níveis de HgT sugerindo a interferência de fatores protetores na função tireoidiana.

Palavras chave: Mercúrio, Exposição, TSH, Anti-TPO, Hipotireoidismo

ABSTRACT

There is evidence that mercury accumulation in the thyroid can cause endocrine and immune disorders. Riverside populations of the Amazon with a history of prolonged exposure to mercury have been investigated for neurological damage, but little is known about the hormonal disorders and specific immune thyroid. The objective of this study is to verify the existence of association between the total mercury concentrations in hair samples and concentrations of thyroid hormones and the anti-TPO antibody. The study included 86 riverine from Tapajos region mercury exposed to long-term. Participated this study men and women aged between 14 and 54 years, residents in place for more than five years. Measurements of serum hormone concentrations (TSH, T3 and free T4) and Anti-TPO titles were taken by enzyme immunoassay. Total mercury (THg) in hair samples was measured by atomic absorption spectrophotometry by cold vapor technique. Hormonal dysfunction occurred in 10.3% with an increase of T3, 2.3% with a reduction of T4L, 3.4% decrease in TSH and 4.6% with increased TSH expressed that the maximum value of 8.9 $\mu\text{U}/\text{m}$. Anti-TPO titles were normal in all participants. There was no correlation of hormonal markers (TSH, T3 and T4L) or the Anti-TPO with mercury levels. The results showed that THg concentrations in hair, serum TSH and anti-TPO titles were not influenced by sex; that hormonal changes in thyroid studied riparian not associated with the levels of THg suggesting the interference of protector factors on thyroid function.

Keywords: Mercury. Exposure. TSH. Anti-TPO. Tireoide disfunction.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Localização das áreas de estudo do projeto	28
FIGURA 2 – Concentrações medianas de Hg total em duas comunidades ribeirinhas do Tapajós	33
FIGURA 3 – Hg total em grupos com maior e menor exposição	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Caracterização sócio-demográfica da população do estudo exposta ao mercúrio, nas comunidades de Barreiras e São Luís do Tapajós	32
TABELA 2 – Comparação dos níveis de Hg total, marcadores hormonais e imunes nas comunidades ribeirinhas no Estado do Pará.	34
TABELA 3 – Frequência de sinais e sintomas em 79 ribeirinhos no Estado do Pará	35
TABELA 4 – Perfil hormonal imune e de exposição ao mercúrio em 79 ribeirinhos da região do Tapajós, no estado do Pará	36
TABELA 5 – Associação de marcadores hormonais imunes com os níveis de Hg total	37
TABELA 6 – Correlação entre os níveis hormonais tireoidianos (T3, T4L e TSH), imune (anti-TPO) e Hg total	37

LISTA DE ABREVIATURAS

Anti-TPO – Anticorpo antitireoperoxidase

Au-Hg - Amálgama ouro-mercúrio

DM - Doença de Minamata

DMC - Doença de Minamata Congênita

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético

Fe – Ferro

GPx- Glutathione Peroxidase

H - Hidrogênio

H₂O - Água

H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio

H₂SO₄ - Ácido Sulfúrico

Hg – Mercúrio

Hg⁰ - Mercúrio metálico

Hg total - Mercúrio total

Hg+1- Mercúrio mercurioso

Hg+2- Mercúrio mercúrico

KMnO₄ - Permanganato de Potássio

LTB - Limite de tolerância biológica

Máx – Máximo

Na₂CO₃- Carbonato de Sódio

NaOH- Hidróxido de Sódio

Ng/g - nanograma/grama

PPM- partes por milhão

RNA- Ácido Ribonucléico

T₃ - Triiodotironina

T₄ livre – Tireoxina livre

TPO - Tireoperoxidase

TSH – Hormônio Tireotrófico

µg/g - micrograma por grama

µg/l - micrograma por litro

uM - micromol

UV- Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	JUSTIFICATIVA	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Mercúrio e seus compostos	17
3.2	Histórico	17
3.3	Principais fontes de Hg no ambiente	19
3.4	Fontes de exposição humana ao hg	20
3.5	Exposição ao Hg em ribeirnhos da Amazônia	20
3.6	Tireoide e hipotireoidismo	21
3.7	Mercúrio e alterações na tireoide	23
4	OBJETIVOS	26
4.1	Objetivo geral	26
4.2	Objetivos específicos	26
5	MATERIAL E MÉTODOS	27
5.1	Desenho do estudo	27
5.2	População alvo	27
5.3	Procedimento para o estudo	28
5.3.1	Seleção da população e tamanho amostral	28
5.4	Coleta de informações	29
5.5	Coleta de sangue para dosagens hormonais	29
5.6	Coleta de cabelo	30
5.7	Análise toxicológica de Hg total em cabelo	30
5.8	Tratamento dos dados e análise dos resultados	31
6	ASPECTOS ÉTICOS	32
7	RESULTADOS	33
8	DISCUSSÃO	39
9	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46
	ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

Mercúrio é reconhecido há várias décadas como um neurotóxico para humanos e animais e foi responsabilizado por alguns acidentes ambientais. Mais recentemente, os compostos orgânicos e inorgânicos foram considerados como desreguladores endócrinos (ZHU *et. al*, 2000). De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) os desreguladores endócrinos são substâncias naturais ou sintéticas existentes no ambiente, alimentos ou produtos capazes de perturbar os sistemas reprodutivos e no desenvolvimento por interferirem com a síntese, secreção, transporte, metabolismo. Muitos desses químicos afetam os hormônios da tireóide (TH) em vários níveis do sistema tireoidiano. O eixo hipotálamo-hipófise-tireoide regula a função da tireoide através da liberação do hormônio liberador de tireotrofina (TSH) e da tiroxina (T4) e da triiodotironina (T3) (STATHATOS, 2012).

O mecanismo proposto de alteração do Hg relacionado ao hormônio tireoidiano envolve a ligação seletiva a ligantes contendo radicais sulfidrilas, na tireoide, produção reduzida de TSH e inibição da deiodinação (SOLDIN *et. al*, 2008; TAN *et. al*, 2009). Mercúrio pode ainda interferir com um grupo de proteínas dependentes de selênio conhecidas como selenoproteínas, as quais participam na formação das enzimas antioxidantes como a glutathiona peroxidase, e em várias iodosinases, enzimas do sistema tireoidiano, que controlam a produção de T3 e T4, processo que pode ser afetado pela maior ou menor toxicidade do mercúrio que depende da resposta do organismo e, em particular, da resposta tireoidiana (DUNTAS, 2006).

Compostos orgânicos e inorgânicos de mercúrio podem modular a resposta imune em indivíduos expostos. Essa resposta autoimune pode ser quantitativamente diferente em espécie animal geneticamente susceptível (Nielsen & Hultman, 2006), podendo levar até ao desenvolvimento de doença inflamatória em órgãos específicos.

Marcadores de autoimunidade específicos para a tireoide incluindo o anticorpo antitireoperoxidase (anti-TPO) são encontrados em soro de pacientes com tireoidite crônica. Os anticorpos antitireoglobulina, o anticorpo que age contra a proteína tireoglobulina está presente na tireoidite autoimune em 70% dos casos, enquanto o

anticorpo anti-tireoperoxidase (anti-TPO) encontra-se presente em cerca de 90% a 95% e representa um marcador de prognóstico para o hipotireoidismo autoimune (Projeto Diretrizes, 2011).

A antitireoperoxidase (Anti-TPO) é uma enzima essencial na biossíntese do hormônio da tireoide. Medidas de hormônios tireoidianos (TSH, T3, T4L) e de autoimunidade (anti-TPO) são utilizadas como marcadores importantes para o diagnóstico de inflamação e disfunção da tireoide, cujas causas nem sempre são esclarecidas (LI et al, 2008; WALSH et al, 2010).

Estudos experimentais mostraram que baixos níveis de mercúrio podem induzir reações de autoimunidade em camundongos com e sem susceptibilidade genética (ABEDI-VALUGERDI, 2008). Baixas concentrações de mercúrio orgânico e inorgânico mostraram romper a sinalização de citocinas, um fator importante na susceptibilidade tanto de doenças infecciosas como autoimune (GARDNER *et. al*, 2009, 2010). Por outro lado, estudo em humanos não ocupacionalmente expostos ao mercúrio orgânico mostrou que níveis de mercúrio em amostras de cabelo associaram-se aos auto-anticorpos antinucleares detectáveis no sangue desses indivíduos (SILVA *et. al*, 2001).

Estudos epidemiológicos com objetivo de verificar a associação do metilmercúrio com a disfunção do sistema imune mostraram títulos elevados de anticorpos antinucleares (ANA) em indivíduos expostos não ocupacionalmente ao mercúrio (NYLAND, *et. al*, 2011; ALVES *et. al*, 2006; SILVA *et. al*, 2004).

Particularmente, a agressão autoimune da tireoide pode resultar em inflamação com autodestruição do tecido glandular, condição conhecida como tireoidite de Hashimoto, que é causa comum de hipotireoidismo.

O hipotireoidismo é uma síndrome clínica resultante da deficiência dos hormônios tireoidianos, ou da resistência a sua ação lentificando de forma generalizada os processos metabólicos. É uma doença relativamente comum afetando 1 à 4,6% da população em geral, mais frequente em mulheres, principalmente no período da pós menopausa. Aumento na incidência ocorre com a idade, mas pode ter início em qualquer fase da vida (BANDEIRA *et. al*, 1998).

A resposta autoimune não específica tem sido avaliada e demonstrada em populações expostas ao mercúrio, entretanto, a avaliação da resposta específica através do

anti-TPO e alterações hormonais ainda não foi investigada na exposição em longo prazo, em baixas a moderadas concentrações de mercúrio como a observada em ribeirinhos da região do Rio Tapajós.

Os resultados obtidos serão úteis para tomadas de medidas de prevenção e controle das consequências relacionadas aos efeitos do mercúrio sobre a tireoide de crianças e adultos tais como hipo e hipertireoidismo. Poderá ainda levantar outras hipóteses sobre mecanismos de ação do metilmercúrio sobre a tireoide.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Mercúrio e seus compostos

O mercúrio (Hg) é um elemento químico de transição, de caráter metálico, de elevado peso atômico, PA=80 e alta densidade, por isso classificado como metal pesado, podendo ser encontrado na natureza em três estados de oxidação: 0, +1 e +2. No estado de oxidação zero, conhecido como Hg elementar ou reduzido (Hg^0), é líquido e volátil nas condições normais de temperatura e de pressão, podendo combinar-se facilmente com metais nobres como, ouro, prata, platina e paládio, num processo de formação de amálgamas (CAMARGO *et al*, 2002).

A forma inorgânica, divalente ou mercúrio oxidado (Hg^{2+}), apresenta caráter bastante solúvel em água e é reativa com ânions, como sulfeto, cloreto, hidróxido, carbonato, sulfato e com outros compostos orgânicos inorgânicos (CAMARGO *et al*, 2002). Dentre os compostos orgânicos de maior interesse toxicológico estão os alquilmercuriais, alcoximercuriais e fenilmercuriais, sendo os de maior interesse toxicológico os alquilmercuriais de cadeia curta, particularmente o monometilmercurio ($MeHg \rightarrow CH_3Hg^+$) e o dimetilmercurio ($Me_2Hg \rightarrow (CH_3)_2Hg$) (CAMARGO *et al*, 2002).

3.2 Histórico

O mercúrio é um dos elementos químicos mais conhecidos pelas civilizações primitivas. Há registros que os Fenícios já o utilizavam há 2.700 a. c. Na forma de sulfato de mercúrio - cinábrio era utilizado na pintura pelos chineses há 3.000 anos a. C. Durante o império romano, o mercúrio foi muito utilizado em decorações e produtos de beleza. Por suas propriedades medicinais, o mercúrio foi empregado no tratamento de diversas doenças e condições patológicas (PAVLOGEORGATOS, 2002). Mercúrio também era extraído das minas de Almaden, na Espanha, e o utilizavam na mineração de ouro e prata, num processo muito semelhante ao utilizado ainda hoje, em muitas áreas mineradoras no mundo (MALM, 1998).

Na forma inorgânica, o mercúrio foi empregado no passado, para o tratamento da pandemia europeia de sífilis no século XV (GRAEME & POLLACK, 1998), e em diversos estados patológicos era usado como antisséptico, diurético e purgativo, além de, cicatrizantes de queimaduras e pústulas. (O`SHEA, 1990).

Cronologicamente, vários fatos decorrentes de exposição ao mercúrio foram registrados na literatura:

- Antigamente na Inglaterra, os fabricantes de chapéus de feltro utilizavam nitrato de Hg para a confecção desses chapéus, e muitos trabalhadores dessas indústrias desenvolveram quadro neurológico caracterizado por tremores de extremidades, o que chamava atenção da população e os identificavam na época como chapeleiros malucos.
- No século XX, décadas de 1950-1960, o Japão registrou dois episódios de contaminação ambiental com inúmeros casos de intoxicação por metilmercúrio decorrente da ingestão de pescados altamente contaminados por metilmercúrio. O primeiro episódio foi o mais grave e ocorreu na Província de Minamata (1956) e o outro menos grave ocorreu em Níigata, 1960 (HARADA, 1997).
- Século XX, década de 1970, foi registrado no Iraque um episódio de contaminação de sementes de trigo tratadas com fungicidas a base de metilmercúrio com exposição humana e casos graves de intoxicação (BAKIR *et. al*, 1973).
- Séculos XX/ XXI, desde a década de 1990 já havia registros de níveis de exposição ao metilmercúrio na Amazônia. A maioria dos estudos relaciona-se a exposição de comunidades ribeirinhas localizadas próximas a áreas de garimpos de ouro em atividade, e com elevada ingestão de pescado (DOLBEC *et. al*, 2000; SANTOS *et. al*, 2002; CORVELO *et. al*, 2014). Recentes estudos mostraram leves alterações neurossensoriais similares às observadas na intoxicação por metilmercúrio ocorrida no Japão (KOURY *et al*, 2013).

3.3 Principais fontes de Hg no meio ambiente

O mercúrio existe naturalmente no ambiente onde as principais fontes emissoras estão na superfície dos oceanos, na desgaseificação da crosta terrestre e das minas naturais de mercúrio.

As maiores fontes antropogênicas que liberam mercúrio no ambiente incluem, a mineração, a metalurgia e as indústrias de (cloro-álcalis, equipamentos elétricos, baterias, tintas, termômetros, esfigmomanômetros e lâmpadas), a queima de combustíveis fósseis, principalmente o carvão, a produção de cimento e a incineração industrial e hospitalar (UNEP, 2002).

A mineração de ouro tem constituído em processo altamente poluente do ambiente e contribuído para exposição humana e contaminação de animais. O uso no processo artesanal de garimpagem é utilizado há longas décadas, principalmente, em países em desenvolvimento, incluindo a África e o Brasil.

Na Amazônia, e principalmente na Região do Rio Tapajós, onde se concentram inúmeros garimpos de ouro, este metal é utilizado na extração de ouro em larga escala. Na década de 1970, quando houve a maior procura de ouro na região, estimava-se uma liberação de 2.000 a 3.000 toneladas de Hg, no meio ambiente (MALM, 1998). Outro fator além do garimpo que contribui para o aumento da concentração do Hg, nos rios da Amazônia, provém das queimadas na floresta, as quais drenam o Hg ao ambiente aquático, e com a atividade bacteriana intensa e favorecida para o processo de biotransformação ou biomagnificação do mercúrio inorgânico em metilmercúrio (PFEIFFER *et al.*, 1989).

O mercúrio na forma orgânica, metilmercúrio, presente nos rios da Amazônia, é incorporado à cadeia alimentar aquática constituindo um grande fator de risco para a população ribeirinha, pois o peixe é a principal fonte de proteína da região (D'OREA, *et al.* 2003).

3.4 Fontes de exposição humana ao Hg

Exposição ocupacional:

Exposição ocupacional ao mercúrio pode ocorrer na atividade odontológica, na fabricação de lâmpadas, nas plantas de cloro-alkalis, fabricação de baterias e na ourivesaria, em lojas de compra e venda de ouro.

Exposição de trabalhadores em fábricas de lâmpadas com consequências para a saúde humana foi recentemente registrada no Brasil. As manifestações epidemiológicas e clínico-neurológicas associadas a alterações em testes psicofísicos e níveis elevados de mercúrio na urina permitem o diagnóstico de intoxicação por vapor de mercúrio (CORBETT *et al.*, 2007).

Exposição de trabalhadores de minas de ouro podem ocorrer a altas concentrações, na forma aguda, ou à baixas concentrações por tempo prolongado. Na Amazônia, Corbett *et al.* (2007) avaliaram garimpeiros de Serra Pelada expostos há mais de duas décadas e encontraram alterações neurológicas e psicológicas similares as encontradas na exposição prolongada ao vapor de mercúrio.

Exposição através de alimentos:

Alimentos contaminados por fungicidas mercuriais constituíram parte da história de contaminação ambiental e exposição humana ao metilmercúrio. Atualmente, esses tipos de fungicidas foram abolidos do mercado por conta da legislação de muitos países.

A contaminação de alimentos naturais, como, pescado constituem hoje as fontes principais de exposição ao metilmercúrio quando ingeridos pela dieta.

Na década de 1970 no século passado, ocorreu uma importante contaminação por metilmercúrio no Iraque, por consumo de pão fabricado a base de grãos tratados por fungicidas a base de metilmercúrio (BAKIR *et al.*, 1973; MURATA *et al.*, 2007).

3.5 Exposição ao Hg em ribeirinhos da Amazônia

A ingestão de peixes contaminados por metilmercúrio constitui uma importante forma de exposição humana. Populações de áreas poluídas por mercúrio e que consomem grandes quantidades de peixes através da dieta são mais expostas aos efeitos lesivos provocados pelo metil-Mercúrio (WHO, 1991).

Na Amazônia, estudos envolvendo ribeirinhos de diferentes regiões geográficas mostraram níveis variáveis de exposição ao mercúrio, quando medidos através de amostras de cabelo. Comunidades ribeirinhas situadas próximas às áreas de mineração de ouro, como a da região do Rio Tapajós apresentaram concentrações de mercúrio que ultrapassaram os níveis de tolerância estabelecidos pela OMS/1991 (LEBEL et al, 1998; SANTOS et al, 2000; PINHEIRO et al, 2012; CORVELO et al, 2013). Na região do rio Madeira, comunidades ribeirinhas situadas próximas a garimpos de ouro, cuja dieta concentrava grande quantidade de peixes, mostraram níveis consideráveis de HgT no cabelo (BASTOS *et. al.*,2006).

Diferentes dos resultados encontrados em populações residentes em áreas sob influência de atividade garimpeira de ouro, na região do rio Tocantins os níveis médios de exposição foram os mais baixos já encontrados na Amazônia. Por exemplo, duas comunidades situadas próximas a foz do rio Tocantins e com história de elevada ingestão de pescado da região mostraram níveis médios de Hg total que ficaram abaixo dos níveis de segurança, comunidade A mostrou $8,13 \pm 1,6 \mu\text{g/g}$ e a comunidade B apresentou $8,13 \pm 5,89 \mu\text{g/g}$ (PINHEIRO *et al.*, 2003).

A influencia da garimpagem de ouro na contaminação de pescado e consequentemente nos níveis de exposição ao mercúrio parece estar bem estabelecida, entretanto, há ainda situações que precisam ser esclarecidas, como no caso de comunidades ribeirinhas da bacia do rio Negro (BARBOSA *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2002), nas quais foram encontrados níveis similares aos da região do Tapajós, apesar de, não haver registros de atividade garimpeira nessa região. Os resultados são sugestivos de contaminação ambiental e exposição humana relacionada com outras fontes de exposição.

3.6 Tireóide e hipotireoidismo

Anatomia e funções da tireóide:

A tireóide é uma glândula localizada na face anterior do pescoço, constituída de dois lobos ligados por uma estrutura intermediária chamada istmo. Esta glândula em um adulto normal pesa de 20 a 40 gramas, histologicamente é constituída de folículos com conteúdo líquido chamado de colóide e é circundado por uma única camada de células epiteliais cilíndricas que sofre a ação do TSH (GREENSPAN *et. al.*, 2001). Os hormônios tireoidianos são importantes para o desenvolvimento somático e cerebral para atividade metabólica (BASKIN *et. al.*, 2002).

A glândula fetal é capaz de produzir hormônio tireoidiano a partir da 1ª semana de gestação, pequenas quantidades de T3 e T4 livres que ultrapassam a barreira placentária serão de fundamental importância para o desenvolvimento cerebral fetal (GREENSPAN *et. al.*, 2001).

Agressões sobre a tireóide pode resultar em disfunção glandular com desequilíbrios na síntese hormonal resultando em hipo ou hipertireoidismo. O hipotireoidismo é uma síndrome clínica resultante da deficiência dos hormônios tireoidianos, ou da resistência a sua ação, lentificando de forma generalizada os processos metabólicos. É uma doença relativamente comum afetando 1 à 4,6% da população em geral, mais freqüentemente em mulheres, principalmente pós menopausadas, aumento de sua incidência com o decorrer da idade, mas pode ter início em qualquer fase da sua vida (BANDEIRA *et. al.*, 1998; BASKIN *et. al.*, 2002). Embora o hipotireoidismo clínico seja facilmente reconhecido, há casos em que o distúrbio hormonal existe associado com leves ou com ausência de manifestações tão evidentes. Esta condição é reconhecida como hipotireoidismo subclínico.

O hipotireoidismo subclínico é a forma mais comum de disfunção tireoidiana e aplica-se a elevações discretas dos níveis séricos de TSH e níveis normais de T3 e T4, onde os anticorpos anti TG e anti-TPO podem estar presentes, com mínima ou nenhuma manifestação clínica (BASKIN *et. al.*, 2002). Nesta condição o aumento do TSH é em geral maior que 6 mU/ml. Metade dos pacientes com níveis de TSH séricos no limite superior da faixa de referência (3 à 5 mU/ml), tem uma resposta exagerada do TSH à estimulação do

hormônio estimulador da tireoide (TRH), o que pode representar estágio mais precoce do hipotireoidismo subclínico. Para fins práticos, o teste do TRH é desnecessário e sua importância é questionável (FATOURECHI *et. al.* 2001).

A prevalência mundial varia de 1 à 10%, e é muito maior que o hipotireoidismo clínico (COOPER *et.al.*, 2001). A incidência aumenta com a idade, sendo a prevalência de 15% à 17%, no grupo etário superior a 65 anos. É mais freqüente em mulheres em até 20%, com idade superior a 60 anos. Em um recente estudo, a prevalência dos homens com mais de 74 anos (16%), foi quase tão alta como nas mulheres da mesma idade (21%) (COOPER *et. al.* 2001).

Foram descritas várias alterações menores resultantes do hipotireoidismo subclínico, em geral presentes em indivíduos com valores mais altos de TSH, tais como:(STAUBE *et. al.*, 1992); fraqueza, fadiga, parestesias e câimbras, funções cognitivas alteradas, distúrbio de humor e depressão; baixo gasto de energia em repouso, tempo de reflexo tendinoso de Aquileu prolongado, metabolismo muscular energético alterado, contratilidade miocárdica diminuída, intervalo de tempo sistólico prolongado, latência e amplitude da condução nervosa alteradas, reflexo estapédico alterado, pressão intra-ocular elevada; LDL-Colesterol sérico elevado, HDL-Colesterol sérico diminuído, Apolipoproteína A aumentada, Mioglobina sérica elevada, Creatina quinase sérica elevada (STAUBE, *et. al.*, 1992).

3.7 Mercúrio e alterações na tireóide

Há evidências que o sistema endócrino é um dos alvos do MeHg no organismo. Sabe-se, por exemplo, que o MeHg promove alterações no controle dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal e hipotálamo-hipófise-tireóide, os quais representam importantes centros controladores de muitas funções orgânicas, como a manutenção do metabolismo, do crescimento e da resposta ao estresse (SOLDIN *et al.*, 2008).

Os efeitos do mercúrio sobre a tireóide têm sido estudados mais em modelos experimentais que em humanos. Alterações bioquímicas, fisiológicas e patológicas foram registradas (SOLDIN *et al.*, 2008).

Ghosh & Bhattachara (1992) observaram aumento na atividade da enzima tireóide peroxidase em relação aos controles com um aumento concomitante no nível de T3. Simultaneamente houve marcada redução de T4 e uma alta relação T3/T4, após administração de 20mg/Kg de cloreto de mercúrio intramuscular em coelhos (GHOSH *et al.*, 1992). Com esses resultados os autores sugeriram que a letalidade aguda por mercúrio induziria imediato hipertireoidismo e que a T3 tireotoxicose poderia ser causada por uma síntese preferencial de T3 e / ou deiodinação preferencial de T4 por T3 (GHOSH *et al.*, 1992).

Resultados de estudos experimentais revelaram que os efeitos do mercúrio sobre a tireóide devem variar de acordo com a dose, rota, o período de administração, bem como, as espécies animais usadas em laboratórios e as formas químicas de mercúrio (GHOSH *et al.*, 1992).

Estudo envolvendo indivíduos expostos ao mercúrio pela atividade ocupacional e em residentes de áreas industriais mostrou que o metal acumula na tireóide. Mercúrio pode ser medido também no sangue e no cabelo. Entretanto, os níveis no cabelo constituem um importante indicador de exposição ao mercúrio orgânico, refletindo a exposição através da alimentação, principalmente através do consumo de peixes, fonte dominante da exposição na população geral (ATSDR, 1999).

O acúmulo de mercúrio no corpo tem sido associado ao hipotireoidismo (WALSH *et al.*, 2010) e com biomarcadores de autoimunidade celular (GARDNER *et al.*, 2010). A medida de TSH é o teste de maior valor para o diagnóstico de hipotireoidismo clínico e subclínico (PROJETO DIRETRIZES, 2011). Anticorpos antitireoglobulina é um anticorpo que age contra a proteína tireoglobulina e o anticorpo anti tireoperoxidase (Anti-TPO) é o anticorpo dirigido contra peroxidase tireoidiana, a enzima da tireóide alvo do anticorpo correspondente.

Estudos também mostram que esses autoanticorpos (Anti-TPO e Anti-TRG) são indicadores prognósticos de risco em longo prazo para hipotireoidismo (LI *et al.*, 2008; WALSH *et al.*, 2001). Tireoidite autoimune está associada com anticorpo anti-Tg ou anticorpo Anti-TPO positivo durante 2 a 7 anos precedendo o diagnóstico.

Nishida *et al.* (1989) estudando a interação do mercúrio orgânico e TPO chegaram à conclusão que MeHg induz ao hipotireoidismo sem influir na TPO. O mesmo autor em 1986 havia demonstrado em ratos que o metilmercúrio não interferia na organificação do iodeto, mas interferia na inibição do processo de acoplamento na síntese dos hormônios tireoidianos, demonstrou ainda que a enzima tireoperoxidase era susceptível a inibição pelo mercúrio inorgânico, mas não pelo metilmercúrio (NISHIDA *et al.*, 1990).

Gallagher e Meliker (2012) estudando mulheres expostas ao metilmercúrio através da dieta também não encontraram associação com anti-TPO, mas encontraram associação entre mercúrio e positividade do anticorpo antitireoglobulina.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a influencia das concentrações de mercúrio sobre a função hormonal e imune da tireoide em ribeirinhos residentes em áreas com evidencias de exposição em longo prazo.

4.2 Objetivos específicos

- a) Traçar o perfil demográfico da população do estudo.
- b) Comparar os marcadores hormonais e imune de acordo com o sexo.
- c) Verificar a frequência de sinais e sintomas sugestivos de disfunção tireoidiana.
- d) Traçar o perfil hormonal, imune e toxicológico da população estudada.
- e) Verificar a associação das concentrações de HgT com os marcadores hormonais(TSH, T3 e T4L) e imune da tireoide(Anti-TPO).
- f) Verificar a correlação dos níveis de HgT em amostras de cabelo com as concentrações dos marcadores hormonais e imunes da tireoide.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Desenho do estudo

Trata-se de estudo transversal para avaliar a associação dos níveis de exposição ocupacional com os níveis dos hormônios tireoidianos e o marcador autoimune da tireóide em comunidades ribeirinhas expostas ao mercúrio.

5.2 População alvo

A população de estudo foi constituída por adultos, homens e mulheres residentes nas comunidades ribeirinhas da região do Rio Tapajós (São Luiz do Tapajós e Barreiras)

A comunidade de São Luiz do Tapajós está localizada no Município de Itaituba (Figura 1), a margem direita do Rio Tapajós, cerca de 40 km, a montante da cidade de Itaituba, sendo o acesso feito tanto por via terrestre como fluvial. De acordo com o SIAB (Sistema de Informação da Atenção Básica) foi registrada em São Luiz do Tapajós, em 2014, uma população total de 468 pessoas, sendo 268 do sexo masculino e 200 do sexo feminino. A faixa etária maior que 13 anos e abaixo de 60 anos representa 286 (36,8%) da população geral. A atividade ocupacional predominante é a agricultura e pesca e a sua principal fonte de proteínas é o pescado. A comunidade de Barreiras está localizada a margem esquerda do Rio Tapajós (figura 1), no limite com o município de Aveiro. A sua população é de, aproximadamente, 776 habitantes (SIAB, 2014), a ligação com cidade de Itaituba se faz principalmente através do Rio Tapajós. A atividade da comunidade consiste em agricultura e pesca de subsistência, a sua maior fonte de proteínas é o pescado. (KOURY et al, 2013).

Figura 1 - Localização das áreas de estudo do projeto



Fonte: Protocolo de pesquisa elaborado pelo autor

5.3 Procedimento para o estudo

5.3.1- Seleção da população e tamanho amostral

Participaram do estudo, adultos, homens e mulheres com idades entre 13 e 53 anos, residentes em duas comunidades ribeirinhas situadas no médio Tapajós cuja exposição ao mercúrio ocorre através da dieta. Uma amostra convencional representada por cerca de 20% (97/485) ribeirinhos da faixa etária foi constituída por cerca de 80% mulheres e 20% de homens. Foram excluídos doentes graves, acamados, gestantes, os operados de tireóide e aqueles em uso de drogas a base de lítio, iodo ou hormônio tireoidiano.

5.4 Coleta de informações

Informações demográficas, clínico-epidemiológicas foram obtidas durante as consultas médicas realizadas por ocasião da visita as comunidades e complementadas com as do prontuário do Programa de Saúde da Família de cada participante. Foram colhidas informações como: idade, sexo, ocupação, escolaridade, história de doenças, sinais e sintomas atuais.

5.5 Coleta de sangue para dosagens hormonais

Amostra de sangue (10 ml) foi obtida de veia periférica em tubos de polietileno contendo EDTA para a análise dos hormônios tireoidianos (TSH, T3 e T4L). O teste para a determinação quantitativa da tireotropina foi realizado pelo método imunoensaio enzimático, em microplaca utilizando o kit Biolisa-TSH, T3 e T4L.

A pesquisa e dosagem de anticorpos contra a fração microssomal (TPO) da proteína de membrana dos tireócitos foi realizada pelo método imunoenzimático, utilizando o kit comercial da Orgentec. Esse teste possui caráter quantitativo, e foi realizado de acordo com as instruções de uso recomendadas pelo fabricante. A técnica consiste em: antes de começar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras padrões de referência e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 -30 ° C). A separação das microcavidades foi utilizada considerando padrões, controles e amostras (podendo ser testados em duplicata). O processamento das amostras seguiu as seguintes etapas: pipetagem de 0,050 ml (50 µl) dos padrões, controles e amostras em suas respectivas microcavidades. Para uma reação de TSH ultrasensível (<0,5 µUI), excluiu-se o calibrador de 40 µUI/ml, pois poderia apresentar absorvância superior a 3 unidades. Pipetagem de 0,100 ml (100 µl) do conjugado enzima-anticorpo biotinizado em todas as microcavidades. Homogeneização por 20 a 30 segundos; Incubação por 60 minutos em temperatura ambiente. Para uma reação de TSH ultrasensível (<0,5 µUI/ml). Incubação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Em seguida descartou-se o conteúdo das microcavidades por aspiração (lavadora), ou decantação, e prosseguiu-se com a pipetar aproximadamente 300ul de solução de lavagem previamente preparada em todas as microcavidades. Decantação ou aspiração (lavadora), para um total de cinco ciclos de lavagem, para a garantia da secagem da placa,

bater em papel absorvente; Pipetar 0,100 ml (100 µl) do substrato previamente preparado, em todas as microcavidades. Os procedimentos referentes ao preparo dos reagentes de trabalho foram os seguintes: 1- incubação por quinze (15) minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz; 2- pipetar 0,050 ml (50 µl), de solução preparada em todas as microcavidades. Homogeneizar por 15 a 20 segundos; 3- leitura da absorbância de cada microcavidade em 450/630 nm em uma leitora de ELISA. Os resultados foram lidos em até trinta (30) minutos após a adição da solução preparada.

5.6 Coleta de cabelo

Foram colhidos de cada participante cerca de 80 a 100 fios de cabelos (cerca de 1,0 g) cortados na inserção do couro cabeludo na região occipital, com tesoura de aço, em três pontos diferentes do couro cabeludo. Cada amostra foi acondicionada em envelope de papel devidamente identificado e encaminhada ao laboratório de toxicologia humana e ambiental do Núcleo de Medicina Tropical, onde foram submetidas a análise de mercúrio total através da espectrofotometria de absorção atômica pela técnica de vapor quente.

5.6 Análise toxicológica de Hg total em cabelo

As análises de HgT foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Humana e Ambiental do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA. O método da combustão da amalgamação em ouro usando um espectrofotômetro de absorção atômica SP3D (Nippon Corporation, Japão) determinou os níveis de HgT em µg/g de cabelo. Previamente, as amostras foram processadas conforme as seguintes etapas: -lavagem com detergente para retirar o excesso de impurezas; - enxágue duas vezes com acetona e secagem, a temperatura ambiente para desengorduramento; -picotagem do cabelo com tesoura de aço inoxidável, em múltiplos cortes diminutos, menores de 2 mm.

Para a análise das concentrações de HgT foi utilizado uma barquinha de porcelana, aparato do próprio equipamento para ser introduzida no forno do equipamento. Na barquinha, foi colocada primeiro uma camada de uma mistura de dois sais (Na_2CO_3 e $\text{Ca}(\text{OH})_2$), chamada de **M**, os quais foram misturados 1:1 de cada sal, que tem como função a liberação lenta do vapor de mercúrio. Posteriormente, a amostra (A) de cabelo micro fragmentado foi depositada, sobreposta a amostra uma camada da mistura **M**. Em seguida, acrescentada a camada de $\text{Al}(\text{OH})_3$ denominado de **B**, na qual tem a função de manter a temperatura homogênea no interior do aparato e por fim uma camada da mistura **M**.

A determinação da precisão foi obtida através de quantificação em duplicata. A acurácia estabelecida através do padrão de referência internacional denominado IAEA 085. A reprodutibilidade demonstrada através da linearidade $r=1$, por meio de uma curva de calibração, constituída de cinco pontos (0,10,20,50,100). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g/g}$ (ppm).

5.8 Tratamento dos dados e análise dos resultados

As variáveis quantitativas são apresentadas através da estatística descritiva, usando média, mediana, desvio padrão. Para a comparação entre médias das concentrações de mercúrio, dos níveis hormonais e marcador imune empregou-se o teste Mann-Whitney usando o Programa Biostat 11.0 (AYRES et al., 2011). Para a análise da correlação das concentrações de HgT em amostras de cabelo com as concentrações de TSH, T3, T4L e com os títulos de anti-TPO foi utilizado o Teste de Correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significativas quando o valor de $p < 0,05$.

6 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo deste estudo foi elaborado de acordo com a resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde e submetido a apreciação ética pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA identificado sob o número Protocolo 030/2011, e obteve aprovação em reunião realizada em 23 de janeiro de 2012.

Os esclarecimentos necessários aos sujeitos da pesquisa foram escritos em linguagem acessível, incluindo a justificativa, os objetivos e os procedimentos a serem utilizados na pesquisa, riscos e benefícios esperados, formas de acompanhamento, liberdade de recusa, garantia do sigilo.

Todos os procedimentos utilizados nesta pesquisa foram os mesmos utilizados na rotina do atendimento clínico. Materiais descartáveis e colheita por técnicos experientes, utilização de dados exclusivamente para esta pesquisa, e o comprometimento com o sigilo das informações obtidas foram os procedimentos adotados para minimização dos riscos.

Considerou-se como benefícios resultantes deste estudo o esclarecimento sobre a associação da exposição ao mercúrio com as disfunções da tireóide, tendo em vista a possibilidade de prevenção de riscos do hipotireoidismo subclínico ou clínico, hipertireoidismo clínico ou subclínico, risco que é maior se acometer mulher em idade reprodutiva. Outro benefício será a oportunidade de esclarecer as comunidades afetadas sobre a doença, suas consequências e os meios de prevenção.

7 RESULTADOS

Cerca de 81,4% da população estudada tinham entre 14 e 43 anos de idade, a mediana foi 35anos, variando de 14 a 54 anos. Os de cor parda representaram 88,4% da amostra; 73,4% informaram ter relação marital estável; 68,7% representaram o grupo com escolaridade variando entre analfabetismo e ensino fundamental e as atividades do lar e de pescadores contribuíram com 37,2% e 29,1% respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização sócio-demográfica da população de estudo exposta ao Hg, nas comunidades de Barreiras e São Luís do Tapajós.

Variáveis sócio-demográficas	n	%
<i>Idade(anos)</i>		
14 - 24	17	(19,8)
24 - 34	21	(24,4)
34 - 44	32	(37,2)
44 - 54	16	(18,6)
<i>Cor/raça</i>		
Parda	76	(88,4)
Branca	10	(11,6)
<i>Estado civil</i>		
União estável	58	(73,4)
Solteiro	21	(26,6)
Não registrado	07	(8,1)
<i>Escolaridade</i>		
Sem instrução	04	(4,7)
Ens. Fundamental	55	(64,0)
Ens médio	15	(17,4)
Ens. Superior	05	(5,8)
Não registrado	07	(8,1)
<i>Ocupação</i>		
Doméstica	32	(37,2)
Estudante	9	(10,5)
Pescador	25	(29,1)
Agricultor	13	(15,1)
Não registrado	07	(8,1)

Fonte: dados obtidos a partir de trabalho de campo.

As medidas hormonais da tireóide, do anti-TPO e dos níveis de exposição ao mercúrio são apresentados na Tabela 2.

A idade, as concentrações de HgT em amostras de cabelo, as concentrações de TSH e do Anti-TPO não mostraram diferença significativa entre homens e mulheres ($p > 0,05$). Diferenças foram observadas nas concentrações de T3 total e T4 livre ($P, 0,05$).

Tabela 2: Marcadores hormonais e imune na população ribeirinha do Tapajós, no Pará, de acordo com o sexo, no Estado do Pará.

Variáveis	homens N=25	mulheres n=61	<i>p valor</i>
Idade(anos) Md (min-max)	31,5(14- 51)	37(15-54)	$P > 0,05$
*Hgtotal $\geq 10 \mu\text{g/g}$ (n %)	8,86 \pm 6,39	8,51 \pm 6,9	$P > 0,05$
T3 Md (min-max)	1,27(0,99-2,15)	1,24(0,89-2,70)	$< 0,05$
X \pm DP	1,35 \pm 0,26	1,24 \pm 0,25	
T4L Md (min-max)	1,01(0,71- 1,30)	0,96(0,62-1,28)	$< 0,05$
X \pm DP	1,01 \pm 0,12	1,04 \pm 0,77	
TSH Md (min-max)	2,07(0,40-5,40)	2,40(0,23-8,70)	$p > 0,05$
X \pm DP	2,16 \pm 1,19	2,36 \pm 1,30	
Anti-TPO Md (min-max)	4,95(0,60 – 14,10)	6,40(0,90-33,20)	$p > 0,05$
X \pm DP	5,66 \pm 4,11	7,66 \pm 6,34	

Fonte: Laboratório clínico do HUIBB.

Teste Mann-Whitney

As queixas referentes a sinais e sintomas mais frequentes relacionadas a possíveis distúrbios da tireóide estão demonstradas na tabela 3.

No total de casos examinados, as principais queixas registradas foram: dificuldades de concentração (25,3%), dispneia (20,5%), queda de cabelos (20,3%), constipação intestinal (19%), esquecimento (15,2%), dentre os quais a dificuldade de concentração, dispneia e queda de cabelos predominaram nas duas comunidades.

Tabela 3: Frequência de sinais e sintomas em 79 ribeirinhos submetidos a pesquisa de marcadores hormonais, imune e dos níveis de Hg total, 2012.

Sinais/sintomas	n	(%)
Câimbras	08	(10,1)
Cansaço fácil	05	(6,3)
Constipação	15	(19,0)
Dificuldade de concentração	20	(25,3)
Dispneia	16	(20,5)
Edema mãos e pés	03	(3,8)
Esquecimento	12	(15,2)
Fraqueza	04	(5,1)
Galactorrea	07	(8,9)
Ganho de peso	04	(5,1)
Hipoacusia	05	(6,3)
Humor depressivo	05	(6,3)
Intolerância ao frio	02	(2,5)
Parestesias	06	(7,6)
Pele seca e fria	03	(3,8)
Queda de cabelo	16	(20,3)
Rouquidão	04	(5,1)

Fonte: dados obtidos a partir de trabalho de campo.

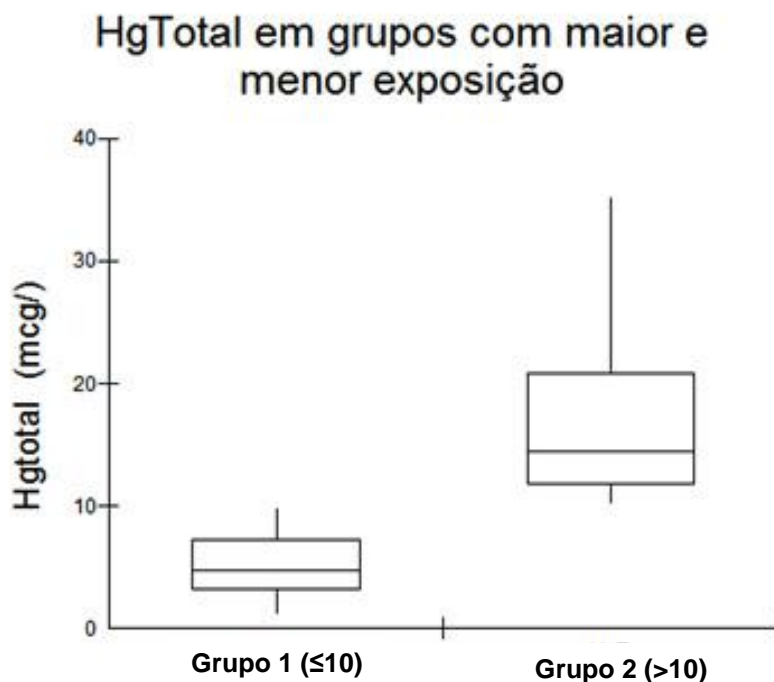
Dentre os 86 ribeirinhos submetidos aos testes hormonais, imune e toxicológicos a concentração mediana de T3 foi 1,25 ng/ml com 10,3% dos casos níveis acima do valor de referência (1,5 ng/ml), de T4L foi 0,99 µg/dL com 2,3% apresentando concentrações abaixo do valor de referência. A concentração mediana de TSH foi 2,30 µU/ml, com 3,4% apresentando resultados abaixo do limite mínimo de referência e, 4,6% com resultados acima do valor máximo de referência. A concentração mediana de Anti-TPO foi 6,20 com valor máximo de 33,20 UI/ml, e todos os casos apresentando resultados dentro da normalidade. A frequência de indivíduos com níveis de HgT em amostras de cabelo acima do limite de tolerância (10µg/g) foi 29,9%, a concentração mediana 6,9µg/g variando de 1,20 a 35,10µg/g (Tabela 4).

Tabela 4- Perfil hormonal, imune e de exposição ao mercúrio em 87 ribeirinhos da região do Tapajós, no Estado do Pará.

Variáveis (valores normais)	X±DP	Md (min-max)	(%) de exames alterados	
T3 (0,8-1,5 ng/ml)	1,27 ± 0,26	1,25 (0,89-2,70)	<0,8	0 (0,0)
			>1,5	9 (10,3)
T4L: (0,7-1,8 µg/dL)	1,03 ± 0,66	0,99 (0,62-7,02)	<0,7	2 (2,3)
			>1,8	0 (0,0)
TSH: (0,5-4,6 µU/ml)	2,30 ± 1,27	2,30 (0,23 - 8,70)	<0,5	3(3,4)
			>4,6	4 (4,6)
Anti-TPO:(n: 35<UI/ml)	7,10 ± 5,86	6,20 (0,60- 33,20)	<35	87(100)
			>35	0(0,0)
Hg total (n: <10µg/g)	8,81 ±6,73	6,90 (1,20- 35,10)	<10	61(70,1)
			>10	26 (29,9)

Fonte: Laboratório clínico do HUIBB .

Considerando os níveis de exposição ao mercúrio e o valor de referência estabelecido pela OMS (1991) dois grupos foram comparados. Um grupo com 26 ribeirinhos apresentando níveis acima de 10µg/g e outro formado por 60 apresentando níveis de Hg total menor que 10µg/g. A diferença foi altamente significativa P<0,0001.



Os marcadores hormonais (TSH, T3 e T4livre) e o imune da tireóide foram comparados entre os grupos de menor e o de maior nível de exposição ao mercúrio. Não houve diferença significativa na avaliação dos marcadores hormonais nem na comparação dos níveis de AntiTPO ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5: Associação de marcadores hormonais e imunes com os níveis de Hg total

marcadores	≥ 10μg/g(n=26)		≤ 10μg/g(n=60)		<i>p</i> valor
	X±DP	Md(min-max)	X±DP	Md(min-max)	
T3	1,34±0,35	1,27(0,97-2,70)	1,27±0,28	1,25(0,89-2,70)	>0,05
T4L	0,99±0,13	1,01(0,62-1,20)	1,05±0,78	0,96(0,67-7,02)	>0,05
TSH	2,10±0,99	1,96(0,68-4,53)	2,39 ±1,37	2,30(0,23-8,70)	>0,05
Anti-TPO	6,16±4,02	5,95(1,0-17,20)	7,51 ±6,47	6,40(0,60-33,20)	>0,05
Hg total	16,78±6,40	14,5(10,1-35,10)	5,12 ± 2,51	4,70(1,20 -9,80)	<0,0001

Fonte: Laboratório clínico do HUHJBB .

Teste de Mann-Whitney → *p* valor<0,05

Não houve correlação entre os níveis de Hg total com T3, T4L, TSH e Anti-TPO.
Ver quadro abaixo.

Quadro 1: Correlação entre os níveis hormonais tireoidianos (T3, T4L, TSH), imune (anti-TPO e mercúrio total (HgT)

Correlação	T3/HgT	T4L/HgT	TSH/HgT	Anti-TPO/HgT
n° pares	86	86	86	86
r(Pearson)	0,1062	-0,0421	-0,2101	-0,0437
GL(graus de Liberdade)	85	85	85	85
<i>p valor</i>	0,3276	0,7646	0,1125	0,8054

Correlação de Pearson .

8- DISCUSSÃO

É bem conhecido que a exposição ao mercúrio resulta em desordens neurotóxicas e nefrotóxicas. Entretanto, há evidências que na exposição ocupacional e ambiental em moderadas concentrações o mercúrio acumula em glândulas exercendo efeitos como disruptores endócrinos (FALNOGA *et al*, 2000). A relação do mercúrio com a função da glândula tiroide foi avaliada neste estudo em uma população de ribeirinhos com história de exposição moderada ao mercúrio em longo prazo. Esta população constituída por adultos jovens e de meia idade, com perfil socioeconômico de baixa renda e escolaridade, residente próxima a áreas de mineração de ouro, e possui hábito tradicional da ingestão de pescado. Essas características sociodemográficas sugerem influenciar na exposição ao mercúrio pela alimentação, por um lado pela maior disponibilidade do alimento e por outro, pela oferta do alimento contaminado pelo metilmercúrio.

Inúmeros estudos epidemiológicos avaliaram os níveis de exposição ao mercúrio em populações ribeirinhas na Amazônia com elevado consumo de pescado na dieta. Estudos mais recentes mostraram que essas populações continuam expostas a níveis que podem causar danos a saúde, entretanto, não há estudo que tenha considerado os efeitos dessa exposição sobre a função endócrina e imune específica da tireóide.

No presente estudo os níveis médios e medianos de HgT ficaram abaixo do limite de tolerância estabelecido por normas internacionais, apesar de, 30,2% apresentarem níveis acima desse valor. Estudos avaliando a exposição por mais de uma década mostraram níveis médios de HgT acima de 10 μ g/g, com valores máximos ultrapassando 50 μ g/g em comunidades ribeirinhas do Tapajós (PINHEIRO *et al* 2012; CORVELO *et al*, 2013), valor previsto para o aparecimento de distúrbios sensoriais (HARADA *et al*, 2001).

A frequência de sinais e sintomas sugestivos de disfunção tireoidiana apresentados pelos ribeirinhos foram observados na seguinte ordem, dificuldades de concentração (25,3%), dispneia (20,5%), queda de cabelos (20,3%), constipação intestinal (19,0%) e esquecimento (15,2%). Essas manifestações são comumente observadas em casos de hipotireoidismo clínico quando associados aos marcadores TSH elevados e T4 diminuído e são mais frequentes em mulheres (PROJETO DIRETRIZES, 2011). Neste estudo, 4,6%

dos participantes apresentaram níveis moderadamente elevados de TSH e ocorreram tanto em homens como em mulheres jovens e de meia idade. O hipotireoidismo subclínico é a forma mais comum de disfunção tireoidiana e aplica-se a elevações discretas dos níveis séricos de TSH e níveis normais de T3 e T4 (MAZOKOPAKIS and CHATZIPAVLIDOU, 2007). Esta condição está geralmente associada à tireoidite autoimune, a qual é observada em pacientes com anticorpos antitireoidianos (PROJETO DIRETRIZES, 2011). Abdelouahab et al, (2008) ao estudar a relação dos níveis de HgT e outros contaminantes ambientais com o sexo em consumidores de pescado de água doce em duas comunidades no Canadá admitem que mesmo em baixas concentrações mercúrio pode interferir com a função da tireoide e seus efeitos podem diferir com o sexo. Nesse estudo TSH no soro aumentou com as concentrações de HgT no cabelo e no sangue, o que não foi observado na correlação com HgT em cabelo , no presente estudo.

Não se conhece o nível de exposição ao mercúrio a partir do qual podem ocorrer transtornos endócrinos da tireoide. Neste estudo, os distúrbios funcionais sugestivos de hipertireoidismo subclínico foram observados em 9 (10,3%) com aumento dos níveis de T3 e em 3(3,4%) com redução de TSH. Casos suspeitos de hipotireoidismo foram observados em 2(2,3%) com redução de T4L e em 4(4,6%) com aumento de TSH. Concentrações de TSH no sangue é o teste de maior valor para o diagnóstico de hipo e hipertireoidismo (PROJETO DIRETRIZES, 2011), e quando associado a níveis baixos de T4 sugere a ocorrência de hipotireoidismo clínico, e, quando associado a níveis normais de T4 e T3 sugere hipotireoidismo subclínico (BANDEIRA *et. al.*, 1998; MAZOKOPAKIS & CHATZIPAVLIDOU, 2007). No corrente estudo cerca de 5% dos ribeirinhos adultos jovens a meia idade (até 54 anos) expostos ao mercúrio apresentaram níveis de TSH acima do limite da referencia pelo teste empregado com leves manifestações clínicas, sugerindo quadro de hipotireoidismo subclínico.

Baseado em um estudo de coorte envolvendo maiores de 55 anos para avaliar fatores de risco no desenvolvimento de distúrbios da tireoide, a concentração de TSH inicial considerada leve (5-9,9 mU/L) mostrou um baixo risco para o desenvolvimento do hipotireoidismo e com grande possibilidade de normalização desses níveis de TSH ao longo do tempo (DIÉZ & IGLESIAS, 2004). Esses achados são importantes porque neste estudo os ribeirinhos além de serem mais jovens, com capacidade de responder melhor aos

insultos ambientais, o valor máximo encontrado foi menor que 9,9 mU/L podendo os nossos participantes normalizarem seus níveis de TSH com o tempo.

Por outro lado, pequenas alterações na função da tireoide dentro de um valor de referencia normal podem ter consequências negativas para a saúde individual, principalmente para mulheres em idade reprodutiva. O risco para deficiências neurológicas podem ser decorrentes dos efeitos diretos do metil mercúrio sobre o feto ou através do efeito sobre a tireoide da mãe e do feto levando ao hipotireoidismo congênito.

Não houve associação estatística entre os níveis de HgT com os marcadores hormonais da tireoide, sugerindo que os níveis de mercúrio com variações abaixo de 10µg/g e acima de 10µg/g até ao limite máximo de 35,10µg/g não foram suficientes para afetar a função hormonal da tireoide, entretanto, estes resultados não afastam a possibilidade de outros fatores, incluindo os nutricionais oriundos da dieta, a exemplo do selênio estarem influenciando na resposta da tireoide. Os riscos a saúde decorrente da exposição ao metil mercúrio pode variar em relação às diferenças individuais ou regionais dependente do conteúdo de selênio nos alimentos e da própria ingestão de alimentos com suporte desse mineral predispondo ou protegendo contras as consequências da exposição ao mercúrio (RAYMOND *et. al*, 2004).

Os estudos experimentais e humanos admitem que as atividades das deiodinases dependentes de selênio são modificadas por metais pesados (MORI *et. al*, 2006). Estudo envolvendo exposição ocupacional verificou uma leve, porém significativa aumento na concentração de T4L e na relação T4/T3. Observou ainda que T3 foi inversamente associada com a exposição cumulativa de mercúrio. Os autores admitiram uma possível inibição do mercúrio sobre a 5'-deiodinase, que é a enzima responsável pela conversão de T4 a T3 (BARREGARD *et. al*, 1994). Nesse estudo, a exposição embora de longo prazo foi relacionada a atividade ocupacional por vapor de mercúrio e o marcador de exposição avaliado foi o mercúrio no sangue e na urina, motivo pelo qual a comparação não seria recomendada, uma vez que, a forma de exposição e os marcadores de exposição foram diferentes em relação ao corrente estudo. Estudo realizado por Chen *et. al*. (2013) em uma amostra da população geral dos Estados Unidos mostrou associação inversa entre HgT e hormônios tireoidianos. Em modelo experimental a exposição ao mercúrio inorgânico resultou em concentrações de T4 e de T3 diminuídas no plasma, sugerindo que o mercúrio

tenha inibido a tireoide peroxidase, responsável pela síntese de T4 e iodotironina deiodinase que é uma seleno-enzima, cuja deficiência de selênio inibiria a deiodinação do T4 a T3 (BECKETT *et. al*, 1992).

O anticorpo anti tireoperoxidase (Anti-TPO) é o anticorpo que inibem a atividade da enzima Anti-TPO e é utilizado no diagnóstico de doenças autoimune da tireóide, também considerado um marcador importante de prognóstico do hipotireoidismo podendo ser a chave para a elucidação da patogênese da tireoidite crônica (KHONO *et. al*, 1991). Por outro lado, anticorpos antitireoidianos em indivíduos aparentemente saudáveis podem servir como marcador útil para doença autoimune da tireóide antes do diagnóstico clínico de hipertireoidismo de Graves (HUTFLESS *et. al*, 2011).

Autoimunidade da tireoide pode causar várias formas de tireoidite e disfunção da tireóide variando de hipo ao hipertireoidismo. Neste estudo, a autoimunidade da tireoide avaliada através do Anti-TPO não foi observada em nenhum dos participantes, cuja atividade encontrava-se dentro do padrão de referência, sendo o maior valor 33,5IU/ml. Estes achados sugerem que os níveis e o tempo de exposição ao mercúrio não foram suficientes para causar o transtorno imune da tireóide, ou a possibilidade de outros fatores estarem protegendo a tireoide da ação do mercúrio nesse processo não pode ser descartada. Um desses fatores seria a dieta com aporte suficiente em selênio, Estudo realizado para avaliar os efeitos da suplementação de selênio (Se) em pacientes com doença autoimune da tireóide incluindo hipotireoidismo mostrou modificação da resposta inflamatória e imune provavelmente por aumentar a glutathione peroxidase (GPX) e a atividade da tioredoxina redutase (TR) no plasma e por diminuir a concentração tóxica do peróxidos lipídicos resultante da síntese do hormônio da tireoide (BECKETT & ARTHUR JR, 2005).

A resposta individual também deve ser considerada. Anti-TPO pode surgir em pacientes saudáveis, entretanto, o mecanismo de indução da anti-TPO em saudáveis é diferente daqueles pacientes com desordens da tireóide. Esses anticorpos inibindo a atividade da enzima Anti-TPO podem ser a chave para a elucidação patogênica da tireoidite crônica (KRONO *et al*, 1991). Em casos suspeitos de doença da tireoide incluindo homens e mulheres, a associação de TSH e T4 elevados com altos títulos de Anti-TPO foi observada, resultados que se recomendado o exame clínico e o seguimento dos casos, considerando o valor prognóstico desse anticorpo para doenças da

tireoide(GHORAISHIAN et al, 2006). As medidas hormonais e os níveis de anticorpos encontrados no corrente estudo descartam a possibilidade de algum caso de tireoidite crônica associada à doença autoimune da tireoide.

Vários estudos vêm demonstrando resposta imunológica inespecífica com indução de reação autoimune em indivíduos expostos ao mercúrio. Em pacientes susceptíveis foi demonstrado que mercúrio de amálgama dentária aumentou a produção de anticorpos antinucleares (BARTOVÁ *et. al*, 2003). Anticorpos antinucleares e antinucleolares foram demonstradas em associação com a exposição ocupacional (NYLAND *et al*, 2005; GARDNER et al, 2010; MOTTS *et. al*, 2014) e em consumidores de peixes, na Amazônia (ALMEIDA, 2007; NYLAND *et. al*, 2011).

Nyland *et. al*, (2005) encontraram associação de elevados níveis de metilmercúrio com altos títulos de antinucleares (ANA), porém não com anticorpos antinucleolares (ANoA) no soro, associação que não ocorreu para o status de selênio , sexo ou idade. Motts *et. al*, (2014) mostraram títulos aumentados de vários anticorpos no soro incluindo anti-GSTA1 sugerindo que esse tipo de exposição induz disfunção autoimune complexa e esta disfunção pode ser medida pelos títulos de anticorpos no soro.

Almeida (2007) investigou a ocorrência de autoimunidade induzida por mercúrio entre indivíduos ribeirinhos de áreas com altos e baixos níveis de exposição na Amazônia e verificou que o risco de apresentar autoanticorpos foi de aproximadamente duas vezes maior nos ribeirinhos expostos ao mercúrio com faixa etária acima de 50 anos do que nos não expostos. Nyland *et. al*, (2011) avaliando ribeirinhos expostos ao metilmercúrio demonstrou associação deste com o aumento de ANA e alterações no perfil de citocinas que foi diferente baseado na resposta de ANA sugerindo um fenótipo específico para susceptibilidade ao metilmercúrio.

O nosso estudo avaliou o anticorpo específico para doença autoimune da tireoide em ribeirinhos com exposição em longo prazo, e os resultados mostraram não haver associação entre Anti-TPO e baixos e moderados níveis de HgT em amostras de cabelo. Vários fatores podem estar envolvidos nesta resposta, dentre eles, susceptibilidade genética para doenças autoimune, influencia benéfica de nutrientes contidos na alimentação desses ribeirinhos, tais como selênio e ácido graxo ômega-3 contidos no próprio pescado

consumido, os quais podem estar exercendo efeitos protetores sobre a tireóide em resposta a exposição ao metilmercúrio proveniente da dieta, além da característica quanto a idade da população estudada constituída por população de adultos jovens.

Um estudo nesta linha envolvendo mulheres americanas foi realizado a partir do inquérito Nacional de Saúde e Nutrição (NHANES) nos EEUU. Esse estudo avaliou a associação entre mercúrio total no sangue e auto-anticorpos específicos da tireoide em mulheres não grávidas e não lactantes com 20 ou mais anos de idade, cujos resultados mostraram associação com tireoglobulina, mas não com o Anti-TPO (GALLAGHER & MELIKER, 2012). No corrente estudo também não foi demonstrado associação de mercúrio e Anti-TPO, apesar de, o estudo envolver homens e mulheres, consumidores de pescado, com exposição em longo prazo a baixas concentrações de mercúrio.

Na avaliação de autoimunidade específica da tireoide envolvendo população ribeirinha na Amazônia este estudo é pioneiro, e considerou como marcador específico o anticorpo Anti-TPO por causa de sua maior sensibilidade para doença autoimune da tireoide do que a Antitireoglobulina (Nicole *et. al*, 2010). Neste estudo as concentrações de HgT não se correlacionaram com os títulos de Anti-TPO sugerindo que a exposição ao mercúrio em baixas concentrações, em longo prazo não afetam a função tireoidiana.

9. CONCLUSÃO

As alterações hormonais observadas nos ribeirinhos em áreas de exposição ao mercúrio sugerem a ocorrência de hipertireoidismo (3,4%) e hipotireoidismo (4,6%) subclínicos, porém não associadas ao mercúrio;

Os níveis de exposição ao mercúrio apresentados na população estudada não mostraram associação estatística com os marcadores hormonais e imunes da tireóide, provavelmente porque fatores individuais e/ou ambientais estariam influenciando na resposta da tireóide.

Na avaliação entre sexo não houve diferença quanto as concentrações de HgT, TSH e Anti-TPO.

Estudos envolvendo autoimunidade da tireóide e exposições ao metilmercúrio devem ser estimulados, principalmente na busca da influencia de fatores de riscos para distúrbios imune específicos.

10 - REFERÊNCIAS

ABEDI-VALUGERDI. Mercury and Silver induce B cell activation and anti-nucleolar autoantibody production in outbred mouse stocks : are environmental factors more importante than the susceptibility genes in connection with autoimmunity? **Clin Exp Immunol**, v. 155, p.117-24, 2008.

ALMEIDA, S.S. Marcadores imunológicos na exposição mercurial na Região Amazônica. 2007. 80 f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Belém, 2007. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais.

ALVES MF, FRAJI NA, BARBOSA AC, DE LIMA DS, SOUZA JR, DOREA JG, ET AL. Fish consumption, mercury exposure and serum antinuclear antibody in Amazonians. **Int J Environ Health Res**, v.16, n.4, p.255-262, 2006.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological profile for Mercury. Atlanta, GA: US. Department of Health and Human Services. **Public Health Service**, 1999.

AYRES M, AYRES JRM, AYRES DL, SANTOS AS. **BioEstat 5,0**— Aplicações Estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas [Bioestat 5,0—Statistical Applications in the Biological and Medical Sciences]. Mamirauá, Belém.

BAKIR, F. ; DAMLUGI, S. F.; AMIN-ZAKI, L. ; NURTHADA, M.; KHALIDI, A.; AL-RAWI, N. Y.; AL-TIKRITI, S.; DHAHIR, H. I. ; CLARKSON, T. W. ; SMITH, J. C. ; DOHERTY, R. A. ; Methylmercuru poisoning in Iraq. **Science** , v. 181, p. 230 – 241, 1973.

BANDEIRA, C.; Hipotireoidismo. *In*: Bandeira, F.; Macedo, G.; Caldas, G.; Griz, L.; Faria, M. ; **Endocrinologia. Diagnóstico e Tratamento**. Rio de Janeiro: MEDSI, p. 85-92, 1998.

BARBOSA, A.C.; JARDIM, W.F.; DOREA, J.G.; FOSBERG, B.; SOUZA, J. Hair mercury speciation as a function of gender, age and body mass index in inhabitants of the Negro River Basin, Amazon, Brazil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 40, p. 439-444, 2001.

BARREGARD, L.; LINDSTEDR, G; SCHUTZ, A; SAUSTEN, G. Endocrine function in mercury exposed choralkai workers. **Occup. Environ. Med**, v.51, p. 536-540, 1994.

BÁRTOVÁ J; PROCHÁKOVÁ J; KRATKA Z; BENETKOVÁ K; VENCLIKOVA Z; STERZL I. Dental amálgama as one of the risk factors in autoimmune diseases. **Neuroendocrinology Letters**, v.24,n.1/2,p.65-67, 2003.

BASKIN, HJ; COBIN, RH; DUICK, DS; GHARIB, H; GUTTLER, RB; KAPLAN, MM; SEGAL, RL. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the evaluation and treatment of hyperthyroidism and hypothyroidism. **Endocrine Practce**.. 2002.

BASTOS,WE;GOMES,JPO; OLIVEIRA,RC; ALMEIDA,R; NASCIMENTO,EL; BERNARDI, JV; LACERDA, LD; SILVEIRA,EG and PFEIFFER,WC. Mercury in the environment and Riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brasil. **Science of Total Environment.**, v.368, n.1, p.344-351, 2006.

BECKETT GJ, RUSSELL A, NICOL F, SHAU P, WOLF CR, ARTHUR JR. Effect of selenium deficiency on hepatic type I 5-iodothyronine deiodinase activity and hepatic thyroid hormone levels in the rat. **Biochem**, v.3, n.282, p.483-486, 1992.

BECKETT GJ & ARTHUR JR. Selenium and endocrine systems. **J Endocrinol** , v. 184,p. 455-465,2005.

CAMARGO, J. A. Contribution of Spanish-American silver mines(1570-1820) to the present high mercury concentrations in the global environment: a review. **Chemosphere**, v.48, p.51-57, 2002.

CHEN,A; KIM,SS; CHUNG,E AND KIM N. DIETRICH. Thyroid Hormones in Relation to Lead, Mercury, and Cadmium Exposure in the National Health and Nutrition Examination Survey, 2007–2008. **Environ Health Perspect.**, v.121, p. 181–186, 2013. Disponivel em <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1205239> Acesso em <16 November 2012>

COOPER, D. S. Clinical Practice. Subclinical hypothyroidism. **N. Eng. J. Med**, v.345, p. 260-, 2001.

CORBETT,C.E.P., COSTA,N.A., GUYRICZA,J.V., CORDEIRO, J.R.Q., FRIZZARINI,R., ANDRADE, D.C.A., KHOURI, M.E., STRAVOGIANNIS, A., CORBETT, J.F., PINHEIRO,M.C.N.(Clinical evaluation of Mercury exposure in the population of the Serra Pelada Village, Pará, Brazil. **Arch. Environ & Occup. Health**, v. 3, p.121-128,2007.

CORVELO, TCO; OLIVEIRA, EAF; PARIJÓS, AM; OLIVEIRA, CSB; LOIOLA, RSP; ARAUJO, AA; COSTA, CA; SILVEIRA, LCL; PINHEIRO, MCN. Monitoring Mercury Exposure in Reproductive Aged Women Inhabiting the Tapajo's River Basin, Amazon, **Bull Environ Contam Toxicol**, DOI 10.1007/s00128-014-1279-5

DOLBEC, J.; MERGLER, D.; SOUSA PASSOS, C.J.; SOUSA DE MORAIS, S.; LEBEL, J. Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos River, Brazilian Amazon. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v .73, p.195-203, 2000.

DOREA, J. G. Fish are central in diet of Amazônia riparians: should we worry about their Mercury concentrations? **Environment Research**, v.92, p.232-244, 2003.

DI'EZ, JJ; IGLESIAS, P. Spontaneous Subclinical Hypothyroidism in Patients Older than 55 Years: An Analysis of Natural Course and Risk Factors for the Development of Overt Thyroid Failure. **J.Clinical Endocrinol & Metabolism**. v.89, n.10, p. 4890–4897, 2004.

DUNTAS LH. The role of selenium in thyroid autoimmunity and cancer. **Thyroid**, v.6, n.16, p. 455-460, 2006.

FALNOGA I; TUSEK – ZNIDARIC M; HORVAT M; STEGNAR P. Mercury, Selenium and cadmium in human autopsy samples from Idrija residents and Mercury mines Works. **Environ Res Sect A**, v.84,p.211-218,2000.

FATOURECHI, V. Subclinical thyroid disease. **Mayo Clin. Proc**, v.76, p. 413-7, 2001.

GALLAGHER, CM and MELIKER, JR. Mercury and thyroid autoantibodies in U.S. women, NANHES 2007-2008. **Environ. International**, v.40, p.39-43,2012.

GARDNER RM, NYLAND JF, SILVA IA, VENTURA AM, DE SOUZA JM, SILBERGELD EK. 2010b. Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: a cross-sectional study. **Environ Res**, v.110, n.4, p.345–354, 2010a.

GARDNER, RM; NYLAND, JF; SILBERGELD, EK. Differential immunotoxic effects of inorganic and organic mercury species in vitro. **Toxicology Letters**, v.198, p.182–190, 2010b.

GHORAISHIAN, SM; MOGHADDAM, SHH; AFKHAMI-ARDEKANI, M. Relationship between anti-thyroid peroxidase antibody and thyroid function test. *Iran. J. Immunol.*, v.3, n.3, p.146-148,2006.

GHOSH N; BHATTACHARA S. Thyrotoxicity of chlorides of cadmium and Mercury in rabbit. **Biomed Environ. Sci**, n.5,p.236-40,1992.

GRAEME, KA. & POLLACK, Jr.; CV. Heavy Metal Toxicity, Part I : Arsenic and Mercury. **The Journal of Emergency Medicine**, v.16, n.1,p.45-56, 1998.

GREENSPAN, F.; The Thyroid Gland. *In* : GREENSPAN F. (ed.). **Basic and clinical endocrinology**. Lange Medical Books, 2001.

HARADA M. Neurotoxicity of methylmercury, Minamata and the Amazon. *In*: Yasui, M., Strong, M.J., Ota, K.K., Verity, M.A. (eds.) **Mineral and Metal Neurotoxicology**, p. 177-187. New York, U.S.A.: CRC Press, 1997.

HARADA, M.; NAKANISHI, J.; YASODA, E.; PINHEIRO, M.C.N.; OIKAWA, T.; GUIMARAES, G.A.; CARDOSO, B.S.; KIZAKI, T.; OHNO, H. Mercury Pollution in the Tapajos River Basin, Amazon mercury level of head Hair and Health Effects. **Environ International**, v. 27, p. 285-290, 2001.

HOT THYROIDOLOGY. www.hotthyroidology.com/editorial_222. Html em 28/05/2013

HUTFLESS, S; MATOS,P; TALOR, MV; CATURAGTI, P; ROSE, NR. Significance of prediagnostic thyroid antibodies in women with autoimmune thyroid disease. **J. Clin. Endocrinol. Metab**, v.96,p. E1466- 1471,2011.

KHOURY, EDT ; SOUZA, GS; SILVEIRA, LCL; COSTA, CA; ARAÚJO, AA; PINHEIRO, MCN. Manifestações neurológicas em ribeirinhos de áreas expostas ao mercúrio na Amazônia brasileira . **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.29,n.11,p.2307-2318, nov, 2013.

KRONO, Y; YAMAGUCHI, F; SAITO, K; NAMI, H; NISHIKAWA, T; HOSOYA, T. Anti-thyroid peroxidase antibodies in sera from healthy subjects and from patients with chronic thyroiditis: differences in the ability to inhibit thyroid peroxidase activities. **Clin. Exp. Immunol**, v.85, p.459-463, 1991.

Li Y; TENG D; SHAN Z; TENG X; GUAN H; YU X et al. Antithyroperoxidase and antithyroglobulin antibodies in a five years follow-up survey of populations with different iodine intakes. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.93,p.1751-7, 2008.

MALM, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, Section A, v.77, p.73-78, 1998.

MAZOKOPAKIS, EE; CHATZIPAVLIDOU, V. Hashimoto's thyroiditis and the role of selenium. Current concepts. **Hell J Nucl Med**, v.10, n.1, p. 6-8, 2007.

MORI K; YOSHIDA K; HOSHIKAWA S; ITO S; YOSHIDA M; SATOH M; WATANABE C. Effects of perinatal exposure to low doses of cadmium or methylmercury on thyroid hormone metabolism in metallothionein – deficient mouse neonates. **Toxicology**, v.228, p.77-84, 2006.

MOTTS JA; SHIRLEY DL; SILBERGELD EK; NYLAND JF. Novel biomarkers of mercury-induced autoimmune dysfunction: a cross-sectional study in Amazonian Brazil. **Environ Res.**, v.132, p. 12-18, 2014 jul.

MURATA, K.; GRANDJEAN, P. ; DAKEISHI, M Neurophysiological evidence of methylmercury neurotoxicity. **American Journal of Industrial Medicine**, v.50, p.765-771, 2007.

NIELSEN, J.B; HULTMAN, P. Mercury induced autoimmunity in mice. **Environmental health perspectives**, v.110, p.877-881, 2002.

NYLAND , JF; FILLION, M; BARBOSA JR, F; HIRLEY, DL; CHINE, C; LEMIRE, M; MERGLE D; SILGEBELG, EK. Biomarkers of methylmercury immunotoxicity exposure among fish consumers in Amazonia Brazil. **Environmental Health Perspectives**, v.119, p.1733-1738, 2011.

NISHIDA, M.; MATSUMOTO, H.; ASANO, A.; MAZUME, K.; YOSHIMURA, Y.; and KAWADA, J. **J. Pharmacobio- Dyn**, v.9, p.331-338, 1989.

NISHIDA M; SATA K; KAWADA J. Differential effects of methylmercuric chloride and mercuric chloride on oxidation and iodination reactions catalyzed by thyroid peroxidase. **Biochem Int**, v. 22, p.369-78, 2001.

NYLAND, JF; FILLION M; BARBOSA JR., F; SHIRLEY, DL; CHINE, C; LEMIRE, M; MERGLER, D; SILBERGELD, EK. Biomarkers of Methylmercury Exposure Immunotoxicity among fish consumers in Amazonian Brazil. **Environ Health Perspect**, v. 119, p.1733-1738, 2011.

O' SHEA, J.G. Two minutes with Venus, two years with mercury- mercury as an antisyphitic chemotherapeuttic agent. **Journal of the Royal Society Of Medicine**, v. 83, p. 392-395, 1990.

PAVLOGEORGATOS, G.; KIKILIA, S.V. The importance of mercury determination and speciation to the health of the general population. *Global Nest: International J.*, v. 4, p. 107-125, 2002.

PINHEIRO, M.C.N.; HARADA, M.; YASODA, E.; NAKANISHI, J.; OIKAWA, T.; VIEIRA, J.L.; COSTA, S.M.; GUIMARAES, G.A.; BACELAR, M.D.R.; ALMEIDA, S.S.; SILVEIRA, L.C.L. Toxicological and epidemiological data on human exposure to mercury in the Tapajos River Basin: 1994-1998. **Environ. Sci.**, v. 10, p. 99-105, 2003.

PINHEIRO, M.C.N.; MULLER, R.C.S.; SARKIS, J.E.; VIEIRA, J.L.; OIKAWA, T; GOMES, M.S.V.; GUIMARAES, G.A.; NASCIMENTO, J.L.M.; SILVEIRA, L.C.L. Mercury and selenium concentrations in hair samples of womem in fertile age from Amazon riverside communities. **Sci.Total Environ**, v. 349, p. 284-288, 2005.

PINHEIRO, M.C.N.; OIKAWA, T.; VIEIRA, J.L.; GOMES, M.S.V.; GUIMARAES, G.A.; CRESPO-LOPEZ, M.E.; MULLER, R.C.S.; AMORAS, W.W.; RIBEIRO, D.R.G.; RODRIGUES, A.R.; CORTES, M.I.T.; SILVEIRA, L.C.L. Comparative study of human exposure to mercury in riverside communities in the Amazon region. **Brasilian J. Med. and Biol. Res.**, Sao Paulo. v. 39, n. 3, p. 411-414, 2006.

PINHEIRO, MCN; FARRIPAS, SSM; OIKAWA, T; COSTA, CA; AMORAS, WW; VIEIRA, JLF; SILVEIRA, AJA; LIMA, ACM; SOUZA,GS; SILVEIRA, LCL. Temporal Evolution of Exposure to Mercury in Riverside Communities in the Tapajo's Basin, from 1994 to 2010. **Bull Environ Contam Toxicol**, v.89, p.119-124, 2012 .

PFEIFFER, W. C.; de LACERDA, L. D.; MALM, O.; SOUZA, M. M.; da SILVEIRA, E. G.; BASTOS, W. R. Mercury Concentrations in Inland Waters of Gold- Mining Áreas in Rondônia , Brazil. **Sci. Total Environ.**, v.87, n.88, p.233-240, 1989.

PROJETO DIRETRIZES. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Tireóide, Doenças da : utilização de testes diagnósticos. **Soc. Bras. End. Metab.** , p.11-16, 2011.

RAYMOND, LJ; RALSTON, NVC. Mercury: selenium interactions and health implications. **SMDJ Seychelles Medical and Dental Journal**, Special Issue, v.7, n.1, November 2004.

SANTOS, E.C.O.; JESUS, I.M.; BRABO, E.S.; LOUREIRO, E.C.B.; MASCARENHAS, A.F.S.; WEIRICH, J.; CAMARA, V.M. and CLEARLY, D. Mercury exposure in riverside Amazon communities in Para, Brazil. **Environ. Res.**, v. 84, p. 100-107, 2000.

SANTOS, E.C.O ; JESUS,E,M; BRABO,E,S; JESUS CAMARA, V.M; LOUREIRO E.C.B and MASCARENHAS A,F. Exposure to Mercury in the urban population of Rio Branco City. State of Brazil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**. New York, v.69, p.314-319 ,2002.

SILVA, I. A ; NYLAND, J.F.; GORMAN, A; PERISSE, A.; VENTURA, A.; SANTOS E I CO; SOUZA, JM; BUREK,CL; ROSE,NR and SILBERGELD,EK. Mercury exposure ,malaria and sérum antinuclear /antinuclear antibodies in amazon populations in Brazil: a cross sectional study. **Environmental Health: A Global Access Science Source**. p3-11,2004.

SILVA IA; NYLANDER JF; GORMAN A; PERISSE A; VENTURA AM; SANTOS ECO et al. Mercury exposure, malária and sérum antinuclear /antinucleolar antibodies in Amazon populations in Brazil: a cross-sectional study. **Environ Health Glob**, v.3, p.11, 2001.

SIN,YM; THE, WF; WONG, MK; REDDY, PK. Effect of mercury on glutathione and thyroid hormones. **Bull. Environ. Cont. Toxicol**, v.44, p.616-622, 1990.

SOLDIN , OFFIE P., O`MARA, D. M., ASCHENER M. Thyroid hormones and methylmercury toxicity. **Biological Trace Element Research**, v.126, n.1-3, p. 1-12, 2008.

SOMERS,EC; GANSER,MA; WARREN, JS; BASU, N; WANG, L; ZICK, SM AND PARK, SK. Mercury Exposure and Antinuclear Antibodies among Females of Reproductive Age in the United States: NHANES. **ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES**, 2015. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1408751>

STAUB, J. J.; ALTHAUS, B. U.; ENGLER, H, et al. Spectrum of subclinical and overt hypothyroidism: effect on thyrotropin, prolactin, and thyroid reserv, and metabolic impact on peripheral target tissues. **AM. J. Med.**, v.92, p.631-42, 1992.

STATHATOS N. Thyroid physiology. **Med Clin North Am**, v.96, n.2, p.165–173,2012.

SURKS,M and HOLLOWELL,JG. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antihyroid antibodies in the U.S. population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism. **J. Clinical Endocrinol and Metabolism**, v.92; n.12, p.4575-4582, dec 1,2007.

TAN SW, MEILLER JC, MAHAFFEY KR. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. **Crit Rev Toxicol**, v.39, n.3, p.228–269, 2009.

UNEP- UNITED NATIONS ENVIRONMENTA PROGRAM. **Chemicals - Global mercury assessment**, 270p., 2002. Disponível em [http://www.UNEP- Chemicals – Global mercury assessment](http://www.UNEP-Chemicals-Global-mercury-assessment). Acesso em 10 Set. 2011.

WALSH JP; BREMMER AP; FEDDEMA P; LEEDMAN PJ; BROWN SJ; ÓLEARY P. Thyrotropin and thyroid antibodies as predictors of hypothyroidism: a 13-years, longitudinal study of a community-based cohort using current immunoassay techniques. **J Clin. Endocrinol Metab**, v. 95, p. 1095-104, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **International Program in Chemical Safety** (IPCS). Environmental Health Criteria 118: Methylmercury. Geneva, Switzerland: WHO, 1991.

ZHU, X; KUSAKA, Y; SATO, K; and ZHANG, P. The endocrine disruptive effects of mercury. **Environment Health and Preventive Medicine**, 4, 174-183, Jan 2000.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

PROTOCOLO DE HIPOTIREOIDISMO**DATA DA ATENDIMENTO:** ___ / ___ / ___**REG:**NOME:..... M F

IDADE:.....anos

NATURALIDADE:.....RELIGIÃO.....

PROFISSÃO:.....

COR: Branca Negra PardaESTADO CIVIL: Casado Solteiro União estável ViúvoGRAU DE INSTRUÇÃO: Analf. 1ºG incompl. 1ºG compl. 2ºG incompl. 2ºG compl. 3ºG

END:.....BAIRRO:.....

MUNICÍPIO:.....LOCALIDADE:.....FONE:.....

QP:.....**HDA:**

Início dos sintomas:.....

 Cansaço Rouquidão Fraqueza muscular Amenorréia Intolerância ao frio Menorragia Queda de cabelo Parestesias Dificuldade de concentração Hipoacusia Humor deprimido Pele seca e fria Esquecimento Edema facial Constipação Edema de mãos e pés Ganho de peso Câimbras musculares Dispnéia Fala lenta Galactorréia

Outros:.....

HÁBITOS:Etilista: Não Sim. Tabagista: Não Sim. Entorpecentes: Não Sim

Tempo / Frequência / Quantidade:

Alimentar:

Atividade física:.....

Antec. Ginecol.: Menarca.....Menopausa.....G.....P.....A.....

AMP:.....
.....
.....

AMF:.....
.....
.....

EXAME FÍSICO:

Estado geral:.....Peso:.....Kg Altura:.....cm

IMC:.....Kg/m²

Circunferência abdominal:cm PA: mmHg

Pulso:.....ppm

Pele e anexos:

Fácies:.....Mucosas..... Galactorréia Macroglossia:

Tireóide:.....
.....

Ex.Neurológico:.....
.....

ACP:.....
.....

Abdome:.....
.....

MMSS:.....MMII:.....

EXAMES COMPLEMENTARES JÁ

REALIZADOS:.....
.....
.....
.....
.....
.....

DIAGNÓSTICO:

Pesquisador:.....

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo-----

Instituição-----

Pesquisador Responsável-----

Este termo tem por finalidade esclarece-lo(a), sobre os principais aspectos da presente pesquisa, assim como para mostrar a importância da participação da comunidade em que você vive , após naturalmente consentimento livre, por escrito em linguagem compreensível.

01-Justificativa-É a análise da população exposta ao mercúrio no que se refere a função da tireóide nesta mesma população, em comparação a área não exposta.

02-Objetivos-É a análise da função tireoidiana na população exposta(Tapajós), em comparação com a área controle(Panacauera).

03-Procedimentos-Serão feitos análise dos dados, coleta de amostras de cabelo e de sangue.

04-Riscos – Muito baixo.

05-Benefícios-Permitirá a melhor compreensão da função tireoidiana nas áreas afetadas pelo metilmercúrio.

06-Confidencialidade e acesso aos resultados de exames-As informações serão totalmente confidenciais, e os resultados dos exames serão mantidos em sigiloso nos termos da lei. O Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, ou Comitê Nacional de Ética em Pesquisa poderá verifica-los e ter acesso aos dados que o identifiquem. Qualquer publicação de dados não o identificará.

07- Os contactos com o pesquisador: fones(0++9132241058), e-mail teiichi@oi.com.br

08-Consentimento-Declaro que li e compreendi todas as informações referentes a este estudo, que todas as minhas perguntas sobre a pesquisa foram adequadamente respondidas e que concordo participar do estudo.

Localidade-----, Município-----PA----/----/----

Nome do paciente----- CI-----

Assinatura-----

Nome do Médico-----CRM-----

Assinatura-----