



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

**CLÁUDIA SIMONE BALTAZAR DE OLIVEIRA**

**MARCADORES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES EM  
POPULAÇÕES EXPOSTAS AO MERCÚRIO EM DIFERENTES  
REGIÕES GEOGRÁFICAS DO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA  
BRASILEIRA**

**BELÉM-PARÁ  
2014**

**CLAUDIA SIMONE BALTAZAR DE OLIVEIRA**

**MARCADORES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES EM POPULAÇÕES  
EXPOSTAS AO MERCÚRIO EM DIFERENTES REGIÕES  
GEOGRÁFICAS DO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada à banca examinadora com o intuito de obtenção do grau em mestre de Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria da Conceição N.Pinheiro

**BELÉM-PARÁ  
2014**

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

---

Oliveira, Claudia Simone Baltazar de

Marcadores oxidantes e antioxidantes em populações expostas ao mercúrio em diferentes regiões geográficas do estado do Pará, Amazônia Brasileira / Claudia Simone Baltazar de Oliveira; orientadora, Maria da Conceição N. Pinheiro. — 2014.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais. Belém, 2014.

1. Mercúrio - Toxicologia. 2. Estresse oxidativo - Pará. 3. Comunidades – Pará. I. Pinheiro, Maria da Conceição N., orient. II. Título.

CDD - 22. ed. 615.925663

---



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

CLAUDIA SIMONE BALTAZAR DE OLIVEIRA

**MARCADORES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES EM  
POPULAÇÕES EXPOSTAS AO MERCÚRIO EM DIFERENTES  
REGIÕES GEOGRÁFICAS DO ESTADO DO PARÁ,  
AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do  
Núcleo de Medicina Tropical/UFPA

Aprovada em:  
Conceito:

**Banca Examinadora**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Conceição Pinheiro  
*Orientador - NMT/UFPA*

---

Prof. Dr. Givago da Silva Souza  
*Membro –ICB/ UFPA*

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marília Brasil Xavier  
*Membro – NMT/UFPA*

---

Prof. Dr Anderson Raiol Rodrigues  
*Membro – NMT/UFPA*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela permissão da realização deste sonho. Por ter sido meu guia na caminhada até este momento e , meu porto seguro ao longo de toda a minha vida.

A minha família, José Amaro, Beatriz Amaro e Jose Lucas Amaro, pela imensa força e compreensão. Pelos momentos em que estive ausente para cumprimento de minhas obrigações acadêmicas. Porém, sempre juntos de coração e por terem permitido que eu vivesse este momento tão importante na minha vida.

A minha orientadora e amiga Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria da Conceição N. Pinheiro, por ter acreditado em mim, pela paciência e atenção dispensada, pelas oportunidades e pelos valiosos ensinamentos ao longo de toda a minha vida acadêmica e profissional, pois para sempre estarão guardados dentro do mim. Professora Conceição, a minha eterna gratidão.

A toda equipe do Laboratório de Toxicologia Humana e Ambiental do NMT/UFPA. Profa. Dra. Marcia Cristina Freitas, Abner Ariel Lima, Gleyce de Fátima Santos, Aline Sá e Paulo Thiago meus mais sinceros agradecimentos pela amizade, companheirismo, apoio e valiosa contribuição o no desenvolvimento deste trabalho.

Aos mestres que contribuíram com a minha formação ao longo do curso de mestrado em doenças tropicais, pelos conhecimentos adquiridos.

Ao Núcleo de Medicina Tropical pelo acolhimento ao longo desses anos.

As comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras.

Aos amigos de turma pela amizade e compreensão ao longo do curso.

A todos os meus amigos, os meus mais sinceros agradecimentos.

## EPÍGRAFE

“Um cientista no laboratório não é um mero Técnico: é também uma criança que confronta os fenômenos naturais como se fossem contos de fada”

Marie Curie

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de Hg-T, estresse oxidativo e defesas antioxidantes em populações consumidoras de pescado de diferentes regiões geográficas do estado do Pará. As comunidades selecionadas para o estudo foram: Samaúma, Caratateua, e Barreiras todas localizadas no estado do Pará. Participaram 51 residentes de Samaúma, 96 de Caratateua e 52 de Barreiras, de ambos os sexos, entre 13 e 55 anos de idade. Foram coletadas amostras de cabelo e sangue durante as visitas as comunidades para análise de Hg-T e bioquímica oxidativa e antioxidativa em 2013. A dosagem de GSHtotal, GSSG e GSH foi realizada em campo. Para a quantificação de TEAC e MDA, as amostras foram congeladas e analisadas no laboratório de estresse oxidativo do NMT. As análises de Hg-T foram realizadas no laboratório de toxicologia humana e ambiental do NMT. O Hg-T em Samaúma foi 0.9 µg/g. Caratateua 1.9 µg/g, máximo de 20.7 µg/g. Barreiras 4.6 µg/g e máximo de 15.7 µg/g de Hg-T. Na dosagem de Hg foi observada diferença estatística altamente significativa entre as comunidades. Quanto a frequência da ingestão de peixe, os níveis de Hg-T de Caratateua e Barreiras diferiram estatisticamente quando comparada aos níveis de Samaúma nas categorias > 2 refeições. A relação entre a GSSG/GSH foi maior na comunidade de Barreiras, 10. Caratateua e Barreiras apresentaram níveis de TEAC semelhantes estatisticamente 0,6 mm/L. Na dosagem de MDA, Caratateua apresentou os maiores níveis, 3.1 ml/MDA, diferindo estatisticamente das demais comunidades. Somente a comunidade de Barreiras apresentou fraca correlação negativa entre os níveis de Hg-T e GSH. Conclui-se que a população de Samaúma e Barreiras apresentou menor e maior grau de exposição ao Hg respectivamente. No entanto, 11% comunidade de Caratateua apresentou níveis acima do preconizado pela OMS. Barreiras e Caratateua apresentaram maiores de grau de oxidação celular. Desta maneira, há necessidade de mais estudos, na comunidade de Caratateua. Além da aplicação de medidas educativas na alimentação, como: introdução de antioxidantes, a escolha das espécies de peixe e variabilidade na dieta.

Palavras-chave : Mercúrio, stress oxidativo, comunidade, Pará

## ABSTRACT

This work has objective assess the levels of Hg-T, oxidative stress and antioxidants defenses in populations consumers of fish of different ecosystems from Amazônia. The communities selected for study are: Samaúma, Caratateua, and Barreiras all located in State of Pará. Participated 51 residents from Samaúma, 96 from Caratateua and 52 from Barreiras, of both sexes, between 13 and 55 years. Were collected samples of hair and blood during the visits in the communities for analysis of Hg-T and biochemistry oxidative and antioxidative in 2013. The dosage of GSHtotal, GSSG and GSH was performed in field. For quatification of TEAC and MDA, the samples were frozen and analyzed in the laboratory of oxidative stress of NMT. The analysis of Hg-T were performed in the laboratory of human toxicology and environmental of NMT. The Hg-T in Samaúma was 0.9 µg/g. Caratateua 1.9 µg/g , maximum 20.7 µg/g. Barreiras 4.6 µg/g and maximum 15.7 µg/g of Hg-T. In the dosage of Hg was noted difference statistics very sigificant between the communities. As for frequency of consume of fish, the levels of Hg-T from Caratateua and Barreiras were different statistically when compared to levels of Samaúma in the categories > 2 meals. The relationship between GSSG/GSH was larger in the community of Barreiras, 10. Caratateua and Barreiras presented levels of TEAC similar statistically 0,6 mm/L. In the dosage of MDA, Caratateua presented the larger levels, 3.1 ml/MDA, differing statistically the others comunidades. Only Barreiras community presented weak negative correlation between the levels of Hg-T and GSH. Concluded that The population from Samaúma and Barreiras presented smaller and larger degree of exposure to Hg respectively. However, 11% community of Caratateua presented levels above of recommended by OMS. Barreiras and Caratateua presented larger of degree of cellular oxidation. Thus, there is need for more studies in the community of Caratateua. Besides the application of educational measures in food, as: introduction of antioxidants, the choice of fish species and variability in the diet.

Keyword: Mercury, oxidative stress, communities, Pará



## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1-</b> Representação esquemática do ciclo biogeoquímico do mercúrio	23
<b>Figura 2 -</b> Interconversão nas suas formas reduzidas (GSH) e oxidada (GSSH) pela ação das enzimas glutathione peroxidase (GPX) glutathione oxidase (GO) e glutathione reductase (GR)	39
<b>Figura 3.</b> Mapa do Estado Pará, destacando as cidades a serem estudadas: Itaituba, Limoeiro do Ajuru, Bragança e Belém, sede da pesquisa	46
<b>Figura 4-</b> Forno de aquecimento	50
<b>Figura 5-</b> MD-1 MA-1	50
<b>Figura 6.</b> Níveis medianos de Hg-T( $\mu\text{g/g}$ ) dos ribeirinhos das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013	58
<b>Figura 7.</b> Associação dos níveis de Hg-T e GSSG em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013	62
<b>Figura 8.</b> Associação dos níveis de Hg-T e GSH em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013	62
<b>Figura 9.</b> Associação níveis de Hg-T e TEAC em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013	63
<b>Figura 10.</b> Associação níveis de Hg-T e MDA em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013	63
<b>Figura 11.</b> Associação níveis de Hg-T e GSSG em ribeirinhos de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013	64
<b>Figura 12.</b> Associação níveis de Hg-T e GSH em ribeirinhos da comunidade de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013	64

<b>Figura 13.</b> Associação Hg-T e TEAC em ribeirinhos de Caratateua, estado do Pará, Brasil,2013	65
<b>Figura 14.</b> Associação Hg-T e MDA em ribeirinhos de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013	65
<b>Figura 15.</b> Associação Hg-T e GSSG em ribeirinhos de Barreiras, estado do Pará, Brasil, 2013	66
<b>Figura 16.</b> Associação Hg-T e GSH em ribeirinhos de Barreiras, estado do Pará, Brasil, 2013	66
<b>Figura 17.</b> Associação Hg-T e TEAC em ribeirinhos de Barreiras, 2013	67
<b>Figura 18.</b> Associação Hg-T e MDA em ribeirinhos de Barreiras, 2013	67
<b>Figura 19.</b> Associação Hg-T e GSSG/GSS em ribeirinhos de diferentes regiões geográficas do estado do Pará, Amazônia Brasileira	68
<b>Figura 20.</b> Associação Hg-T e MDA em ribeirinhos de diferentes regiões geográficas do estado do Pará, Amazônia Brasileira	68

**LISTA DE TABELAS**

	Página
<b>Tabela 1</b> – Relação entre a forma química, propriedades características e aplicações do Hg	22
<b>Tabela 2</b> - Níveis de concentração de Hg estabelecidos pela OMS	29
<b>Tabela 3</b> - Concentração de Hg- T em peixes na região Amazônica	32
<b>Tabela 4</b> – Perfil demográfico, hematológico, bioquímico clínico e sorológico dos ribeirinhos das comunidades de Samaúma , Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013	57
<b>Tabela 5</b> – Consumo de pescado e níveis médios de Hg-T das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013	59
<b>Tabela 6.</b> Níveis médios de marcadores oxidantes e antioxidantes das comunidades de Samaúma , Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013	61
<b>Tabela 7</b> - Síntese das análises das variáveis estudadas nas comunidades do presente estudo	70

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\mu\text{g/g}$  – Micrograma por grama  
 $\text{mg/g}$ - Miligrama por grama  
 $\text{ng/g}$ - Nanograma por grama  
 $\text{mg/L}$  – Miligrama por litro  
 $\text{mg/Hg/kg}$  – Miligrama de mercúrio por grama  
 Al- Alumínio  
 $\text{Al (OH)}_3$ - Hidróxido de alumínio  
 ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária  
 ABTS - 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico  
 B – Hidróxido de alumínio  
 CAT – Catalase  
 $\text{Ca (OH)}_2$  – Hidróxido de cálcio  
 $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ - Dimetilmercúrio  
 CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente  
 CYS- Cisteína  
 8-OhdG -8-OH-2Deoxyguanosina  
 DNA – Acido desoxirribonucleico  
 DTNB – Ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzoico]  
 EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético  
 EO – Estresse oxidativo  
 Enzima-SeOH – Ácido selênico  
 enzima-Se-S-Glutationa - seleno-sulfeto  
 EROS – Espécies Reativas de oxigênio  
 Fe – Ferro  
 GSH – Glutationa reduzida  
 GSH-Px – Glutationa peroxidase  
 GSSG – Glutationa oxidada  
 GSR – Glutationa redutase  
 GSHtotal – glutationa total  
 GO- Glutationa oxidase  
 H – Hidrogênio

H<sub>2</sub>O – Água  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peroxido de hidrogênio  
Hg – Mercúrio  
HgCl<sub>2</sub> – Cloreto de mercúrio  
HgS- Sulfato de mercúrio  
Hg<sup>+2</sup> – Íon mercúrio  
Hg<sub>2</sub><sup>+2</sup> – Íon mercuroso  
Hg<sup>0</sup> – Mercúrio metálico  
Hg-T – Mercúrio total  
IDH – Índice de Desenvolvimento Humano  
M- Mistura  
MA1 – Atomizador de mercúrio  
MD1 – Detector de mercúrio  
Mehg – Monometilmercurio  
MeHg – Metilmercúrio  
Mmol L<sup>-1</sup> – Micromol por litro  
NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato  
nm - Nanômetros  
NaOH – Hidróxido de sódio  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – Carbonato de sódio  
NMT – Núcleo de Medicina Tropical  
O<sub>2</sub><sup>-</sup> - Íon superóxido  
HO-1- heme oxigenase  
OH – Radical hidroxila  
O<sup>2</sup> - Oxigênio  
O1- Oxigênio livre  
OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE  
PA – Pará  
PSF – Programa de saúde da família  
ppm (µg/g) – Partes por milhão (micrograma por grama)  
SH- – Radical sulfidrílica  
Se – Selênio  
SNC – Sistema nervoso central

SOD – Superóxido dismutase

TCA – Ácido tricloroacético

TRBAS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Uv - ultravioleta

UFPA – Universidade Federal do Pará

WHO – World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	16
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	19
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	21
3.1 UM BREVE HISTÓRICO DO MERCÚRIO.....	21
3.2 ASPECTOS FÍSICOS QUÍMICOS DO MERCÚRIO.....	22
3.3 CICLO BIOLÓGICO DO MERCÚRIO.....	23
<b>3.3.1 A presença do Hg nos diferentes ecossistemas.....</b>	24
3.3.1.1 Região marítima.....	25
3.3.1.2 Regiões de estuário.....	26
3.3.1.3 Regiões fluviais.....	27
3.4 FORMAS DE EXPOSIÇÃO HUMANA AO MERCÚRIO.....	28
3.5. ATIVIDADES ANTROPOGENICAS E A PROBLEMÁTICA DO MERCÚRIO NA AMAZONIA.....	29
<b>3.5.1 A ingestão de peixe como principal via de exposição ao mercúrio na Amazônia.....</b>	31
3.6. MECANISMOS DE AÇÃO TÓXICA DO MERCÚRIO BASEADO NO ESTRESS OXIDATIVO.....	33
<b>3.6.1. O Hg e a peroxidação lipídica.....</b>	35
<b>3.6.2. O Hg e o sistema glutatona.....</b>	36
<b>3.6.3 O Hg e o DNA .....</b>	37
3.7 INTERAÇÃO ENTRE O MERCÚRIO E ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS.....	39
3.8 DANOS DECORRENTES DA EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO.....	41
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	45
4.1 GERAIS.....	45
4.2 ESPECÍFICOS.....	45
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	46
5.1 TIPO DE ESTUDO.....	46
5.2 CARACTERÍSTICAS DAS REGIÕES DE ESTUDO.....	46

<b>5.2.1 Município de Itaituba- Região do Tapajós.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2.2 Município de Limoeiro do Ajurú- Região do Tocantins.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.3 Município de Bragança – Região do Salgado.....</b>	<b>47</b>
<b>5.3. POPULAÇÕES DE ESTUDO.....</b>	<b>47</b>
<b>5.4 DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO .....</b>	<b>48</b>
<b>5.4.1 Obtenção de informações demográfica e clínica epidemiológica.....</b>	<b>48</b>
<b>5.4.2. Obtenção de informações nutricionais e dietéticas.....</b>	<b>48</b>
<b>5.4.3 Coleta e processamento das amostras de cabelo para análise</b>	<b>49</b>
<b>5.4.4 Descrição e fundamento do equipamento analisador de Hg-T</b>	<b>49</b>
<b>5.4.5 Procedimentos de análise de Hg-T.....</b>	<b>50</b>
<b>5.4.6 Calculo dos resultados das amostras.....</b>	<b>51</b>
<b>5.5 COLHEITAS DE SANGUE ANÁLISE HEMATIMETRICA E BIOQUIMICA.....</b>	<b>51</b>
<b>5.5.1 Avaliação hematológica, bioquímica complementar e sorológica.....</b>	<b>51</b>
<b>5.5.2 Determinação dos teores de Glutathiona reduzida (GSH) e Glutathiona oxidada GSSG.....</b>	<b>50</b>
<b>5.5.3 Determinação da Peroxidação Lipídica – TBARS.....</b>	<b>52</b>
<b>5.5.4 Determinação da capacidade antioxidante total- TEAC.....</b>	<b>53</b>
<b>5.6 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>6. ASPECTOS ÉTICOS.....</b>	<b>54</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>55</b>
<b>8. DISCUSSÃO .....</b>	<b>71</b>
<b>9. CONCLUSÃO.....</b>	<b>81</b>
<b>10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>98</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A exposição humana ao mercúrio (Hg) através da alimentação é considerada um problema importante para a saúde pública tendo em vista os impactos causados na saúde em alguns grupos populacionais durante tragédias ambientais, destacando-se a ocorrida em Minamata, no Japão, nas décadas de 50 e 60 e, no Iraque em 1974 (HARADA *et al.*,1995).

No primeiro acidente ocorrido no Japão, o mercúrio liberado por uma indústria química de polímeros nas águas da baía de Minamata contaminou peixes e frutos do mar consumidos pela população local provocando transtornos neurológicos de graus variados incluindo casos graves com desfecho fatal. Posteriormente, outro episódio de menor intensidade acometeu centenas de pessoas no Iraque. Nesta tragédia, a intoxicação foi decorrente da ingestão de pães fabricados com sementes de trigo tratadas com fungicidas organomercuriais que foi responsável por mais de duas mil internações e quatrocentas mortes (HARADA *et al.*,1995).

No Brasil, mais precisamente na região Amazônica, estudos realizados em populações residentes em áreas ribeirinhas situadas próximas a garimpos de ouro mostraram níveis de exposição ao mercúrio acima de 6mg/g, valor de referência estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em amostras de cabelo de populações expostas através do consumo de pescado de área contaminada (SANTOS *et al.*, 2003; PINHEIRO, 2005; SANTOS, *et al.*, 2007 ; BASTOS *et al.*,2010).

Embora existam vários estudos sobre a avaliação dos níveis de Hg em humanos, a sua toxicologia em relação ao homem ainda não está bem elucidada. No entanto, reconhece-se que o metal pode desencadear neurotoxicidade, genotoxicidade, alterações congênitas, infertilidade, doenças cardiovasculares, visuais e entre outros problemas de saúde (JIM, 2000; GUALAR *et al.*, 2002 ; SANTOS *et al.*,2003; MILAEVA *et al.*,2004; SÁ *et al.*,2006; Rodrigues *et al.*, 2007; FATINEL,2012). Assim, os mecanismos dos danos causados pelo mercúrio ainda são amplamente discutidos.

Nos últimos anos, tem sido atribuído ao estresse oxidativo (EO) um papel importante na toxicologia relacionada aos compostos mercuriais e alterações nos

mecanismos redox celulares (VALENTINI, 2012; BARCELOS,2010) devido a indução na geração de espécies reativas de oxigênio (EROS), tal como o íon superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila (OH) e oxigênio livre ( $O^1$ ) (CHANDRAN *et al.*, 2005; VALAVANIDIS *et al.*, 2006; ATLI & CANLI, 2007; AVILEZ *et al.*, 2008). Os mecanismos de oxidação induzidos pelo Hg ocorrem por sua alta afinidade com componentes sulfidrilicos(-SH) de elementos biológicos endógenos que incluem a glutathiona reduzida (GSH), cisteína (CYS), metalotioneinas e albumina (SCHURZ & FINKS-GREMMELS 2000; ZALUPPS, 2000).

O mercúrio também é capaz de induzir a danos oxidativos em nível de membrana celular, conforme descrito por Dahle (1962). Em seus relatos fora mencionado que Hg potencializa a produção de ERO'S reagindo com macromoléculas biológicas suscetíveis podendo ocasionar peroxidação lipídica. Assim como o estudo de Barcelos (2010), que encontrou aumento nas concentrações de Malondialdeido (MDA)- produto da peroxidação lipídica- em células expostas ao metilmercúrio.

Adicionalmente, Groto (2009) estudando a exposição em modelos animais constatou que o Hg afeta o potencial antioxidante alterando as atividades de enzimas (glutathiona peroxidase, catalase e moléculas antioxidantes (glutathiona reduzida). Da mesma forma, Pinheiro (2005) estudando mulheres em idade reprodutiva na região do Tapajós observou alterações nos mecanismos de defesa antioxidante como altas concentrações de glutathiona total, com provável acúmulo da forma oxidada. Encontrou ainda, baixa atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, podendo ser um marcador bioquímico de dano celular associado à exposição crônica ao Hg da dieta.

Para combater os EROS, enzimas do sistema antioxidante representadas pela catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathiona redutase e glutathiona peroxidase (GSH-Px) atuam anulando ou minimizando o estresse oxidativo. Por serem enzimas necessárias para a manutenção da vida, por estarem associadas ao processo de detoxificação nos seres vivos é de extrema importância a compreensão de seu papel e comportamento frente a exposição de metais, dentre estes, o mercúrio (COGO *et al.*, 2009).

Segundo Campos *et al.* (2002) e Farias (2006), os danos oxidativos originados do mercúrio levam a alteração não somente nos níveis de enzimas antioxidantes mas nos constituintes metabólicos como o cobre, zinco e selênio. O mercúrio compete com esses elementos por seus ligantes biológicos, em especial o selênio que faz parte do sistema glutatona o que pode acarretar efeitos adversos na distribuição e homeostase de elementos essenciais do organismo (FRUSTACI *et al.*,2012).

No Brasil, a exposição humana ao mercúrio tem sido avaliada em diferentes populações ribeirinhas da bacia Amazônica. No entanto, no que se refere à comparação de exposição de populações residentes em áreas estuárias, marítimas e fluviais ainda são escassos. Assim, a investigação sobre o papel do mercúrio como interferente nos níveis oxidantes e antioxidantes endógenos, em populações ribeirinhas com exposição por longo período através da alimentação de pescado, se torna necessária, considerando o possível desequilíbrio entre o sistema oxidativo e antioxidativo, o que contribui para o desenvolvimento de danos celulares e perda dessa proteção.

Desta maneira, a análise de moléculas antioxidantes, como a glutatona, o grau de peroxidação lipídica e a capacidade antioxidante total (TEAC) poderão esclarecer algumas questões relacionadas à patogênese da intoxicação por mercúrio e assim auxiliar em propostas de prevenção e controle para essas populações, além de servir como sinal de alerta de contaminação e controle das atividades humanas sobre o ambiente (COGO *et al.*,2009).

A proposta deste estudo foi testar as hipóteses: - os níveis de exposição ao mercúrio são diferentes nas populações das diferentes regiões hidrográficas (fluvial, estuário e marítimo), baseado no número de refeições de peixes e associação entre as concentrações de mercúrio e os marcadores de estresse oxidativo, incluindo as TBRAS, GSSG e antioxidantes, GSH e TEAC.

## 2. JUSTIFICATIVA

O mercúrio na forma química de metilmercúrio é um dos contaminantes ambientais mais nocivos à saúde humana, podendo provocar o estresse oxidativo e como consequência, diversos efeitos deletérios a saúde em diversos sistemas do organismo do homem em exposição, entre eles Sistema Nervoso Central (SNC), hepático, visual, fértil e cardíaco (GROTO *et al.*, 2011).

O monitoramento do estresse oxidativo em organismos humanos é importante e pode se dá através de diversos marcadores bioquímicos oxidativos e antioxidativos, entre estes a quantificação do MDA, um dos produtos secundários da peroxidação lipídica cuja quantificação pode ser realizada em amostras de plasma. Além da capacidade antioxidante total, marcador conhecido como TEAC, que representa os níveis antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, e, - a determinação dos níveis de GSH em eritrócitos (ANDERSON, 1985; GROTO *et al.*, 2007).

O nível de GSH em humanos durante a exposição ao Hg seja por via ocupacional ou por ingestão de peixes podem estar diminuídas, tornando o organismo mais susceptível a doenças causada pelas EROS. Assim, o controle dos níveis de GSH torna-se importante em pessoas expostas ao Hg, considerando os níveis normais de GSH em células de mamíferos que se apresentam na faixa de 0,5 a 10 mmol L<sup>-1</sup>(RISHER & AMLLER 2005; GROTO *et al.*, 2011)

Ainda há divergências nos resultados de estudos em que avaliem os efeitos do mercúrio sobre o estresse oxidativo e as defesas antioxidantes. Poucos trabalhos avaliaram os níveis de GSH ou mesmo as enzimas deste sistema em humanos expostos ao mercúrio através da dieta. A maioria das pesquisas foi realizada em indivíduos expostos ao vapor de Hg, como o estudo conduzido por Barregard *et al.* (1990), que avaliaram a exposição ocupacional moderada em longo prazo, cujo atividade da GSH-Px em eritrócitos não havia sido afetada. No trabalho de QUEIROZ *et al.* (1998) os níveis de GSH se encontravam reduzidas em eritrócitos de 22 trabalhadores expostos também ao mercúrio inorgânico (Hg<sup>0</sup>).

A maioria das pesquisas que investigaram os níveis de mercúrio em humanos foi realizada em populações ribeirinhas dependentes de pescado de áreas

contaminadas por influencia antropogênica (AKAGI *et al.*, 1995; SANTOS *et al.*, 2000; SÁ *et al.*, 2006 BASTOS, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2008; KHOURY *et al.*, 2013).

Não existem registros de estudos que realizem uma avaliação dos níveis de mercúrio influenciados pela ingestão de peixes em ribeirinhos de diferentes ecossistemas incluindo: rio, estuário, mar, e a possível associação aos componentes do sistema oxidativo e antioxidativo.

Diante dos fatos, há necessidade de avaliar os efeitos do mercúrio sobre o sistema de defesa antioxidante em ribeirinhos de diferentes regiões hidrográficas da bacia Amazônica, como meio de investigar primeiramente a presença ou ausência do mercúrio nestes compartimentos ecológicos, a interação existente entre o hábito alimentar de consumo peixe contaminado por mercúrio e os indicadores bioquímicos de estresse oxidativo nestas populações. Desta maneira, vislumbra-se obter resultados inéditos na literatura sobre a exposição mercurial, considerando a inexistência de estudos em humanos no município do Limoeiro do Ajuru e Caratateua, ambas no estado do Pará.

Além disso, o presente estudo poderá contribuir para a melhor compreensão da intoxicação pelo mercúrio, e, assim propor medidas para a prevenção desses agravos em áreas contaminadas a fim de prevenir e/ ou minimizar os danos causados no homem pelo mercúrio via estresse oxidativo, por meio de intervenções educativas, nutricionais e dietéticas.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 UM BREVE HISTÓRICO DO MERCÚRIO

O Hg é um dos elementos químicos mais conhecidos desde a antiguidade, juntamente com ele está o ouro, prata, cobre, ferro, cromo e o estanho. Há relatos que o cinábrio (sulfato de mercúrio) era utilizado desde os primórdios em pinturas artísticas pelo homem, principalmente pelos chineses (3000 A.C), egípcios, sírios e Incas (BATTIEGELLI, 1994).

O símbolo do mercúrio (Hg) originou-se do grego, *hydro* que significa água e *argyros* que era o nome grego da prata, assim os romanos latinizaram o nome para *hydrargirium*, obtendo-se Hg como o símbolo químico do mercúrio (MARQUES, 2009).

Na antiguidade, o Hg teve grande importância nos primeiros processos químicos, principalmente na descoberta de novos tipos de medicamentos, como aconteceu em 1530, quando o cientista Paracelso divulgou a cura da sífilis com algumas doses de Hg. No entanto, muitas pessoas morreram devido a sua alta toxicidade e atualmente ao oposto do que Paracelso pregava, é seguro manter-se distante desse elemento químico, já que a sua exposição pode causar danos irreversíveis a saúde do homem (MARQUES, 2009).

O conhecimento dos efeitos tóxicos do mercúrio pelos romanos foi importante no Império Romano, que utilizavam as minas de cinábrio como local de punição para os desobedientes das leis da época. Muitos escravos foram expostos ao sulfato de mercúrio (HgS) no interior das minas levando-os à morte lenta e dolorosa. Mas o principal uso do Hg pelos romanos foi na decoração de vilas e na confecção de produtos de beleza. Com a queda do Império Romano o consumo de Hg começou a diminuir ficando restrito ao uso medicinal (CALABRESE E ASTOLFI, 1972).

A aplicação industrial desse elemento químico e seus compostos, bem como, o uso dos organomercuriais na agricultura como pesticidas e fungicidas, no passado, resultaram em sérios problemas de contaminação de solos, águas e sedimentos (HEAVEN *et al.*, 2000). Devido a muitas e distintas propriedades, o Hg ainda é

amplamente usado na indústria, chegando a ter no passado até mais de 3000 aplicações (MALM, 1991).

A Tabela 1 apresenta as principais formas químicas do Hg, suas respectivas propriedades, características e suas variadas aplicações industriais.

**Tabela 1** – Relação entre a forma química, propriedades características e aplicações do Hg

<b>Forma química</b>	<b>Propriedades Características</b>	<b>Aplicações</b>
Metal	-Líquido a temperatura ambiente, expansão volumétrica uniforme numa gama vasta de temperatura e não aderente às superfícies vítreas.  -Baixa resistência elétrica e elevada condutividade térmica.  -Elevado potencial de oxidação e relativo ao H <sub>2</sub> .  -Facilidade para formação de amálgama com outros metais.	-Barômetros, manômetros e termômetros.  -Materiais elétricos, eletrônicos e agentes termoestabilizantes.  -Indústria de cloro soda.  -Metalurgia, odontologia e exploração mineira.
Compostos Inorgânicos	-Elevada estereo especificidade	-Catálise na indústria de Polímero sintético.
Compostos orgânicos	-Poder de assepsia por oxidação matéria orgânica.	-Inseticidas, bactericidas e fungicidas.

Fonte: MICARONI *et al.*, 2000.

### 3.2 ASPECTOS FÍSICOS QUÍMICOS DO MERCÚRIO

O mercúrio é um elemento químico identificado na tabela periódica como metal de peso atômico 200,6, número atômico 80, densidade 13,6, ponto de fusão - 38,83°C e ponto de ebulição em 356,6°C. Em seu estado elementar apresenta-se como um líquido branco-prateado, sendo também conhecido como mercúrio metálico ou elementar (Hg<sup>0</sup>) (BERLIM *et al.*, 1986).

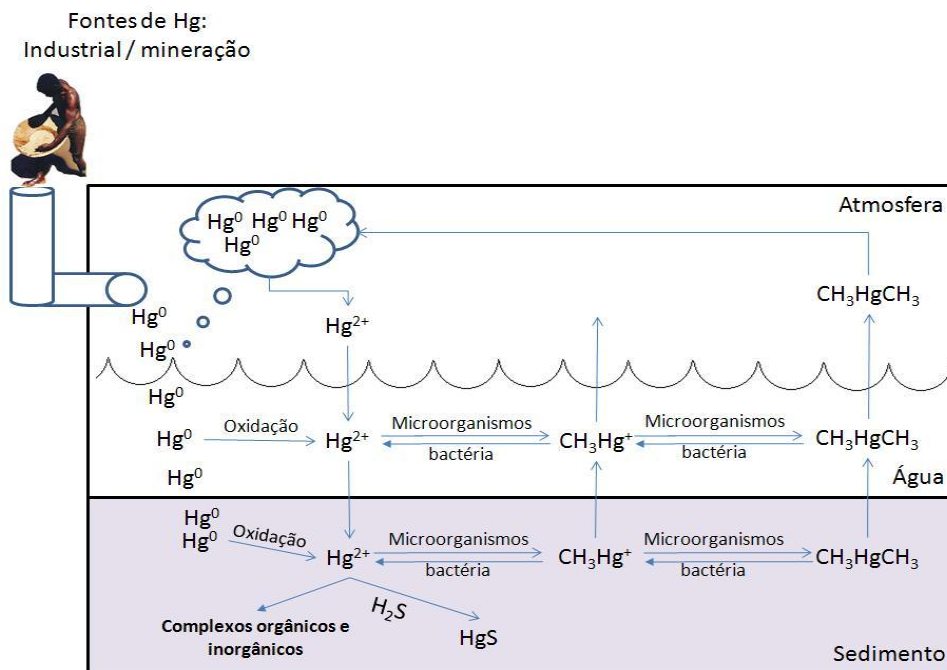
Pode ocorrer também em duas formas oxidadas: íon mercurioso (Hg<sub>2</sub><sup>+2</sup>) e íon mercúrio (Hg<sup>+2</sup>) além de diferentes espécies orgânicas (alquilmercuriais,

alcoximercúria e fenilmercúria) sendo os de maior interesse toxicológico os alquilmercúria de cadeia curta, particularmente o monometilmercúrio ( $\text{MeHg}^+$ ) e o dimetilmercúrio  $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ , onde cada um desses compostos apresenta diferentes propriedades físico-químicas e toxicológicas (BERLIM *et al.*, 1986).

### 3.3 CICLO BIOLÓGICO DO MERCÚRIO NO AMBIENTE

O Hg pode ser transportado a longas distâncias em escala global via atmosfera e por isso, a contaminação não está limitada a locais próximos às fontes. Embora a maior parte do Hg no ambiente seja inorgânica, parte dele, em especial nos ecossistemas aquáticos, é eficientemente convertido ao composto altamente tóxico, o metilmercúrio (MUNTHE *et al.*, 2007).

Na Figura 1 está representado o ciclo biogeoquímico do Hg nos diversos compartimentos do meio ambiente, ar, solo, água e peixes. Além do processo de oxidação e metilação do Hg por microrganismos presentes no sedimento dos rios.



**Figura 1** - Representação esquemática do ciclo biogeoquímico do mercúrio  
Fonte: SANTANA, 2009.

Os ecossistemas aquáticos têm diferentes habilidades para converter as cargas de Hg inorgânico em teores de metilmercúrio nos peixes, devido a uma série de fatores hidrológicos, de qualidade de água, de estrutura trófica e outros, que podem afetar a ciclagem e a bioacumulação do metilmercúrio. Inclui-se também, o



tempo e a magnitude da liberação do Hg depositado via atmosfera nos ecossistemas terrestres e desses para os aquáticos. Como resultado, corpos hídricos próximos uns aos outros, recebendo mesmas cargas de Hg atmosférico frequentemente mostram diferentes teores de Hg em peixes (CASTILHOS E RODRIGUES, 2007).

O entendimento do ciclo biogeoquímico do mercúrio ainda é muito limitado, provavelmente por causa da complexidade e enorme diversidade da floresta tropical. Na Amazônia, várias condições contribuem para o depósito de Hg no sistema terrestre, incluindo a grande afinidade com os oxihidróxidos de Ferro (Fe) e Alumínio (Al), que são carregados por lixiviação durante o período de chuvas, onde as inundações fornecem material necessário para alteração de suas propriedades físico-química entre eles o processo de metilação no ambiente aquático. Além desses eventos, a atividade microbiana intensa e a diminuição do Ph favorecem a biodisponibilidade do Hg (COELHO E SOUZA, 2007).

Em relação ao ciclo hidrológico na Amazônia e o comportamento do mercúrio no ambiente, ainda existem opiniões divergentes. Como Sampaio (2005) que aborda em sua pesquisa a dinâmica deste metal na região Amazônica influenciado pelos períodos mais chuvosos e menos chuvosos (inverno e verão Amazônico) e conclui que esta variação, exerce influência positiva nos níveis de mercúrio no ambiente. A intensidade das chuvas pode disponibilizar mais mercúrio dissolvido e aumento da quantidade de matéria orgânica. Outro estudo, contraria esta afirmação, cujos seus relatos sugerem que a estiagem favoreça a suspensão e movimentação do Hg contido nos sedimentos dos rios (LACERDA E MALM, 2008). Reforçando essa teoria, Coelho e Souza (2007) afirmam que, durante a seca as macrófitas se decompõem e o Hg possivelmente retorna aos sistemas atmosféricos e terrestres. Há evidências que as macrófitas sejam o elo entre o Hg inorgânico e o Hg orgânico.

### **3.3.1. A presença do mercúrio nos diferentes ecossistemas**

A Amazônia brasileira é detentora de vários cenários hidrográficos como: rios, lagos, igarapés, estuários e mares. Todos, com peculiaridades hidrodinâmicas distintas envolvidas no comportamento do mercúrio (SOUZA E BARBOSA, 2000; COELHO E SOUZA, 2007; LACERDA E MALM, 2008).

Alguns componentes do meio como as bactérias sulfato redutoras, pH, salinidade, presença abundante de matéria orgânica, presença de íons cloreto,

sulfeto, nitrato, nitrito, localização geográfica, ou seja, regiões próximas a atividades de mineração e por fim comunidade planctônica podem viabilizar a mobilidade e alterações nas formas de espécies químicas do mercúrio nestes corpos d'água, potencializando a poluição mercurial, e definindo-o como um contaminante global (BASTOS E LACERDA, 2004, LACERDA E MALM, 2008). Também deve ser considerado temperatura, luz solar e desmatamento que devem ser avaliados quando se busca a compreensão da dinâmica do Hg nesses ambientes (BISNOTI E JARDIM, 2004).

### 3.3.1.1 Região Marítima

O mar recebe em média 15% do mercúrio total (Hg-T) lançado no ambiente, o restante permanece entre estuários, oceanos e regiões costeiras vizinhas (MARINS *et al.*, 1999). A sazonalidade, nas regiões de água salina exerce influência direta nas comunidades zooplactônicas. O período em que chuvas são escassas, a salinidade se torna mais acentuada dificultando a proliferação desta população; vale destacar que, os plânctons em ambientes abióticos são considerado um aliado favorável ao fenômeno de metilação do Hg (VERAS *et al.*, 2007).

As diferentes características físico químicas em áreas de uma mesma região marítima é uma realidade, como exemplo, a variação do pH. Vilhena *et al.* (2003) estudando os mangues do município de Marapanin, localizado na microrregião do salgado, no estado do Pará, obteve pH de 6,16. No entanto, em um estudo realizado por Leal, (2001) no município de Bragança, que também pertence a zona do salgado do estado do Pará, o pH detectado foi 6.36. Essas variações entre as regiões marítimas podem ser justificadas pela variabilidade na presença de matéria orgânica, topografias distintas dos terrenos e oscilações do clima nos períodos de mais e menos chuva. Embora ambientes ácidos contribuam para a metilação do Hg, fica claro que as características físicas químicas assumem papel fundamental nessa transformação.

Níveis de mercúrio em animais marinhos já foram registrados. No estado de Pernambuco, Cavalcante (2003) investigou os níveis de mercúrio presentes em ostras capturadas na praia da Boa viagem, e encontrou valores que alcançaram 551µg/g de Hg. O autor associa esses achados à presença de uma indústria de cloro-soda próxima a praia, fortalecendo a ideia, que a interferência antropogênica é

uma condição importante na contaminação do meio ambiente e conseqüentemente na exposição humana. Os estudos realizados em regiões marítimas são de extrema relevância, uma vez que, é necessário investigar áreas marítimas impactadas pelo homem, e assim contribuir para mais laboratórios marítimos naturais para a pesquisa do mercúrio nesses ambientes.

### 3.3.1.2 Regiões de Estuário

As regiões estuarinas são semifechadas e sofrem a influência do mar e rios, e sua salinidade é influenciada diretamente pela ação das marés (LACERDA E MALM, 2008).

Os estuários atuam como mediadores do transporte de poluentes do continente para o mar, agindo como reatores biogeoquímicos que alteram a biodisponibilidade do mercúrio. Um dos processos mais importantes do mercúrio é sua interação com a matéria orgânica dissolvida que, aumenta a solubilidade e estabilidade do mercúrio em águas, favorecendo sua incorporação pelas cadeias alimentares e sua exportação para águas costeiras adjacentes (PARAQUETTI *et al.*, 2004; LACERDA E MALM, 2008).

Na região estuarina, o processo de eutrofização resultante do lançamento de esgotos em corpos d'água pode ser crítico, gerando condições que potencializam os efeitos das substâncias tóxicas por tornarem essas mais solúveis e biodisponíveis, como no caso de diversos estuários ao longo da costa brasileira (LACERDA E LACERDA, 2008).

Para Siqueira *et al.*(2005) o estuário santista, em São Paulo sofre total influência antropogênica. Neste estudo foi observado que os maiores pontos de contaminação por mercúrio nos sedimentos ocorriam nos pontos próximos de descarga dos efluentes submarinos na baía de Santos mostrando a força da influência antropogênica na avaliação da distribuição do Hg nos sedimentos desse estuário.

Os coloides e o material particulado exercem um papel importante na distribuição dos metais no ambiente. Cujo primeiro são pequenas partículas que não sofrem ação da gravidade e, possuem um elevado número de grupos funcionais reativos envolvidos no transporte do mercúrio em relação à condutividade elétrica, profundidade e na interface continente- oceano. No entanto, é importante mencionar

que esta participação se devem as características hidrodinâmicas de cada ecossistema (MARQUES, 2010). O material particulado é citado por Paraqueti *et al.*, (2002) em um estudo na zona estuarina do estado do Ceará, como um transportador de Hg para área costeira. Nesse estudo, os resultados obtidos mostraram que apenas 13% do Hg encontravam-se na forma dissolvida.

Outra característica dos estuários são os animais aquáticos que os habitam. Estes são considerados jovens, ou seja, ainda não atingiram a sua maturidade sexual, e se alimentam principalmente de frutas e detritos, o que justifica os baixos níveis de Hg apresentados em alguns estudos com peixes em regiões de estuário (COLINO *et al.*, 2009)

### 3.3.1.3 – Regiões fluviais

Na década de 80, alguns rios da região Amazônica foram amplamente impactados pela ação antropogênica por conta das atividades garimpeiras e construção de usina hidrelétrica. Dentre eles, o rio Tapajós e o rio Madeira, citados em vários trabalhos como elementos de investigação mercurial. Nestes rios, foram registradas concentrações significativas de mercúrio, em sedimentos, peixes e em humanos que residiam a suas respectivas margens, em virtude destas atividades (SANTOS *et al.*, 2000; PINHEIRO *et al.*, 2005, 2007; VERA, *et al.*, 2007; BASTOS, 2008; VIEIRA *et al.*, 2011; PINHEIRO *et al.*, 2012; IMAN AL SALEH *et al.*, 2013).

Para Bastos e Lacerda (2004), o mercúrio lançado nos rios da Amazônia na década de 80, ainda permanece ativo, distribuído em vários compartimentos fluviais, sujeitos a remobilização e incorporação biológica. Continua, portanto, uma ameaça à saúde do homem, alertando para a necessidade de um monitoramento em longo prazo, com o intuito de melhor compreensão do processo de biomagnificação, nos diversos ecossistemas.

Outro agravante do mercúrio nos rios da Amazônia é sua presença natural encontrada no sedimento do rio Negro (SOUZA E BARBOSA, 2000). Esta característica amplifica sua bioacumulação nos animais aquáticos. Uma vez que, níveis acima de 500 ng/g já foram encontrados em tucunarés fora da zona de atividade garimpeira, sugerindo que a região Amazônica é um ambiente onde o mercúrio não necessita de interferências humanas para que possa alcançar a

comunidade aquática e populações que tenham nos frutos do mar, a sua principal opção de dieta alimentar (VERA *et al.*, 2007).

### 3.4 FORMAS DE EXPOSIÇÃO HUMANA AO MERCÚRIO

Existem duas maneiras para o Hg chegar ao homem, a primeira é através da atividade ocupacional, cuja exposição ocorre pela inalação do vapor de Hg e/ou absorção cutânea (GIODA *et al.*,2007).

Como exemplo de exposição ocupacional ao Hg encontram-se as atividades odontológicas através da manipulação de amálgamas dentárias, uma vez que, alguns tipos consistem em aproximadamente 50% de Hg combinado com outros metais (35% de prata e 15% de cobre e vestígios de zinco). Esses tipos de amálgamas emitem Hg sob a forma de vapor que é inalado e absorvido na corrente sanguínea (GIODA *et al.*,2007).

Estudo de Hoyos *et al.*(2011) com trabalhadores expostos e não expostos ao mercúrio pela atividade garimpeira detectou níveis importantes na urina dos garimpeiros, e acima dos valores aceitos pela WHO de 35 mg/L, e diferença estatística na comparação das concentrações de Hg em indivíduos expostos e grupo controle.

Outra forma de exposição ao Hg é através da ingestão de alimentos contaminados, sendo o peixe o mais implicado nessa via, em que o tecido capilar é citado na literatura como o mais indicado para detecção do composto orgânico por ingestão de pescado, devido as suas características de afinidade a componentes sulfídricos presentes em proteínas capilares como a queratina (SOUZA & BARBOSA, 2000, SANTOS *et al.*,2003; VERA *et al.*, 2007; BASTOS, *et al.*, 2008, FARIAS, *et al.*, 2010).

A exposição ao Hg é frequente pela via alimentar, considerando os teores do metal encontrados em peixes, permitindo supor que no decorrer do tempo essa situação possa se agravar, principalmente em comunidades cuja dieta não é diversificada e apresenta deficiência nutricional. (FARIAS, *et al.*, 2010).

Em virtude dos acidentes ocasionados pelo mercúrio que resultaram em vários casos de intoxicação, o conhecimento dos níveis de tolerância estabelecidos por entidades governamentais são necessários a fim de auxiliar na identificação de

grupos populacionais específicos que podem estar em risco (WHO,2008). No Brasil, o órgão responsável é o Ministério da saúde, auxiliado pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA,1998).

Na Tabela 2 seguem as principais fontes de exposição humana ao Hg e os seus respectivos valores de referência estabelecidos pela legislação Brasileira (OMS).

**Tabela 2** - Níveis de concentração de Hg estabelecidos pela OMS.

<b>Fontes de exposição</b>	<b>Valores de referencia</b>
Água Potável	0,001mg/L
Peixe piscívoro	1 mg/g
Peixe não piscívoro	500 ng/g
Solo	0,5 mg/g
Ar	2 µg/g

Fonte: FIT, 2010.

### 3.5 ATIVIDADES ANTROPOGENICAS, A PROBLEMATICA DO MERCÚRIO NA AMAZÔNIA

Na Amazônia Brasileira, além da presença natural de Hg nos solos, outros fatores podem contribuir para a sua biodisponibilidade. Dentre essas, atividades antropogênicas como a construção de barragem, desmatamento, queimadas, agriculturas e atividade mineradora (BASTOS E LACERDA, 2004).

Os solos amazônicos apresentam elevadas concentrações de mercúrio natural o que favorece a contaminação em peixes mesmo em regiões livres da influência humana (SOUZA & BARBOSA, 2000). Além do seu transporte via atmosfera, que amplia a contaminação ambiental na Amazônia (HACON *et al.*, 1995)

As construções de barragens disponibilizam ainda mais o mercúrio, a partir da população de plânctons da região. Estudo realizado por Nascimento *et al.* (2009) no reservatório de uma usina hidrelétrica na Amazônia mostrou, que os níveis de mercúrio em plânctons são influenciados pelo aumento do fluxo de água do reservatório, que disponibiliza por meio da resuspensão mais matéria orgânica do sedimento.

A presença de atividade garimpeira na Amazônia e características físico químicas próprias do ambiente são fatores relevantes na biomagnificação deste elemento químico. Meios aquáticos com pH's baixo e escassez de oxigênio viabilizam a formação de metilmercúrio. (LACERDA & MALM, 2008).

No Brasil, durante a corrida do ouro, utilizava-se o mercúrio como parte do processo de separação, este era usado sem fiscalização e lançado no ambiente aquático, terrestre e atmosférico, contribuindo para uma contaminação ambiental, exposição ocupacional e comprometimento da qualidade de vida dos moradores que residiam às margens dos rios (MALM *et al.*, 1997).

Assim, a atividade antropogênica e a biodisponibilidade do mercúrio no ambiente aquático é decisiva para o acúmulo em tecidos de peixes, que são consumidos principalmente por populações ribeirinhas da Amazônia (VIEIRA *et al.*, 2011).

Vários estudos já foram realizados em humanos, residentes as margens dos rios da Amazônia, em áreas livres e expostas ao mercúrio. Neste último, valores acima de 10 µg/g já foram quantificados em amostras de cabelo de ribeirinhos e indígenas (AKAGI *et al.*, 1995; SÁ *et al.*, 2006, PINHEIRO, *et al.*, 2008; KHOURY *et al.*, 2013).

Em animais aquáticos estudo realizado na Amazônia por Silva *et al.* (2006), encontraram níveis de mercúrio total de 669 ng/g, entretanto, é importante considerar a variabilidade dos níveis de Hg em peixes de acordo com os hábitos alimentares, carnívoros e herbívoros, havendo maior bioacumulação a favor dos primeiros, devido a sua posição na cadeia alimentar como exemplo *Plagioscion spp*, *Pseudoplatystoma fasciatum*, *Osteoglossum bicirrhossum* (pescada, surubim, aruanã).

Rabito (2011) investigando os níveis de mercúrio presentes em amostras de *C. monoculus* (tucunaré), espécie considerada de grande representatividade ecológica, relevância nutricional e capturadas das águas da usina hidrelétrica de Samuel localizada no Rio Madeira, a concentração máxima nestes peixes atingiu 1,53 µg/g de Hg, níveis superiores para o consumo humano (500 ng/g), reforçando a preocupação quanto à contaminação por mercúrio nos peixes da Amazônia.

Amazônia é detentora de uma grande diversidade de peixes e frutos, o que deveria representar uma abundante oferta e utilização de proteína de boa qualidade

biológica, calorias, vitaminas, minerais e assim viabilizar um adequado padrão de saúde, nutrição e qualidade de vida para sua população (ALENCAR *et al.*, 2007). No entanto, quando os níveis de Hg encontrados nos peixes consumidos pelos amazônidas são impróprios ao consumo, estes podem comprometer a saúde da população caso não haja implantação de medidas educativas que orientem para a escolha de espécies menos contaminadas (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Ainda que alguns estudos sugiram que os níveis de contaminação por Hg estejam diminuindo em humanos da região Amazônica, como a região do Tapajós no estado do Pará, no qual é considerada exposta ao Hg (PINHEIRO *et al.*, 2012 e KHOURY *et al.*, 2013) isso não acontece no meio ambiente, principalmente em peixes da região Amazônica, já que estes apresentam um nível de Hg elevado principalmente de metilmercúrio (ARRIFANO, 2011).

Desta maneira, as pesquisas na Amazônia pautada na exposição humana e contaminação ambiental por mercúrio, ainda não estão bem definidas. Uma vez que, elevados níveis Hg ainda são registrados nos rios e em populações residentes nesta região. Embora sejam numerosos os registros de publicações nesta temática, ainda há necessidade de mais estudos para uma melhor compreensão dos processos de biomagnificação e bioacumulação deste elemento (HACON *et al.*, 2008).

### **3.5.1 A ingestão de peixe como principal via de exposição ao mercúrio na Amazônia**

A contaminação por Hg em peixes é de extrema relevância. Concentrações de mercúrio total (Hgtotal) encontradas em diferentes espécies de peixes capturados em diferentes áreas da bacia Amazônica mostram que a contaminação do ecossistema aquático é abrangente. Algumas espécies de peixes consumidos pela população ribeirinha do Rio Madeira segundo estudo de Bastos (2008), e na região do Tapajós respectivamente revelaram-se impróprias para consumo (SANTOS *et al.*, 2000; VERA *et al.*, 2007).

No Brasil, os limites estabelecidos pela legislação vigente para consumo seguro de peixes é de 0,5 mgHg/kg para pescado não-predador (herbívoro) e de 1,0 mgHg/kg para pescado predador ou piscívoro, mas existem outros parâmetros que podem ser considerados (SWEET & ZELIKOFF, 2002). A Organização Mundial de Saúde, determina 0,5 mgHg/kg para peixes predadores e 0,2 mgHg/kg para



herbívoros. A organização internacional de consumo alimentar estabelece 0,5 mgHg/kg para peixes herbívoros e 1.0 mgHg/kg para peixes de hábito carnívoro. No entanto este último se refere à forma de metilmercúrio.

Algumas espécies de peixes em áreas sob influência da garimpagem de ouro apresentam valores próximos aos de grandes predadores como tubarões, que em geral, possuem concentrações de Hg acima do limite permitido pela WHO (CASTILHOS E RODRIGUES, 2007).

Na tabela 3 segue descrito valores de concentração de mercúrio de algumas espécies em um estudo realizado por Bastos *et al.*, (2008) na região Amazônica.

**Tabela 3-** Concentração de Hg- T em peixes na região Amazônica

<b>Espécie</b>	<b>Nome Comum</b>	<b>Hábito Alimentar</b>	<b>Total de µg/K</b>
- <i>B.flavicans</i>	Dourada	Carnívoro	0.907
- <i>S.rhombeus</i>	Piranha Preta	Carnívoro	1.697
- <i>P.fasciatum</i>	Surubim	Carnívoro	0.660
- <i>P.squamossimus</i>	Pescada	Carnívoro	0.449
- <i>B.filamentosum</i>	Filhote	Carnívoro	1.359
- <i>C.ocelaris</i>	Tucunaré	Carnívoro	0.524
- <i>H.malabaricus</i>	Traíra	Carnívoro	0.432
- <i>A.gigas</i>	Pirarucu	Piscívoro	0.343
- <i>L.varia</i>	Piau	Herbívoros	0.151
- <i>L.friderici</i>	Aracu	Herbívoros	0.334

Fonte: BASTOS *et al.*, 2008.

Além disso, nas áreas sem impacto da atividade garimpeira, também já foram relatados níveis elevados de Hg em peixes como 1,336 mg/g (FAIAL *et al.*, 2005). Esse comportamento pode ser explicado pela volatilidade do Hg facilitando seu transporte na atmosfera a longas distâncias. Estudo sobre taxas de emissão de Hg dos rios, cuja forma volátil ( $Hg^0$ ) apresentou concentrações até 20 vezes maiores que sua saturação, indicou perda considerável para a atmosfera através da volatilização (AMOUROUX *et al.*, 1999).

Estudo de Rabitto *et al.* (2011), realizado em na reserva de Samuel, considerada uma área não afetada pela atividade garimpeira, investigou os riscos potenciais do Hg em amostras de *Chicla Monolucus*, nome comum tucunaré. Seus resultados mostraram que mais de 40% das amostras estavam com níveis de Hg

acima do recomendado pela WHO. Foram observadas também alterações neurológicas detectadas por exames histopatológicos naquelas amostras. Este estudo mostrou que a população selvagem de peixe é afetada pela exposição crônica ao mercúrio, significando risco também para os peixes que se alimentam destas populações. Finalmente, os resultados demonstraram sobretudo que a *C. monoculus* é um importante veículo para a exposição humana ao mercúrio neste reservatório, e necessário um contínuo biomonitoramento dos níveis de Hg, a fim de gerir o risco de exposição para as populações humanas.

Ainda que a exposição dos animais aquáticos ocorra sob concentrações de Hg baixas, em ambientes moderadamente contaminados por um longo período de tempo, essas podem trazer danos ao crescimento, sobrevivência e reprodução de comunidades de organismos, comprometendo seriamente a biodiversidade e manutenção dessas comunidades; assim como trazer danos deletérios a saúde humana devido ao seu efeito acumulativo através de ingestão diária de peixe levemente contaminado ( FILHO *et al.*, 2008 ; VIEIRA *et al.*, 2011; AMARO *et al.*, 2014).

O hábito alimentar do pescado e local de captura são informações relevantes na hora da escolha da espécie para consumo. Uma vez que, grandes variações de Hg-T intra e inter espécies foram encontradas a partir de uma mesma fonte, e/ ou de fontes variadas. Os maiores valores encontrados foram em peixes piscívoros e onívoros com concentrações acima de 0,5 mg/g em alguns casos e os locais de captura em regiões próximas a garimpo ou com registros de grandes impactos ambientais, como a construção de barreiras, queimadas e desmatamento (LACERDA E MALM, 2008; ARRIFANO, 2011; AMARO *et al.*, 2014).

O consumo de peixe é o principal contribuinte para o risco de mercúrio para os seres humanos e animais selvagens. Esta toxicidade levou órgãos reguladores a concentrar em peixes como um organismo alvo para proteger a saúde dos seres humanos e outros organismos sensíveis. Diferentes diretrizes foram estabelecidas para regular a ingestão de mercúrio, especialmente em relação ao consumo de frutos do mar. A OMS recomenda um consumo adulto de menos de 0,3 mg de mercúrio por pessoa na semana (WHO,1990).

### 3.6 MECANISMOS DE AÇÃO TÓXICA DO Hg BASEADO NO ESTRESSE OXIDATIVO

Efeitos do estresse oxidativo em nível celular resultantes da exposição ao metilmercúrio têm sido relatados na literatura, entre eles, a peroxidação lipídica, alteração dos níveis de glutathiona (HIRAYAMA & YASUTAKI, 2001; PINHEIRO *et al.*, 20005; ATLIN & CALIM, 2007) e danos ao Acido Desoxirribonucleico (DNA) (BJOUBIRRA *et al.*, 2000; FANTINEL,2012).

No estudo de Glasse (2010) com animais expostos ao metilmercurio foi observada a indução do estresse oxidativo, diminuição da atividade dos complexos da cadeia respiratória e inibição severa da enzima creatina cinase, tanto em sistemas *in vivo* como *in vitro*. Dessa maneira, fica claro que o metilmercúrio tem capacidade para prejudicar a produção de Adenosina triphosohato –ATP, tendo como alvo a mitocôndria e o metabolismo energético.

Os compostos de Hg atuam no ciclo redox celular, induzem a formação de espécies Reativas de Oxigênio (STOHS E BAGCHI,1995; CLARKSON,1997, MILAEVA *et al.*, 2004). As EROS apresentam elétrons não pareados em sua órbita externa e sua produção ocorre, sobretudo nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma (ANDRADE JR *et al.*,2005). Além disso, a base da mobilidade e toxicidade do Hg no corpo são os grupos tióis o que dificulta o conhecimento do inicio da toxicidade desse metal (CLARKSON, 1997).

Ligados a esses tióis os metais tem maior facilidade de entrar em vários tipos celulares via mimetismo molecular. Esse fenômeno refere-se aos íons metálicos com grupos nucleofílicos que se ligam em certas biomoléculas resultando na formação de complexos organometálicos que podem se comportar ou servir como estruturas homólogas de outras biomoléculas endógenas (BRIDGES & ZALLUPS, 2005).

Em estudo recente conduzido por Silva Espin *et al.* (2014) em amostras de abutres expostos ao mercúrio através da alimentação de dois locais distintos da Espanha, foram pesquisados os níveis necessários de alguns metais, entre eles o mercúrio, para a indução do elementos do sistema antioxidante. Níveis acima de 3 µg/g já eram suficientes para o aumento da atividade enzimática da SOD, e formação de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico- TBRAS, produto da peroxidação lipídica de membranas celulares. Neste estudo, ainda foi possível

mostrar que as enzimas SOD, CAT, GSH-x e presença de peroxidação lipídica em amostras são biomarcadores importantes na avaliação do status oxidativo em sistemas biológicos.

### 3.6.1 O Hg e a peroxidação Lipídica

Na presença de oxigênio os radicais livres podem causar peroxidação dos lipídios das membranas e organelas celulares. A lesão oxidativa é desencadeada quando as ligações duplas de ácidos graxos insaturados dos lipídios das membranas são atacadas por radicais livres derivados do oxigênio, particularmente pelo radical OH (FREEMAN & CRAPO, 1982; DEBY & PINCEMAIL, 1986).

As interações lipídio-radical geram peróxidos, os quais são instáveis e reativos, e sobrevivem uma reação em cadeia auto catalítica (denominada propagação) que, podem resultar em lesão extensa das membranas, organelas e células (VACA E WILLIAN HARMS-RINGDAHL, 1988)

Dessa maneira, os efeitos celulares relacionados à peroxidação lipídica via estresse oxidativo podem levar a transtornos da permeabilidade celular alterando o fluxo iônico, o que resulta na perda da seletividade e comprometendo os componentes da matriz extracelular como os proteoglicanos, colágeno e elastina (VACA, WILLIAN HARMS-RINGDAHL, 1988; BABER E HARRIS, 1994). Além de contribuir na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, tais como o malondialdeído, 4-hidroxinonenal e isoprostanos, que podem ser detectados em amostras biológicas e utilizados para se avaliar o estresse oxidativo (LIMA E ABDALLA 2001).

O equilíbrio entre a produção e o combate de radicais livres é fundamental para manter a integridade das estruturas moleculares – proteínas, lipídios, carboidratos, nucleotídeos –, necessária para sustentar a homeostase metabólica. A peroxidação lipídica induzida por radicais livres é um dos danos moleculares mais expressivos do processo metabólico degenerativo molecular (SANTOS *et al.*, 2007).

Aminoácidos como triptofano, cisteína, histidina e tirosina também podem sofrer modificações por conta da exposição ao mercúrio via peroxidação lipídica, o que torna esse evento preocupante, uma vez que os aminoácidos participam na formação de algumas proteínas o que pode resultar em processos mutagênicos

(ROVER JÚNIOR *et al.*, 2001). Allen *et al.* (2002) também observaram alterações no transporte, inibição e captação da cisteína em astrócitos quando expostos ao metilmercúrio e conseqüente diminuição dos níveis de glutathiona reduzida (GSH).

Recentemente estudo conduzido por Rodrigues *et al.* (2013), utilizando baratas *Nauphoeta cinerea* expostas de forma aguda a 40 mg/L de HgCl<sub>2</sub>, durante sete dias, observaram aumento na formação de TBRAS, hidroperóxidos e diminuição dos níveis de GSH. A indução dos sinais de estresse oxidativo e inibição de integrantes do grupo de antioxidantes na presença de Hg foram claramente observadas *in vivo*, além da modulação da taxa de sobrevivência dos insetos utilizados neste experimento.

### 3.6.2 O Hg e o sistema glutathiona

No sangue praticamente todo o metilmercúrio encontra-se ligado à albumina, glutathiona e cisteína (HIRAYMA *et al.*,1980; YUSUTAKE *et al.*, 1991; ALENNA *et al.*,2001). Essas formas conjugadas ao mercúrio circulam facilmente pela corrente sanguínea e em alguns casos permitem melhor absorção e captação do mercúrio pelos tecidos (HIRAYMA *et al.*,1975; 1980; ROOS, 2009).

A alta afinidade do metilmercúrio pelos grupos tióis configura como a principal responsável pela diminuição dos níveis intracelulares de GSH (ALENNA *et al.*,2001), conforme achados de Ashour *et al.*(1993) que investigou os teores de GSH e a atividade da enzima GSH-Px a fim de buscar a toxicidade do metilmercúrio em hepatócitos de ratos, e como resultado a GSH se mostrou deprimida em altas concentrações do metal nas amostras avaliadas.

A glutathiona é considerada o principal antioxidante endógeno do organismo, responsável pela manutenção do estado redox normal. A forma reduzida da glutathiona mantém os grupos tióis das proteínas estáveis, reduz ligações dissulfeto induzidas pelo estresse oxidativo, neutraliza radicais livres, dentre outras funções. Por isso, a concentração intracelular da GSH é um indicador da capacidade da célula em manter sua homeostase (SOUZA *et al.*,2004). Seus níveis podem ser quantificados em eritrócitos conforme modelo descrito por Anderson (1985).

O metilmercúrio conjuga-se ao grupamento-SH da GSH e aos resíduos de CYS, minimizando os seus efeitos, impedindo a sua ligação com proteínas celulares (RISHER & AMLER,2005). É importante mencionar que a CYS é um importante

precursor da GSH, e sua concentração intracelular é um fator determinante da GSH (BANNAI, 1984). Desta maneira, altas concentrações de Hg no corpo podem levar ao esgotamento das defesas antioxidantes como a glutathiona, favorecendo os eventos relacionados à produção exacerbada de EROS contribuindo ao aparecimento de doenças ocasionadas pelo EO (STHOLS & BAGHI,1995, ANGUSTI,2007).

Wolf e Baynes (2006) investigando as habilidades do mercúrio em causar disfunção em monocamadas de células endotelial de artérias bovinas em níveis baixos de Hg detectou depleção dos níveis de GSH. No entanto, os níveis de GSH se mostraram mais elevados em concentrações mais altas do metal sugerindo que exposições mais elevadas ao metal podem ter uma ação menos citotóxica, funcionando como uma resposta compensatória de proteção, o que poderia explicar o limiar de toxicidade do Hg em algumas populações já estudadas.

### 3.6.3 O Hg e o DNA

Em decorrência da diminuição dos níveis de GSH no sangue, em situações de exposições humana ao mercúrio, concentrações de peróxido de hidrogênio podem aumentar, uma vez que a forma GSH-Px tem como uma de suas especialidades converter  $H_2O_2$  em  $H_2O$  (LUND *et al.*, 1991, NISHIOKU *et al.*,2000) .

O acúmulo de  $H_2O_2$  reage facilmente com outros íons metálicos como ferro e cobre, em uma reação denominada reação de Fenton formando o radical hidroxila (OH). Esse radical tem grande afinidade pelos ácidos nucléicos desencadeando efeitos genotóxicos sistêmicos que levam a quebras no DNA e ao acúmulo de mutações que podem tornar a célula disfuncional ou desencadear sua morte via apoptose pela ativação de caspases ou necrose (LUND *et al.*, 1991, NISHIOKU *et al.*,2000). Chunying Chen *et al.* (2005), contribui com esta afirmação, pois admite que a quebra do DNA pode estar associado com a produção de radicais livres *in vivo* causada pelo mercúrio, indicando que ocorre hidroxilação de bases de DNA, por meio da reação deste com o radical Hidroxila.

As alterações genéticas têm sido associadas à exposição ao mercúrio em humanos. Skerfving *et al.*(1970) relataram uma correlação positiva entre as

concentrações de Hg no sangue e aberrações cromossômicas em linfócitos de pessoas que consumiram peixes contaminados por Hg.

Estudos associaram alterações cromossômicas à intoxicação por mercúrio no sistema masculino reprodutivo o que resulta na redução da motilidade espermática e ruptura cromossômica na cabeça do espermatozoide, formando assim microvesículas de tamanho variado (ALABI, *et al.*,1985; CASTELINNI *et al.*,2009)

Adicionalmente, o estudo de LIU *et al.*(2011) observou que o mercúrio foi capaz de induzir a teratogênese e a morfogênese de vermes nematódeos machos (*Caenorhabditis elegans*) via estresse oxidativo. Colaborando com esse achado, Fatinel (2012), estudando a genotoxicidade do metilmercúrio detectou diversos efeitos adversos na qualidade espermática do sistema reprodutor masculino *in vitro*, entre eles a degeneração testicular.

Estudo conduzido por Elbaz *et al.* (2010) detectaram alterações na expressão de genes responsáveis pelas atividades das enzimas SOD e CAT em *Chlamydomonas reinhardtii*. Nessa Investigação, também foi avaliada a transcrição D1-pirrolina-5-carboxilato de etilo sintetase sob o efeito de Hg, uma enzima-chave da biossíntese de prolina e da heme oxigenase-1 (HO-1), responsáveis pela regulação da tolerância a metais; manifestações de ambos se apresentavam super reguladas por exposição ao Hg. Estes dados indicaram que o estresse oxidativo induzido pelo mercúrio foi responsável pela perturbação do crescimento celular e das defesas antioxidantes em *C. reinhardtii*

Iman al-Salle *et al.*(2012) estudando biomarcadores do estresse oxidativo na urina de crianças com restaurações de amálgama, entre eles o MDA e a 8-OH-2Deoxyguanosina (8-OHdG), sendo este último considerado produto de danos oxidativo no DNA De Marco *et al.* (2012) mostrou uma forte associação da 8-OHdG, com exposição a longo prazo e a baixos níveis de Hg, sugerindo uma resposta de dose e efeito.

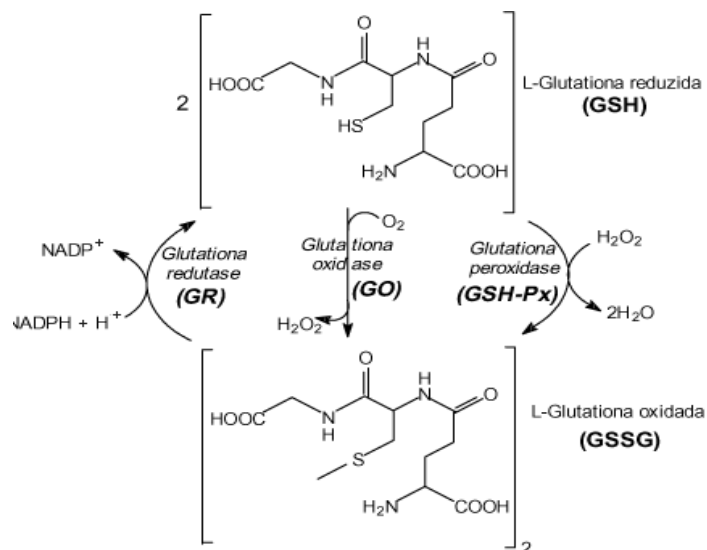
Em ribeirinhos da Amazônia com grande consumo de peixe na dieta foram observadas alterações no índice mitótico, efeito clastogênico causando quebra de cromátides (AMORIM *et al.*, 2000). Nesse estudo, há uma clara associação entre metilmercúrio e lesão citogenética em linfócitos de pessoas apresentando concentrações menores que 50 µg/g de Hg. Níveis iguais ou maiores de 50 µg/g de

Hg em amostras de tecido capilar são considerados de risco para o aparecimento de sinais clínicos iniciais de intoxicação (WHO, 1990).

### 3.7 INTERAÇÃO ENTRE O MERCÚRIO E ANTIOXIDANTES ENDOGENOS

O principal mecanismo de detoxificação do mercúrio é sua interação com a molécula de glutathiona, visto as suas características sulfidrilicas, favorecendo sua ligação aos compostos de Hg (RISHER E AMLER, 2005). Além disso, esse complexo é apontado durante a eliminação do metal na bile, cuja taxa de secreção do mesmo parece ser dependente do teor de GSH (BALATORI E CLARKSON, 1985)

A glutathiona é um tripeptídeo que possui radical sulfidrilica na sua estrutura e se apresenta na forma reduzida de tiol (GSH) e na oxidada (GSSG), na qual dois tripeptídeos são ligados por uma ponte dissulfeto. A enzima responsável pela redução de GSSG a GSH é a glutathiona redutase, uma flavoproteína que utiliza NADPH como fonte de elétrons e prótons para a reação de redução (BERG *et al.*, 2004).



**Figura 2** – Interconversão nas suas formas reduzidas (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona oxidase (GO) e glutathiona redutase (GR).

**Fonte:** ROVER, J. *et al.*, 2001

A glutathiona peroxidase, exerce função importante na oxidação e na desintoxicação de substâncias geradas pelos xenobióticos, como peróxido de hidrogênio ou peróxidos orgânicos, cofatores para formação de GSSG (TEKMAN *et*



*al.*, 2008). Ela apresenta um átomo de selênio (Se) ligado ao seu centro reativo, em forma de seleneto (enzima-Se) que reduz o substrato peróxido a um álcool, que por sua vez, oxida o ácido selenênico (enzima-SeOH). Essa reação permite a interação da enzima com a glutatona reduzida formando seleno-sulfeto (enzima-Se-S-Glutatona). A interação desse complexo com a segunda molécula de glutatona reduzida forma a GSSG, que regenera a forma ativa da enzima (BERG *et al.*, 2004). A quantidade mínima de SE para atividade perfeita da GSSG é de 80 ug/L, quando esses níveis se encontram abaixo de 20 ug/L, o limite limiar para a doença de Keshan (IMAN AL-SALEH *et al.*, 2013).

De maneira interessante, Iman al- Saleh *et al.* (2013), estudando a concentração de selênio e Hg transferidos de forma vertical, observou que tanto o Se quanto o Hg foram detectados em placenta, com uma quantidade favorável ao Se quando comparada ao mercúrio. Essa desproporção entre o Se eo Hg, pode ser explicada pelo tempo de exposição, que por sua vez pode afetar a biodisponibilidade do Hg. Outro achado neste estudo foi a associação entre os níveis de Hg/Se associado positivamente aos de MDA em tecidos placentários.

Em relação às enzimas catalase e superóxido desmutase já foi comprovado que a exposição ao Hg pode interferir em suas atividades. No entanto, estudos demonstram diferentes resultados na literatura relacionados a essas enzimas conforme demonstrou estudos de Arizan, Bullat *et al.* (1998) e Hussan *et al.*(1999).

Arizan (1998), demonstrou que cloreto de mercúrio ( $HgCl_2$ ) induz a formação de  $H_2O_2$ , estimula a atividade da SOD e não afeta a atividade da CAT e da GSH-Px, entretanto Bulat *et al.* (1998) estudando trabalhadores expostos ao Hg inorgânico em ambas as enzimas (CAT e GSH-Px) encontravam-se diminuídas. Os estudos de Hussan *et al.*(1999) demonstraram que  $HgCl_2$ , administrados em camundongos, ao invés de reduzir as defesas antioxidantes, causava uma elevação nas atividades da SOD, GSH-Px e GSH.

Em ratos machos Wistar, Gutierres (2002) verificou que o  $HgCl_2$  produziu modificações tempos-dependentes na atividade das enzimas antioxidantes e no nível de antioxidantes não enzimáticos hidrossolúveis em período subagudo, agudo e crônico, no plasma dos animais experimentais.

Entre as proteções não enzimáticas compreende além da glutatona, as vitaminas E ( $\alpha$ -tocoferol) e C (ácido L- ascórbico). A vitamina E é uma molécula

lipossolúvel e tende a se concentrar no interior das células, agindo sinergicamente com ascorbato. Ambos os radicais não são muito reativos inviabilizando o processo de lipoperoxidação (MEISTER *et al.*,1983). No entanto Zalups *et al.* (2000) demonstrou em seus estudos que a exposição ao mercúrio pode reduzir as concentrações de vitamina C.

No que se refere aos antioxidantes, se tem defendido o estudo da capacidade antioxidante total (TEAC). Nessa análise, leva-se em conta a ação acumulativa de todos os antioxidantes presentes; obtém-se um parâmetro integrado, capaz de revelar nuances acerca do delicado equilíbrio redox existente *in vivo*. A medida do TEAC auxilia na avaliação dos fatores nutricionais, fisiológicos e ambientais do balanço redox em seres humano (GHISELLI, *et al.*,2000).

A quantificação da atividade antioxidante não enzimática se dá através da captura do radical 2.2' -azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Nessa técnica mede-se a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI *et al.*,2005).

### 3.8 DANOS DECORRENTES DA EXPOSIÇÃO AO Hg

A exposição a forma orgânica do mercúrio (metilmercúrio) representa um perigo a saúde humana. Esse fato é atribuído a sua maior solubilidade em lipídios atravessando com facilidade a membrana plasmática, barreira placentária e hematoencefálica (USEPA, 1997), podendo desencadear problemas cognitivos, motores, visuais, auditivos, cardíacos, fertilidade e entre outros problemas de saúde (GUALAR *et al.*, 2002; HACON,2008; DUTRA *et al.*,2010; FATINEL, 2012).

Dutra *et al.*(2010), estudando dois grupos de adolescentes um exposto ao Hg e outro não exposto, identificou no primeiro grupo desempenho inferior ao segundo grupo estudado com resultados estatisticamente significantes para os testes de memória, sequência verbal, além de observar a presença de alterações nos processos auditivos na percepção de sons breves e sucessivos.

Os distúrbios auditivos são frequentemente observados e são caracterizados por hipoacusia neurológica, particularmente, pela surdez de labirinto (cortical temporal) posterior. O indivíduo exposto geralmente descreve que pode ouvir as palavras, porém não pode compreender o que esta sendo dito. Caracterizam-se,

portanto, por alterações em testes de discriminação da palavra e no audiograma de Tom (HAMADA, 1996; HARADA, 1997).

CUBAS (1998) detectou que o Hg causa lesão também nas células sensoriais da cóclea e do sistema vestibular, com degeneração citoplasmática e de fibras de mielina, atingindo tanto as vias aferentes quanto as eferentes. Além do comprometimento precoce das vias auditiva e vestibular, pois ainda que os níveis biológicos do metal não atinjam valores significativos de intoxicação e o exame clínico-neurológico se apresente normal, é possível haver lesão auditiva e vestibular em pessoas expostas ao Hg.

O Hg pode desencadear problemas visuais em humanos, conforme demonstrou Hacon (2008) que avaliou as funções visuais e motoras dos indivíduos expostos através de testes neurofuncionais sensíveis. Nesse estudo foi observado um decréscimo significativo destas funções, estabelecendo uma relação com o aumento nos níveis de Hg no cabelo, sendo que estas manifestações estavam presentes com níveis de Hg abaixo de 50 µg/g. Entre as funções motoras comprometidas encontravam-se a destreza e coordenação manual além da fadiga muscular.

Em outro estudo conduzido por Silveira *et al.*(2004), foi avaliado o desempenho do sistema visual em dezoito indivíduos expostos a níveis altos de mercúrio metálico ou compostos organomercuriais. Foram encontrados os seguintes resultados: sensibilidades mais baixas nos indivíduos expostos ao Hg, quando comparados ao grupo controle em todos os testes de sensibilidade ao contraste espacial cromático em verde-vermelho, verde-azul além de uma maior pontuação na capacidade de ordenamento de cores avaliada com o teste de Farnsworth-Munsell de 100 matizes.

Problemas cardíacos igualmente já foram relatados na literatura em relação à exposição mercurial. Estudos publicados por Guallar *et al.* (2002), relatou que uma dada concentração de Hg está arrolado ao risco de enfarte do miocárdio reportando dessa maneira associação entre doenças cardiovasculares e Hg, principalmente na forma de metilmercúrio.

Virtanem, *et al.* (2007) descreveu em sua revisão, que a exposição ao mercúrio está associado com os fatores de riscos das doenças cardiovasculares. Indivíduos que apresentavam concentrações de mercúrio no cabelo apresentaram

associação estatisticamente significativa de danos ao coração quando agregados a idade, o hábito de fumar, o colesterol total, o fibrinogênio no plasma e diabetes tipo dois, além de diminuir a capacidade de oxigênio no organismo. No entanto, não relacionou com a pressão arterial, a concentração de homocisteína e históricos positivos de isquemia em família. Desta maneira o mercúrio é um poluente ambiental, que promove o estresse oxidativo e está associada com múltiplos impactos desvantajosos da saúde humana.

A deterioração da qualidade espermática, degeneração testicular e infertilidade foram confirmadas por Fantinel (2012) após estudar os efeitos *in vitro* de *Paullinia cupana* no metabolismo oxidativo de espermatozoides humanos expostos ao cloreto de metilmercúrio. Nesse estudo, a *Paullinia cupana*, demonstrou efeito protetor sobre o esperma humano exposto ao metilmercúrio *in vitro*.

Em relação à função hepática, Silva (2011) mostrou em *Cebus apella* que a hepatotoxicidade do metilmercúrio está possivelmente associada a desordens metabólicas dos lipídeos considerando que, mesmo em exposições a baixas doses de metilmercúrio, como as que utilizou em seus estudos, 1,5 ppm por 120 dias, este pode levar a efeitos patológicos como: esteatose e moderada degeneração hidrópica, um achado comum na exposição ao metilmercúrio em muitas outras espécies.

No que se diz respeito a alguns componentes do sistema imune, Brandão *et al.* (2006) demonstraram que linfócitos e linhagens linfoblásticas tratadas com mercúrio orgânico e inorgânico, apresentaram um decréscimo significativo em termos de capacidade proliferativa produção de citocinas e secreção de imunoglobulinas.

A correlação do metilmercúrio foi relatada com o autismo mediado via estresse oxidativo conforme estudo de Leslie & Kolger (2011). Em adição a esses dados correlacionais, algumas investigações têm estabelecido evidências biológicas entre comparações de pacientes controles e subgrupos com autismo, os últimos apresentam os mais altos níveis de biomarcadores de estresse oxidativo ocasionado por metilmercúrio (GEIER & GEIER 2006; GEIER *et al.*, 2009). As crianças autistas demonstram uma capacidade diminuída para excretar metais pesados, e normalmente baixos níveis plasmáticos de determinados metabolitos antioxidantes ( GEIER *et al.*, 2009).

Estudo recente realizado por Khoury *et al.*(2013) em duas comunidades ribeirinhas da região do Tapajós, e uma controle na região do tocantins, investigou os níveis de Hg dessas populações e associação clinica neurológica. Neste estudo, Dentre os distúrbios relacionados ao equilíbrio, a marcha alterada, caracterizada por desvio com olhos fechados, foi observada apenas nas comunidades expostas, sendo mais frequente em São Luiz do Tapajós (16,7%). Na avaliação dos reflexos osteotendinosos (profundos), a hiper-reflexia foram relativamente frequentes nos membros superiores e inferiores nas áreas expostas.

A avaliação clínica e neurológica em populações que vivem longe de áreas de mineração de ouro, mas com altas concentrações de mercúrio no cabelo também é reivindicada. Propostas interessantes e recentes (Silva *et al*, 2004; PINHEIRO, *et al*, 2008) incluem um estudo comparativo e simultâneo de populações expostas e não expostas com características semelhantes (étnica, econômica, educacional, etc), que destaca claramente as alterações de processos celulares iniciado pela toxicidade do mercúrio, excluindo interferências como estilo de vida entre outros.

Os vários experimentos de intoxicação por MeHg *in vitro* e *in vivo* contribuíram positivamente para a compreensão dos sintomas clínicos e alterações histológicas induzidas pelo presente neurotóxico em humanos, sobretudo na elucidação dos mecanismos moleculares que medeiam a neurotoxicidade. Estes conceitos nos proporcionaram bases bioquímicas para a compreensão, contribuindo para a descoberta de moléculas endógenas e exógenas que neutralizam e proporcionam meios eficazes para tal toxicidade. No entanto, os dados sobre os mecanismos moleculares ainda não foi totalmente esclarecido. Admite-se que a sensibilidade particular do cérebro em desenvolvimento a toxicidade MeHg , o papel crítico das selenos proteínas e o papel protetor de compostos de selênio também são discutidos (FARINA *et al.*, 2013)

Diante dos fatos, todas essas patologias desencadeadas pela toxicidade do Hg e a dificuldade na compreensão de seus respectivos mecanismos o tornam consideravelmente grave em países em desenvolvimento principalmente devido ao desconhecimento por parte de profissionais da área dos efeitos adversos da sua exposição (BASTOS *et al.*,2010).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 GERAIS**

Avaliar os níveis de Hg-T, status oxidativo e antioxidativo em populações consumidoras de pescado de regiões geográficas diferentes do estado do Pará.

### **4.2 ESPECIFICOS**

- Quantificar os níveis de mercúrio total em amostras de cabelos nas populações de estudo;

- Dosar os níveis de estresse oxidante MDA e GSSG nas amostras sanguíneas das populações.

- Avaliar os níveis antioxidantes glutathiona reduzida e capacidade antioxidante total (TEAC) no sangue das populações em estudo.

- Associar os níveis de mercúrio total encontrado nas amostras com os níveis de oxidantes e antioxidantes medidos nas comunidades.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo observacional de base transversal, desenvolvido em diferentes regiões geográficas do estado do Pará no ano de 2013 envolvendo populações que dependem do peixe como principal fonte de proteína da dieta.

### 5.2 CARACTERÍSTICAS DAS REGIÕES DE ESTUDO

Participaram deste estudo, três municípios do estado do Pará de ecossistemas distintos: Itaituba, Limoeiro do Ajuru e Bragança.



**Figura 3.** Mapa do Estado Pará, destacando as cidades a serem estudadas: Itaituba, Limoeiro do Ajuru, Bragança e Belém como sede da pesquisa.  
Fonte: Carlos Costa, 2013.

#### 5.2.1 - Município de Itaituba - Região do Tapajós

O município de Itaituba possui várias comunidades distribuídas às margens do rio Tapajós, habitadas por famílias que vivem particularmente da agricultura da mandioca e da pesca de subsistência. Dentre essas comunidades, foi escolhida para este estudo a de Barreiras. Esta comunidade está localizada a margem esquerda do rio Tapajós, no limite com o município de Aveiro. O acesso à cidade de Itaituba se faz principalmente por via fluvial, usando o mesmo rio. A população residente é de 746 habitantes incluindo adultos e crianças, distribuídas em aproximadamente 200 edificações, construídas ao longo de três ruas e quatro travessas. A produção agrícola do povoado resume-se praticamente à mandioca. A base de proteína da

alimentação é o pescado da região. Parte da população se dedica à pesca (PINHEIRO *et al.*, 2005).

### **5.2.2 Município de Limoeiro do Ajurú - Região do Tocantins**

O Município de Limoeiro do Ajurú situa-se a uma latitude O 1° 53'43'' Sul e uma longitude 49° 22'50'' oeste estando a uma altitude de 28 metros. Está localizado na região da ilha do Marajó, na foz do Rio Tocantins, frente à Baía, no leste paraense, precisamente no limite da Microrregião do Baixo Tocantins. Possui uma população de 23.284 habitantes dentro de um território de 1.490Km<sup>2</sup> (IBGE,2010), onde menos de 20% vive na área urbana. A maioria da população encontra-se na zona rural, vivendo as margens do rio. O Município possui uma renda per capita de 64,41 reais com índice de desenvolvimento (IDH) muito baixo (0,642). A comunidade ribeirinha Samaúma foi a selecionada para o presente estudo, com 150 moradores que sobrevivem da pesca, da extração e consumo do açai. O transporte fluvial é o principal meio de acesso ao município (IBGE, 2010).

### **5.2.3 Município de Bragança- Região do Salgado**

O Município de Bragança está localizado na costa Atlântica, mesorregião do Nordeste Paraense. Situado a uma latitude S 01°06'13'' Sul longitude W 46° 77'56'' oeste, altitude de 19metros. Possui uma área de 2.090,23Km<sup>2</sup> e uma população estimada de 113.803 habitantes (IBGE,2010). Distante de Belém a 210 Km têm como atividades principais a pesca artesanal, agricultura e possui grande potencial turístico. O estudo foi realizado na Comunidade de Caratateua, pequena vila litorânea localizada a 36Km de Bragança – no nordeste do estado do Pará, cujo acesso se faz pela Rodovia PA-458. A Vila conta com 1200 habitantes IBGE (2010). As principais atividades econômicas são a pesca e extração de caranguejo. Assim, como a principal fonte de proteína.

## **5.3 POPULAÇÕES DE ESTUDO**

Participaram do estudo 199 habitantes das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras. Foram incluídos homens e mulheres maiores de 13 anos até a idade máxima de 55 anos, com residência permanente nas localidades em estudo. Uma comunidade localizada no Município de Itaituba (ribeirinha), uma localizada no



Município de Limoeiro do Ajurú (estuário) e outra no Município de Bragança (marítima), todas no Estado do Pará. Menores de 18 anos só participaram se tivessem autorização dos pais ou responsáveis.

Foram excluídos aqueles em trânsito pela comunidade e que não concordaram em participar do estudo. Para avaliação do estresse oxidativo outros critérios de exclusão foram considerados, tais como: impossibilitadas em fornecer as informações necessárias para o estudo; portadores de doenças infecciosas, doenças crônico-degenerativas incluindo diabetes, com história recente de exposição a vapor de mercúrio, alcoólatras, viciados em drogas ilícitas e sobre estresse físico e mental recente.

O tamanho amostral foi baseado no censo do Programa de Saúde da Família (PSF) de cada comunidade, considerando a faixa etária de 13 a 55 anos de idade e os critérios de exclusão. A população de referência para a faixa etária do estudo ficou assim discriminada: Barreiras 411, Caratateua 660 e Samaúma 83 habitantes, enquanto o tamanho amostral de cada comunidade foi 51(12,6%), 96 (14,6%) e 52 (61,4%) respectivamente.

## 5.4 DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO

### 5.4.1 Obtenção de informações demográficas e clínica epidemiológica

Dados sócio-demográficos e clínico-epidemiológicos foram obtidos durante a consulta médica realizada na ocasião da visita à comunidade nos meses de agosto, setembro e outubro de 2013 nas comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras respectivamente e registrados em formulário específico. Em seguida registrados em banco de dados utilizando o programa Biostat 5.0 (AYRES *et al.*,2011). As variáveis consideradas foram: idade, sexo, tempo de residência na comunidade, ocupação, doenças infecciosas e crônicas degenerativas, consumo de drogas ilícitas, uso de medicamentos, de álcool, de fumo, exposição a tóxicos ambientais e ocupacionais.

### 5.4.2 Obtenção de informações nutricionais e dietéticas

Para obtenção das informações nutricionais, relacionadas ao consumo de peixe nas comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras foi incluído no

formulário de pesquisa um modelo descrito por Brunet *et al.* (1991), categorizado por número de refeições semanais conforme descrição abaixo:

Categoria I, nenhum consumo de peixe.

Categoria II, <2 refeições de peixe/ semana.

Categoria III, >2-4 refeições de peixe/semana.

Categoria IV, >4 refeições de peixe/semana.

Categoria V, consumo desconhecido.

#### **5.4.3 Coleta e processamento das amostras de cabelo para análise de mercúrio**

Amostras contendo 20 a 40 mg (cerca de 60 fios) de cabelo foram obtidas com tesoura de aço inoxidável, próximo a inserção no couro cabeludo, armazenadas em envelope, identificadas e enviadas ao laboratório de Toxicologia humana e Ambiental do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, em Belém – Pará, onde foram analisadas.

No laboratório, as amostras foram submetidas ao processo de lavagem em água destilada e acetona, colocadas para secar em capela de exaustão e, em seguida picotadas. Esses microfragmentos foram pesados a uma quantia aproximada de 10 µg/g e submetidos a análise de Hg-T através de espectrofotometria de absorção atômica com amalgamação em lâmina de ouro, utilizando um medidor de mercúrio automático denominado comercialmente como Mercury Analyzer (MA), modelo SP-3D da Nippon Corporation-Japão.

#### **5.4.4 Descrição e fundamento do equipamento analisador de Hg-T**

O Mercury Analyzer, Modelo SP3D da Nippon Corporation-Japão é um detector e analisador de mercúrio apropriado para medir rapidamente a quantidade de mercúrio contido em uma amostra sob a forma líquida, sólida ou gasosa.

Esse equipamento consiste em três seções principais conforme mostra figuras 2 e 3: Um forno com capacidade de aquecimento de 850° C, em que neste a temperatura simula o processo de queima para separação do ouro, um controlador de atomização, um detector de mercúrio (MD-1) e atomizador de mercúrio (MA).

O processo inteiro de medição, aquecimento da amostra até a detecção de mercúrio é controlado automaticamente pelo MA-1.



**Figura 4.** Forno de aquecimento



**Figura 5.** MD-1 e MA-1

**Fonte:** Laboratório de Toxicologia Humana e Ambiental do NMT/UFPA.

O MA tem função de decompor as amostras termicamente para que o vapor de mercúrio presente na amostra seja pré-concentrado em lâminas de ouro, existente no interior do equipamento, através da formação de amalgamas. Estas lâminas de ouro são aquecidas para liberar o mercúrio na forma atômica. Este processo de amalgamação tem sobretudo a função de eliminar as impurezas contidas no vapor. Após o mercúrio ser desprendido da lâmina de ouro por aquecimento é transferido para uma célula de absorção no detector (MD-1) que contém uma lâmpada de mercúrio com comprimento de onda fixo de 253,7nm. Este aparelho tem um limite de detecção igual a 1ng.

#### 5.4.5 Procedimentos de análise de Hg-T

Para a realização da análise foi utilizado um aparato denominado de barquinha de porcelana, introduzida no forno do equipamento.

Na barquinha, foi colocada primeiro uma camada de uma mistura de dois sais ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  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 amostra e os reagentes foram previamente colocados em uma barquinha antes de sua entrada no equipamento.

#### **5.4.6 Cálculos dos resultados das amostras**

Os cálculos foram realizados através do programa específico do equipamento que se destina a receber e processar dados de medição dos aparelhos MERCURY MA-1 e MERCURY MD-1 (aqui referidos como “MD-1”) enviados através da interface RS-232C.

O demonstrador digital do MD-1 mostra a quantidade de mercúrio contida em peso (ng) e concentração de mercúrio em ppm (parte por milhão).

Nas análises de Hg, 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).

### **5.5 COLHEITAS DE SANGUE, ANÁLISE HEMATIMÉTRICA E BIOQUÍMICA**

#### **5.5.1 Avaliação hematológica, bioquímica clínica complementar e sorológica**

As determinações de hematócrito, dosagem de hemoglobina, hematócrito, glicemia de jejum, TGO, TGP, Gama GT, creatinina e sorologia para HIV e sífilis foram realizadas em todos os participantes visando detectar interferências aos resultados dos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo, além de, afastar doenças não evidenciáveis ao exame clínico. Essa etapa, foi realizada por técnicos no campo (hemoglobina, hematócrito, glicemia e sorologias) e no laboratório de estresse oxidativo do NMT/UFPA. Os resultados foram avaliados e entregues aos pacientes por médicos da equipe, no momento da consulta médica.

#### **5.5.2 Determinação dos teores de glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSG).**

Para a determinação da GSH total, GSSG e GSH foram coletados 3 mL de sangue total em tubo de EDTA, através de punção venosa. Em seguida as amostras

foram desproteinizadas por meio da ação do ácido tricloroacético (TCA) 10% e éter. Após total evaporação do éter as amostras foram submetidas a análise.

Os níveis de glutatona oxidada (GSSG) e glutatona reduzida (GSH) foram realizados através da análise colorimétrica usando espectrofotômetro UV semiautomático, com comprimento de onda de 412nm. A concentração de GSH total através da oxidação da glutatona por 5,5-ditio-bis (2-nitrobenzoic acid- DTNB) e sequencial redução por NADPH na presença da glutatona redutase através da espectrofotometria UV (412 nm), de acordo com o método descrito por Anderson (1985). Os resultados foram expressos em mg/ml sangue.

O ensaio para a medida de GSH total no sangue consiste na reciclagem cinética enzimática baseada na oxidação de GSH pelo 5,5-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico- DTNB para medir o conteúdo de GSH total da amostra biológica. A GSH padrão ou a amostra tratada é adicionada por uma micropipeta seguido por DTNB e glutatona redutase (GSH redutase). Adição de NADPH<sub>2</sub> inicia a redução progressiva de DTNB pela GSH, determinando um aumento na cor que é monitorada a 412nm.

A análise da relação GSH/GSSG depende da determinação de GSSG pela redução de GSSG à GSH que por sua vez, é determinada pela reação com reagente de Ellman's. a mudança na cor durante a reação e a velocidade da reação é proporcional às concentrações de GSH e GSSG.

### **5.5.3 Determinação da peroxidação lipídica – TBARS**

As amostras utilizadas para detecção de MDA foram realizadas no plasma coletado por punção venosa em tubos contendo EDTA. A medida da peroxidação lipídica foi realizada através da estimativa das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O método empregado consiste na precipitação das lipoproteínas das amostras pela adição do ácido tricloroacético (ATC) a 1% e 1% de ácido tiobarbitúrico (ATB) e Hidróxido de sódio (NaOH). A junção do peróxido lipídico com ATB foi realizada pelo aquecimento em banho-maria por 30 minutos. Os cromógenos formados foram extraídos em n-butanol, os quais serão lidos a 535nm. A peroxidação lipídica será expressa em nmols de MDA (ISAKSSON *et al.*,2009). O cálculo foi realizado através da construção de uma curva de calibração com 5

pontos (0, 1,25 ,2,50, 5,0 e 10 nM) a partir de uma solução de MDA (Tetra-Hidroxiopropano) de 20 nM.

#### **5.5.4 Determinação da capacidade antioxidante total- TEAC**

Para a determinação da capacidade antioxidante total ou TEAC, foi utilizado o plasma, coletado através de punção venosa. Na técnica do TEAC são quantificados os antioxidantes presentes na amostra, ou seja, enzimáticos e não enzimáticos. Para a realização do ensaio foi utilizada a solução de radical de ABTS, preparada a partir da mistura das soluções de ABTS e Persulfato de Potássio em dia anterior da análise. Essa solução oxidou por 16 horas em vidro âmbar, o que resultou em uma solução de radical de ABTS.

Após oxidação, foi diluído a solução de radical de ABTS em álcool etílico até a obtenção de  $0,700 \pm 0,05$  à uma absorbância de 530 nm . Misturou-se a amostra de plasma, com o radical de ABTS, 3 ml e 30  $\mu$ l respectivamente e em seguida lido no espectrofotômetro de absorção atômica no mesmo comprimento de onda para a obtenção do radical (PRIOR & CAO, 1999).

### **5.6 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS**

Os resultados foram apresentados através de gráficos e tabelas. As variáveis quantitativas foram apresentadas através de estatística descritiva, usando média, mediana, 1<sup>o</sup>. e 3<sup>o</sup>. quartis e desvio padrão. Para a comparação de medianas das concentrações de mercúrio, dos níveis de estresse oxidativo e das defesas antioxidantes foi empregado o teste estatístico Kuskal-Wallis. Para verificar a presença de associação entre os níveis de mercúrio e os elementos do sistema antioxidativo e oxidativo foram utilizado a correlação de linear de Pearson

As análises estatísticas foram realizadas usando programa estatístico Biostat 5.0 (AYRES *et al.*, 2011). As diferenças foram consideradas significativas quando o valor de foi de  $p < 0,05$ .

## **6. ASPECTOS ÉTICOS**

Foram mínimos os riscos físicos decorrentes da coleta de material biológico, pois todos os procedimentos utilizados nesta pesquisa foram os mesmos da 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 a serem adotados para minimização dos riscos.

Considerou-se como benefícios deste estudo a possibilidade de identificação de indicadores bioquímicos para o diagnóstico precoce de danos causados pelo mercúrio e conseqüentemente, a prevenção de danos neurológicos irreversíveis àquelas pessoas expostas ao mercúrio através do consumo frequente de peixes contaminados por metilmercúrio.

Este projeto faz parte de um Projeto maior intitulado “Estresse Oxidativo e defesas antioxidantes relacionados a exposição ao mercúrio decorrente do consumo de peixes oriundos de diferentes ecossistemas Amazônico” com financiamento aprovado através do Processo: 479624/2012-7 MCT/CNPq 14/2012, e aprovado pelo CEP do NMT de acordo com o parecer ético nº 334.523 de 16/07/2014.

## 7. RESULTADOS

A caracterização demográfica, parâmetros hematológicos e bioquímicos dos ribeirinhos de Samaúma, Caratateua e Barreiras são demonstradas na tabela 4.

Em relação a idade, a mediana da população de Samaúma foi 29 anos. 75% dos participantes apresentavam 43 anos, variando entre 16 e 53 anos. Caratateua a mediana obtida foi 36 anos, onde 75 % se encontravam na faixa etária de 41 anos, mínimo e máximo de 13 e 54 anos. A comunidade de Barreiras a mediana de idade foi 36, 75% apresentavam 43 anos. Intervalo de idade entre 15 e 55 anos. Não houve diferença estatística entre as idades das populações das comunidades do corrente estudo,  $p=0,1051$

Realizaram exames hematológicos, bioquímicos clínicos e sorológicos, 58, 73 e 55 pessoas respectivamente nas comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras.

Em relação ao sexo, a comunidade de Barreiras apresentou maior número de participantes do sexo masculino,  $n= 24$ . O sexo feminino foi mais participativo na comunidade de caratateua,  $n=64$ .

Na quantificação da Hemoglobina a mediana obtida foi de 14 g/100 ml de sangue em Samaúma. A dosagem mínima de Hb foi 12 g/100 ml três comunidades e máximo de 18,19 e 17 g/100 ml em Samaúma, Caratateua e Barreiras respectivamente. 75% dos participantes das três comunidades apresentavam Hb entre 13 e 15 g/100 ml de sangue. Foi observada diferença estatística entre os níveis de Hb e Ht entre Samaúma e Caratateua  $p 0,0037$  e  $0,0344$  e Samaúma e Barreiras  $p=0,0003$  respectivamente. Não houve diferença estatística entre as dosagens de Hb entre as comunidades de caratateua e Barreiras  $p=0,6282$ .

Nos ribeirinhos de Samauma, Caratateua e Barreiras a mediana da dosagem de hematócrito foi de 40, 39,5 e 39%, mínimo de 30, 35 e 34% e máximo de 36, 55, 50 % respectivamente. Em 75% da comunidade de Samaúma a contagem de Ht foi 45%. Em Caratateua e Barreiras o Ht foi similar 40%. Foi observada diferença estatística entre Samaúma e Caratateua,  $p < 0,0344$ . Entre Samaúma e Caratateua e Caratateua e Barreiras não houve diferença estatística nos níveis de Hematócrito,  $p=0.0056$  e  $p=0.6002$  respectivamente.

A mediana da dosagem de glicemia de jejum em Samaúma 90 mg/dl. Mínimo de 77 e máximo de 100 mg/dl. 75% desta população apresentou glicose de 94



mg/dl. Em Caratateua a mediana obtida foi de 95 mg/dl, variando entre 71 e 100 mg/dl, onde 75% desta população apresentou glicemia de 99 mg/dl. Em Barreiras, os participantes do estudo apresentaram glicemia de 94 mg/dl, mínimo de 81 e máximo de 100. Em 75% a glicemia foi de 99 mg/dl. A diferença estatística foi observada entre Samaúma e Caratateua e Samaúma e Barreiras  $p= 0,0210$  e  $p= 0,006$ . Entre Caratateua e Barreiras não houve diferença estatística,  $p=0,3682$ .

A mediana de TGO e TGP em Samaúma, Caratateua e Barreiras foram de 26,15, 20 U/L (TGO) e 14, 22 10 U/L (TGP) respectivamente. As dosagens mínimas de TGO foram 7,0 em Samaúma, 5 em Caratateua e 10 U/L em Barreiras. O valor máximo de TGO variou entre 40 a 47 U/L respectivamente. A dosagem de TGP mínima foi 6, 5 e 3 e máximo de 55, 56 e 44 em Samaúma, Caratateua e Barreiras. 75% da comunidade de Samaúma apresentaram TGO de 29 e TGP 21 U/L. Caratateua 20 U/L/TGO e 32 U/L/TGP. Barreiras 24/TGO e 16/TGP U/L. As dosagens de TGO entre as comunidades diferiram estatisticamente  $p = <0,0001$  entre Samaúma e Caratateua.  $p=0,0145$  entre Samaúma e Barreiras e  $p= 0,0183$  entre Caratateua e Barreiras. Nos níveis de TGP as diferenças estatísticas foram observadas entre as comunidades de Samaúma e Caratateua e Caratateua e Barreiras  $p= 0,0006$  e  $p=<0,0001$  respectivamente

A dosagem de Gama GT foi 11, 13 e 23 U/L em Samaúma, Caratateua e Barreiras respectivamente. Em Samaúma, o mínimo foi 5, Caratateua e Barreiras, 4 U/L. O Gama GT máximo em Samaúma foi 56 e em Caratateua 47 U/L e, 60 U/L em Barreiras. Em Samaúma 75 % apresentavam GGT de 18 U/L, 24 U/L em Caratateua e 31 U/L em Barreiras. Na avaliação estatística das dosagens de GGT, estas diferiram estatisticamente entre as comunidades de Samaúma e Barreiras,  $p=0,0001$  e Caratateua e Barreiras  $p= 0,0042$ . Entre Samaúma e Caratateua não houve diferença estatística,  $p= 0,1139$ .

A creatinina da população de estudo em Samaúma foi 0,60, mínimo e máximo de 0,40 e 1,32 mg/dl. 75% da população apresentou 0,77 mg/dl de creatinina. Em Caratateua a creatinina foi 0,61, mínimo e máximo de 0,4 e 1,30 mg/dl; em 75% desta comunidade a creatinina se manteve em 0,72 mg/dl. A comunidade de Barreiras a creatinina permaneceu em 0,6, variando entre 0,4 e 1,5 mg/dl. A quantificação de 0,4 mg/dl correspondeu a 75% dos participantes de Barreiras. Nesta análise, não foi observada diferença estatística,  $p=0,6489$ .

Nenhuma comunidade apresentou testes de HIV reagente. No entanto, na pesquisa de VDRL foi obtido um caso de reagente (positivo) no teste rápido nas comunidades de Caratateua e Barreiras.

**Tabela 4** – Perfil demográfico, hematológico, bioquímico clínico e sorológico dos ribeirinhos das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013

Variáveis	Samaúma	Caratateua	Barreiras
	n(58) Md-75% (min-max)	n( 73 ) Md-75 % ( min-max)	n(55 ) Md-75% (Min-Max)
Idade	29- 43(16-53)	36-41 (13-54)	36 -43(15-55)
Homem	13	9	24
Mulher	45	64	31
Hematocrito	40-45(30-56)	39,5-40(35-55)	39-40(34-50)
Hemoglobina	14-15(12-18)	13-13(12-19)	13-13(12-17)
Glicose mg/dl	90-94(77-100)	95-99(71-100)	94-99(81-100)
TGO	26-29(7-40)	15-20(5-40)	20-24(10-47)
TGP	14-21(6-55)	22-32(5-56)	10-16((3-44)
Gama GT	11-18(5-56)	13-24(4-47)	23-31(4-60)
Creatinina	0,6-0,77(0,4-1,32)	0,61-0,7(0,4-1,3)	0,6-0,8(0,4-1,5)
HIV	NH	NH	NH
SIFILIS-VDRL	NH	01	01

Nota: Valores expressos por mediana. \* $p < 0,05$  difere estatisticamente (*Kruskall wallis*)

Diferenças estatísticas significativas entre as comunidades. Hb: Samaúma x Caratateua  $p = 0,0037$ , Samaúma x Barreiras  $p = 0,0003$ . Ht: Samaúma x Caratateua  $p = 0,0344$ . Glicemia: Samaúma x Caratateua  $p = 0,0210$  e Samaúma e Barreiras  $p = 0,0006$ . TGO: Samaúma e Caratateua  $p = < 0,0001$ , Samaúma e Barreiras  $p < 0,0145$  e Caratateua e Barreiras  $p = 0,0183$ . TGP: Samaúma e Caratateua  $p = 0,0006$  e Samaúma e Barreiras  $p = 0,0573$ . GGT Samaúma e Barreiras  $p < 0,0001$  e Caratateua e Barreiras  $p = 0,0042$

Não Houve (NH). Mediana (Md). Min: mínimo, Max: máximo

Valor de referencia:

Hemoglobina- Homens 13,5 a 18 g/100 ml - Mulheres: 12-16, 5 g/100 ml

Hematócrito % - Homens 40-54 - Mulheres: 35-47

Glicose > 70- 100 mg/dl

TGO - 5 a 40 U/L

TGP - 7-56 U/L

GGT-Homens 05-36 u/L. Mulheres 08-61 u/L.

Creatinina- 0,5- 1,5 mg/dl

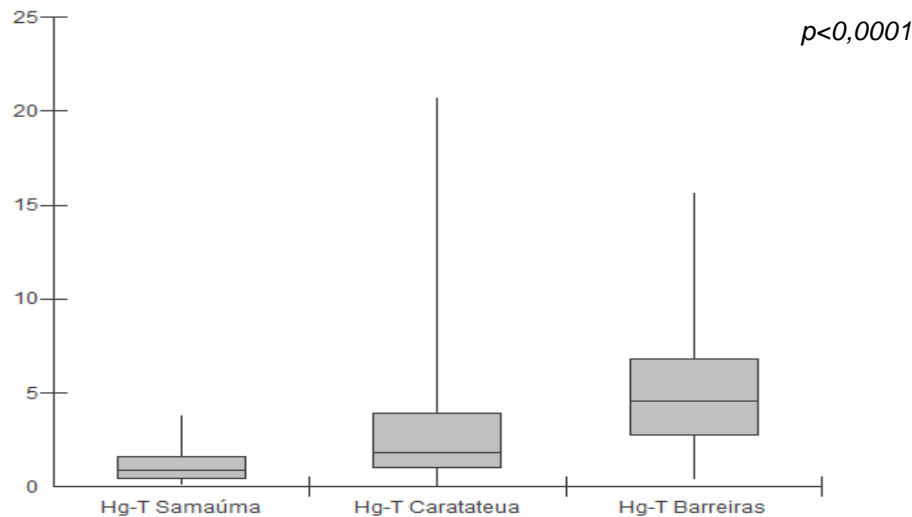
Na imagem 6, são apresentados os níveis medianos de Hg-T referente as três comunidades: Samaúma, Caratateua e Barreiras.

A mediana de Hg-T na C. de Samaúma foi 0,9  $\mu\text{g/g}$ , apresentando 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartis de 0,5 e 1,6  $\mu\text{g/g}$  com dosagem mínima e máxima de 0,09 e 3,8  $\mu\text{g/g}$  de Hg-T.

Em Caratateua, a mediana obtida foi de 1,9  $\mu\text{g/g}$ , 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> Quartis, 1,05 e 3,9 respectivamente e detecção máxima de Hg-T foi 20,7  $\mu\text{g/g}$ .

Na comunidade de Barreiras, a mediana registrada foi de 4,6  $\mu\text{g/g}$ , 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartis de 2,8 e 6,8 respectivamente e máximo de 15,7  $\mu\text{g/g}$  Hg-T.

Os valores medianos de Hg-T, das comunidades de estudo apresentaram diferença estatística altamente significativa,  $p < 0,0001$ .



**Figura 6:** Níveis medianos de Hg-T ( $\mu\text{g/g}$ ) dos ribeirinhos das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013  
 Nota: Valores expressos por mediana. Difere estatisticamente  $*p < 0,005$  (Kruskall wallis)  $p = 0,0001$  entre os níveis de Hg-T das comunidades de estudo

Na tabela 5 segue a descrição dos dados do consumo de pescado das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras, classificado em cinco categorias de acordo com o estudo de Brunet *et al.* (1991): Categoria 1: nenhum consumo de pescado, Categoria 2: < 2 refeições, categoria 3: > 2 a 4 refeições, Categoria 4: > que 4 refeições e Categoria 5: consumo desconhecido, juntamente com as respectivas médias de Hg-T por categoria de refeição.

Apenas a comunidade de Barreiras, apresentou um participante não consumidor de pescado. Na categoria 1: < 2 refeições, a média de mercúrio nos ribeirinhos de Samaúma, Caratateua e Barreiras foram de 1,2, 3,5 e 3,8  $\mu\text{g/g}$  de Hg-T respectivamente. Nesta categoria não foi observada diferença estatística entre os níveis de mercúrio,  $p = 0,1445$ .

Na categoria 2: > 2 a 4 refeições, a média de Hg-T dos ribeirinhos de sumaúma foi de 1,2, 5,2 em Caratateua e 3,4  $\mu\text{g/g}$  em Barreiras. A menor média de Hg-T encontrada nesta categoria foi nos ribeirinhos residentes em Samaúma. Onde

Samaúma e Caratateua e Samaúma e Barreiras diferiram estatisticamente nas concentrações de Hg-T  $p= 0,0019$  respectivamente. Entre os níveis de Hg-T neste grupo, não foi observada diferença estatística entre Barreiras e Caratateua ,  $p=1,000$ .

No grupo >4 refeições, a média Hg-T dos ribeirinhos de Samaúma foi de 1,1, Caratateua 3,0 e 6,7  $\mu\text{g/g}$  em Barreiras. A maior média encontrada foi na comunidade de Barreiras. No entanto, foram observadas diferenças estatísticas entre os níveis de Hg-T de Samaúma e Caratateua  $p=0,0040$ ; entre Samauma e Barreiras  $p=0,0001$  e entre Caratateua e Barreiras e  $p=0,0290$ .

**Tabela 5 – Consumo de pescado e níveis médios de Hg-T das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013**

nº. de Refeições	Samauma(%) n(52)	ĪHg-T	Caratateua(%) n(44)	ĪHg-T	Barreiras(%) n(34)	ĪHg-T	<i>p valor</i> S x C S x B C x B
<b>Nenhum Cons.de Peixe</b>	- (- %)	-	- (- %)	-	01 (2,9 %)	-	-
<b>&lt;2 refeições</b>	04 (7,7%)	1,2	05 (11,4%)	3,5	05(14,7%)	3,8	0,1445
<b>&gt;2 - 4 refeições</b>	07 (13,4%)	1,2	16 (36,4%)	5,2	11(32,3%)	3,4	0,0019 0,0019 1,0000
<b>&gt;4 refeições</b>	40 (77,0%)	1,1	23 (52,2 %)	3,0	17(50,0%)	6,7	0,0040 0,0001 0,0029
<b>Consumo Desconhecido</b>	1 (1,9 %)	-	- (- %)	-	-	-	-

Nota: Os resultados são expressos com a média. \* $p<0,05$  difere estatisticamente entre as médias de Hg-T intra os grupos de refeições de peixes semanal entre as comunidades (*kruskall wallis*).

Legenda: S(Samaúma), C (Caratateua) e B (Barreiras)

Na tabela 6, segue os valores médios dos marcadores oxidantes e antioxidantes das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras, em 2013.

A média de Glutationa total na comunidade de Caratateua foi de 4,3  $\mu\text{g/ml}$ , seguido de Samaúma com 2,7  $\mu\text{g/ml}$  e Barreiras 2,3  $\mu\text{g/ml}$ . Os níveis de GSH total foram estatisticamente diferente entre Caratateua e Samaúma e Caratateua e Barreiras,  $p=0,0032$  e  $p=0,0001$  respectivamente. Entre as análises de GSHtotal dos

ribeirinhos de Samaúma e Barreiras não foi observada diferença estatística,  $p=0,3663$ .

A relação GSSG/ GSH foi 0,5, 1,1 e 10 respectivamente em Samaúma, Caratateua e Barreiras.

Os níveis médios de TEAC foram 0,4 mm/L em Samaúma. Caratateua e Barreiras apresentaram 0,6 mm/L. Os níveis de TEAC em Samaúma, diferiram estatisticamente das demais comunidades  $p < 0,001$ . Entre Caratateua e Barreiras não houve de diferença estatística,  $p=0,0919$ .

A comunidade de Samaúma apresentou nível médio de MDA de 1,6 ml/MDA. Caratateua 3,1 e Barreiras 1,4. Foi observada diferença estatística altamente significativa nas dosagens de MDA entre Caratateua e as demais comunidades  $p=<0,0001$ .

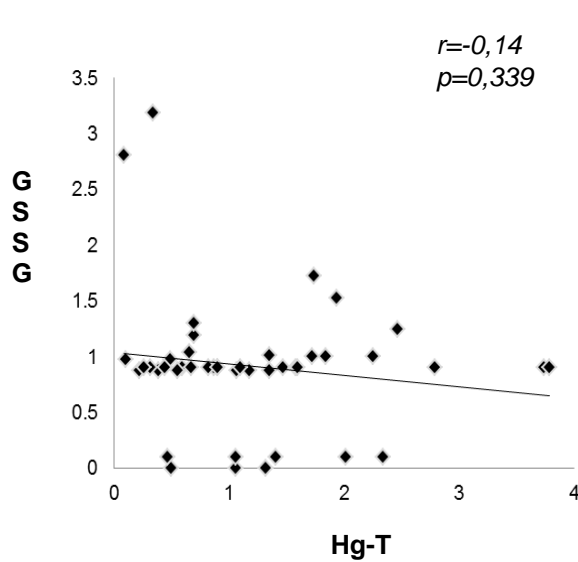
**Tabela 6.** Níveis médios de marcadores oxidantes e antioxidantes das comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no estado do Pará, Brasil, 2013

Elementos oxidantes/ antioxidantes	C.Samaúma n (44) $\bar{x} \pm DP$	C.Caratateua n (55) $\bar{x} \pm DP$	C.Barreiras n (52) $\bar{x} \pm DP$	<i>p</i> valor S x C S x B C x B
Gshtotal / $\mu$ g/ml	2, 7 $\pm$ 2, 6	4,3 $\pm$ 2,5	2,3 $\pm$ 0,5	0, 0032 0, 3663 < 0, 0001
GSSG $\mu$ g/ml	1,0 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 1,7	2,0 $\pm$ 1,2	< 0, 0001 < 0, 0001 0, 3364
GSH $\mu$ g/ml	2, 0 $\pm$ 2,7	2,0 $\pm$ 2,3	0,2 $\pm$ 0,5	0, 4620 < 0, 0001 < 0, 0001
GSSG/GSH	0, 5	1,0	10	
TEAC mm/L	0, 4 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,07	< 0, 0001 < 0, 0001 0, 0919
MDA ml/MDA	1, 6 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,9	1,4 $\pm$ 0,4	< 0, 0001 0, 4865 < 0, 0001

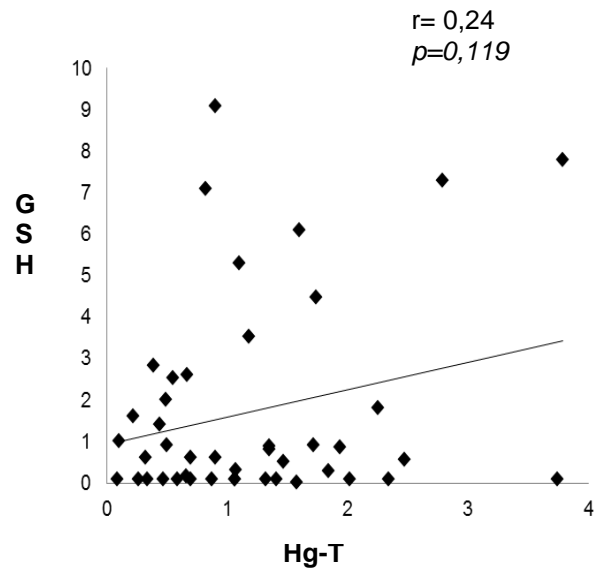
Os resultados são expressos com a média  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$  difere estatisticamente intra- marcadores oxidantes e antioxidantes entre as comunidades (*kruskal wallis*).

Legenda: S(Samaúma), C (Caratateua) e B (Barreiras)

Nas figuras 7 e 8 são demonstrados a ausência de associação, segundo correlação linear de Pearson em 44 ribeirinhos de Samaúma. Nesta comunidade não foram observadas associações entre os níveis de Hg-T com a GSSG e GSH. O teste de correlação apresentou  $r=-0,14$  e  $r=0,24$  e  $p=0,339$  e  $0,119$  respectivamente.

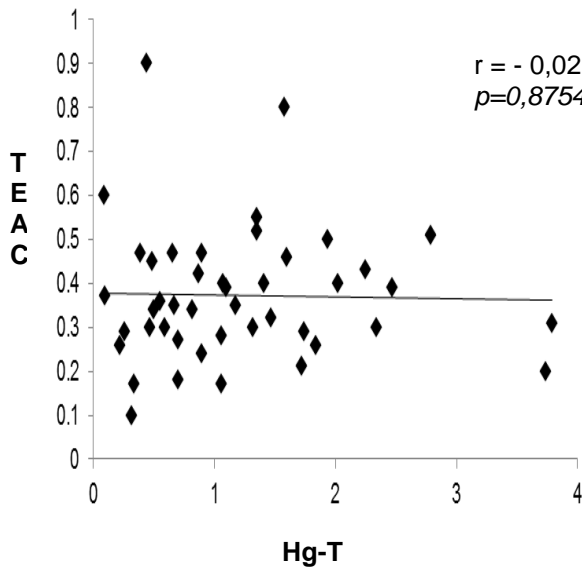


**Figura 7.** Associação dos níveis de Hg-T e GSSG em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013. Nota:  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$  Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,14$ .  $p = 0,339$ . Ausência de correlação.  $n(44)$ .

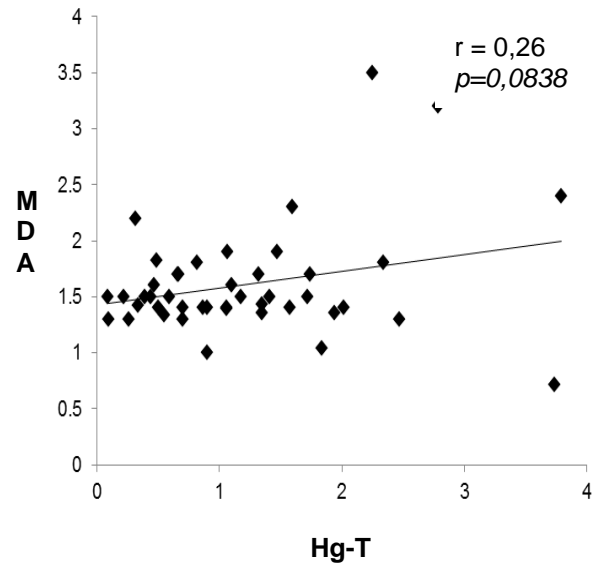


**Figura 8.** Associação dos níveis de Hg-T e GSH em ribeirinhos de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013. Nota:  $*p < 0,005$  difere estatisticamente  $*r = 1$ . Correlação de linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = 0,24$ ,  $p = 0,119$ . Ausência de correlação  $n(44)$ .

Nos ribeirinhos de Samaúma  $n = 44$ , os níveis de Hg-T não mostraram associação com os níveis dosados de TEAC e MDA, apresentando  $r = -0,02$  e  $0,26$ ,  $p > 0,875$  Sugerindo que, a concentração de mercúrio não exerce influência positiva na capacidade antioxidante total e nos níveis de MDA desta população. Conforme demonstram figura 9 e 10.



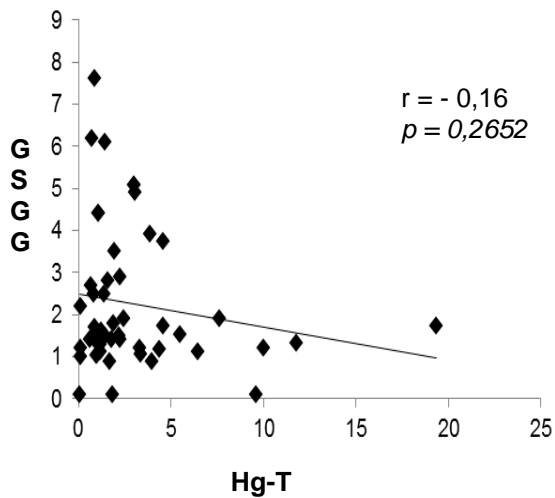
**Figura 9.** Associação níveis de Hg-T e TEAC em ribeirinhos da comunidade de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013. \* $p < 0,005$  difere estatisticamente. \* $r = 1$ . Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,02$ .  $p = 0,8754$ .  $n = 44$ . Ausência de correlação



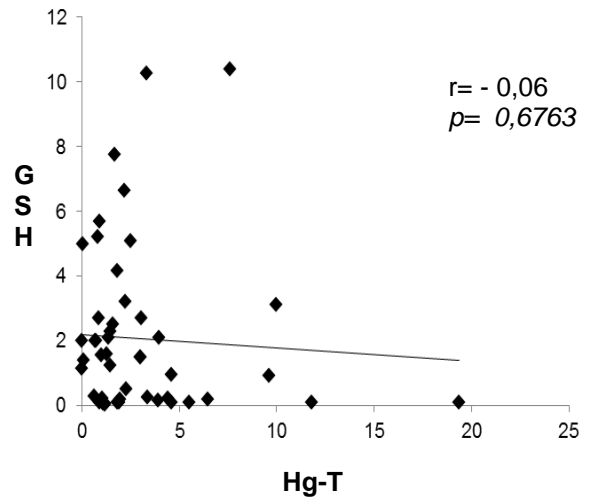
**Figura 10.** Associação níveis de Hg-T e MDA em ribeirinhos da comunidade de Samaúma, estado do Pará, Brasil, 2013. \* $p < 0,005$ . difere estatisticamente. \* $r = 1$ . Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = 0,26$ .  $p = 0,0838$ .  $n = 44$ . Ausência de correlação



As figuras 11 e 12 mostram a ausência de associação da concentração de Hg-T e a dosagem de GSSH e GSH em 49 ribeirinhos residentes de Caratateua, 2013. A correlação entre os níveis de Hg-T e as concentrações de GSSG e GSH apresentaram  $r = -0,16$  e  $r = -0,06$ ,  $p > 0,2652$  e  $0,6763$  respectivamente.

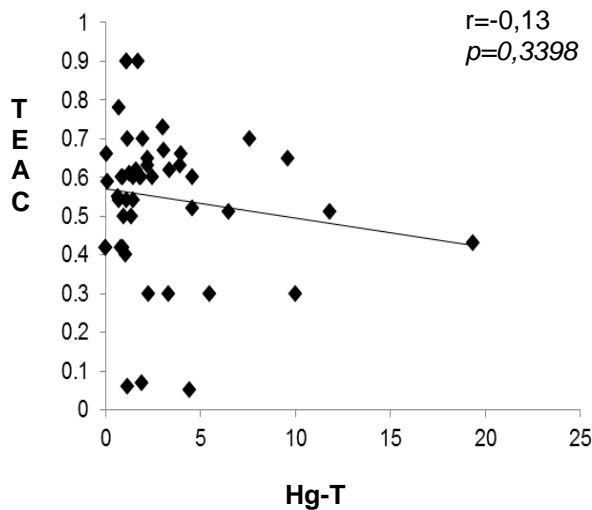


**Figura 11.** Associação níveis de Hg-T e GSSG em ribeirinhos da comunidade de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,16$ ,  $p = 0,2652$ .  $n(49)$ . Ausência de correlação.

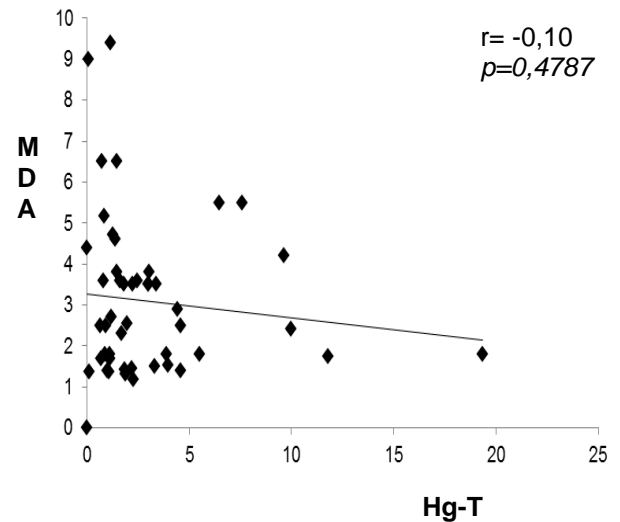


**Figura 12.** Associação níveis de Hg-T e GSH em ribeirinhos da comunidade de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,06$ ,  $p = 0,6763$ .  $n(49)$ . Ausência de correlação.

As figuras 13 e 14 demonstram ausência de correlação entre os níveis de Hg-T com a concentração de TEAC e MDA, em Caratateua, n =49, apresentando  $r = -0,13$  e,  $-0,10$  e,  $p=0,3398$  e  $0,4787$  respectivamente.

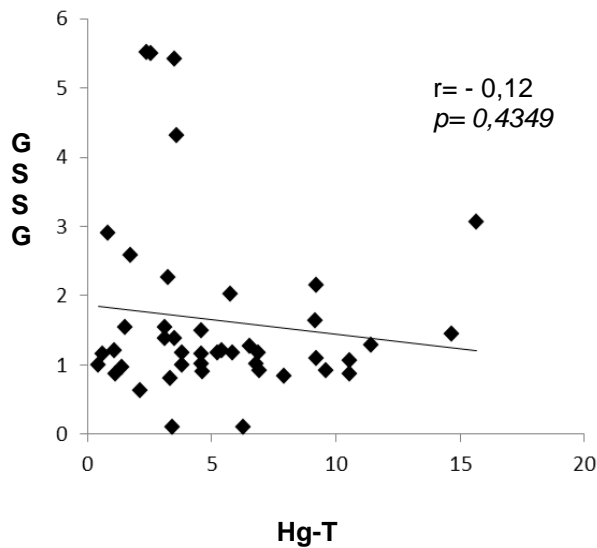


**Figura 13.** Associação níveis de Hg-T e TEAC em ribeirinhos da comunidade de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,13$ .  $p = 0,3398$ .  $n(49)$ . Ausência de correlação.

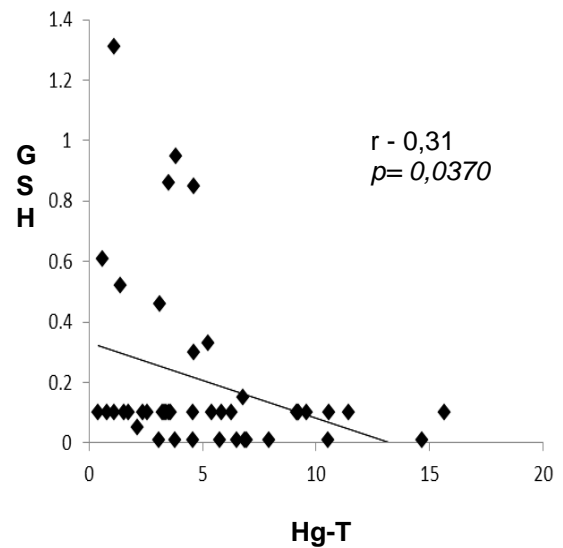


**Figura 14.** Associação níveis de Hg-T e MDA em ribeirinhos da comunidade de Caratateua, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,10$ .  $p = 0,4787$   $n(49)$ . Ausência de correlação.

Na comunidade de Barreiras,  $n=44$ , não houve associação entre as dosagens de Hg-T e a concentração de GSSG,  $r=-0,12$ ,  $p=0,4349$ , de acordo com a figura 15. No entanto, foi observada fraca associação inversa entre a concentração de Hg-T e os níveis de GSH nesta comunidade.  $r=-0,31$ ,  $p=0,0370$ , ou seja, a medida que os níveis de Hg-T diminuem, aumentam a proteção oxidativa desta população. Conforme demonstra figura 16.

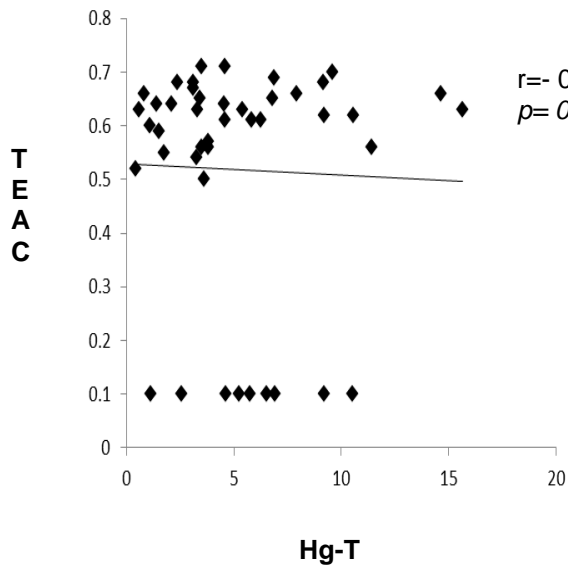


**Figura 15.** Associação Hg-T e GSSG em ribeirinhos de Barreiras, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p<0,005$  difere estatisticamente.  $*r=1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r= -0,12$ .  $p=0,4349$ .  $n(44)$ . Ausência de correlação

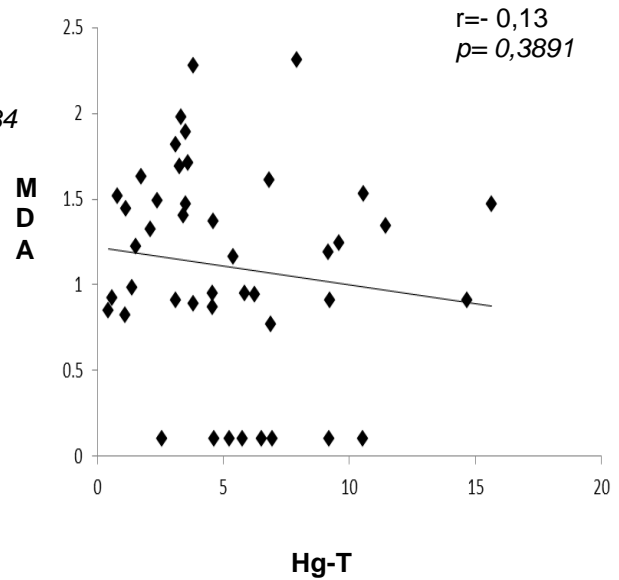


**Figura 16.** Associação Hg-T e GSH em ribeirinhos de Barreiras, estado do Pará, Brasil, 2013.  $*p<0,005$  difere estatisticamente.  $*r=1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r= -0,31$ .  $p=0,0370$ .  $n(44)$ . Fraca correlação negativa

Nas figuras 17 e 18, seguem demonstração da ausência de associação entre a concentração de Hg-T e TEAC  $r = -0,03$  e  $p = 0,8234$  e entre os níveis de Hg-T e MDA  $r = -0,13$  e  $p = 0,3891$  n(44).

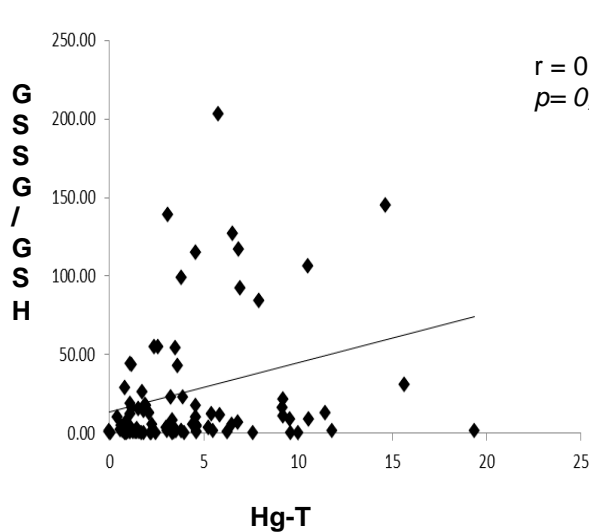


**Figura 17.** Associação Hg-T e TEAC em ribeirinhos de Barreiras, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,03$ .  $p = 0,8234$ . n(44). Ausência de correlação

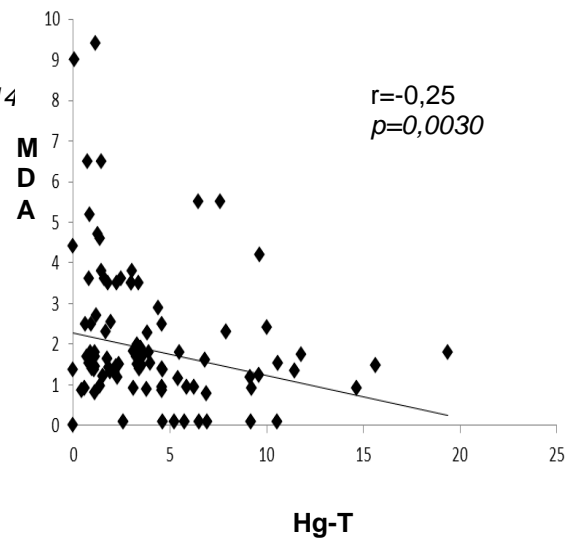


**Figura 18.** Associação Hg-T e MDA em ribeirinhos de Barreiras, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,13$ .  $p = 0,3891$ . n(44). Ausência de correlação

Na figura 19, segue a demonstração da correlação linear de Pearson entre os níveis de Hg-T e a relação da GSSG/GSH, referente à população das três comunidades de estudo. Foi observada fraca associação entre a concentração de Hg-T e a relação da GSSG/GSH  $r = 0,27$  e  $p = 0,0014$ . Na figura 20, está representada a correlação linear de Pearson entre o Hg-T e MDA em todos os participantes do estudo.



**Figura 19.** Associação Hg-T e GSSG/GSS em ribeirinhos de diferentes regiões geográficas do estado do Pará, Amazônia brasileira, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = 0,27$ .  $p = 0,0014$ .  $n(44)$ .  $n(137)$  Presença de fraca correlação



**Figura 20.** Associação Hg-T e MDA em ribeirinhos de diferentes regiões geográficas do estado do Pará, Amazônia brasileira, 2013.  $*p < 0,005$  difere estatisticamente.  $*r = 1$ , Correlação linear de Pearson. Os resultados são expressos em  $r = -0,25$ .  $p = 0,0030$ .  $n(137)$  presença de fraca correlação negativa.

Na tabela 7, segue a síntese de todos os resultados das variáveis estudadas nas comunidades de Samaúma, Caratateua e Barreiras no ano de 2013.

A mediana de Hg-T em Samaúma foi 0,9 µg/g variando entre 0,009 e 3,79 µg/g. 1,9 µg/g em Caratateua com máximo de 20,7 µg/g e 4,6 µg/g em Barreiras, mínimo e máximo de 0,4 e 15,7 respectivamente.

Somente na categoria > 2-4 refeições, foi observada diferença estatística nos níveis de Hg-T das comunidades de estudo. A média de Hg-T das categorias > 2 – 4 e > 4 refeições foi 1,01, 4,1 e 5,05 µg/g de Hg-t em Samaúma, Caratateua e Barreiras respectivamente.

A relação entre a GSSG/GSH em Samaúma foi 0,5, 1,0 em Caratateua e 10 em Barreiras.

Na avaliação da associação entre os níveis de Hg-t e os biomarcadores oxidantes antioxidantes somente a comunidade de Barreiras apresentou fraca associação entre os níveis de Hg-T e GSH  $r= 0,31$  e  $p=0,0370$ . No entanto, na avaliação da associação em todos os participantes da pesquisa foi observada fraca associação nos níveis de Hg-T e GSSG/GSH,  $r=0,27$   $p= 0014$ . Entre Hg-T e MDA, foi observada fraca correlação negativa  $r= -0,25$   $p= 0,0030$ .

**Tabela 7-** Síntese das análises das variáveis estudadas nas comunidades do presente estudo

Variáveis	n/ Samaúma	n/ Caratateua	n/Barreiras
Md Hg-T ( $\mu\text{g/g}$ )	51 /0, 9	91 /1, 9	52 /4, 6
(Min-Max)	(0,009-3, 79)	(- - 20, 7)	(0, 4- 15, 7)
↑ 2 refeições			
$\bar{x}$ Hg-T ( $\mu\text{g/g}$ )	34/ 1,01	44/4,1	52/ 5,05
GSSG/GSH	0, 5	1, 0	10
$\bar{x} \pm \text{DP TEAC}$	44/ 0,4 $\pm$ 0,1	55/ 0,6 $\pm$ 0,2	52/0,6 $\pm$ 0,007
$\bar{x} \pm \text{DP MDA}$	44/1,6 $\pm$ 0,4	55/ 3,1 $\pm$ 0,9	52/ 0,6 $\pm$ 0,4
Hg-T x GSSG			
r /p valor	44 -0,14/0,339	49 -0,16/0,2652	44 -0,12/0,4349
Hg-T x GSH			
r /p valor	44 -0,24/0,119	49 -0,06/0,673	44 -0,31/0,0370
Hg-T x TEAC			
r /p valor	44 0,02/0,875	49 -0,13/0,3398	44 -0,03/0,8234
Hg-T x MDA			
r /p valor	44 0,26/0,0838	49 r= -0,10/0,4787	44 -0,13/0,3891
Hg-T x GSSG/GSH			
todas as comunidades			
n / r /p valor		137/ 0,27/ 0,0014	
Hg-T x MDA			
Todas as comunidades			
n /r/ p valor		137, -0,25/0,0030	

Nota: Hg-t entre as comunidades,  $p < 0,05$ .  $n^{\circ}$  de refeições:  $> 2$  -4 refeições  $p < 0,05$  entre samaúma e demais comunidades.  $> 4$  refeições  $p < 0,05$  Samaúma x Barreiras e Caratateua x Barreiras. A relação GSSG/GSH foi  $>$  em Barreiras, 10 e  $<$  em Samaúma 0,5. Teac- Samaúma diferiu estatisticamente das demais comunidades  $p < 0,05$ . MDA- Caratateua diferiu estatisticamente das demais comunidades  $p < 0,05$ . Correlação linear de Pearson: Fraca Correlação linear negativa entre Hg-T GSH em Barreiras  $r = -0,31$   $p < 0,05$ . Fraca correlação linear entre Hg-T e GSSG/GSH,  $r = 0,27$ ,  $p < 0,005$

## 8. DISCUSSÃO

A exposição humana ao mercúrio na Amazônia continua sendo alvo de estudos nos últimos trinta anos devido aos prejuízos que os diferentes compostos podem originar a saúde das populações expostas seja através da ocupação, como as atividades de mineração ou por meio da dieta baseada em pescado contaminado (AKAGI *et al.*, 1995; HARADA, 1997; PINHEIRO *et al.*, 2005; SÁ *et al.*, 2006; HACON *et al.*, 2008; KHOURY *et al.*, 2013).

As comunidades selecionadas para o presente estudo foram Samaúma (estuário), Caratateua (marítimo) e Barreiras (fluvial), na qual apresentam características demográficas, hematológicas e principalmente bioquímicas distintas entre elas.

As idades dos participantes da pesquisa não mostraram diferença estatística entre as comunidades, demonstrando uniformidade em relação à faixa etária nos participantes da pesquisa. Setenta e cinco por cento dos participantes apresentavam idade entre 41 e 43 anos.

A comunidade de Samaúma mostrou melhor perfil hematológico e bioquímico clínico entre as comunidades, considerando os valores de hemoglobina, hematócrito, glicemia de jejum e TGO, quando comparada as comunidades de Caratateua e Barreiras que se mostraram semelhantes bioquimicamente. No entanto, Caratateua e Barreiras apresentaram diferenças significativas nas dosagens dos marcadores hepáticos como TGO, TGP e Gama Gt. É importante mencionar que, todos os participantes deste estudo apresentaram seus respectivos marcadores hematológicos e bioquímicos clínicos dentro dos valores de normalidade. Na avaliação da função renal, o marcador utilizado foi creatinina, apresentando semelhança em sua dosagem entre as comunidades.

É provável que as semelhanças e diferenças hematológicas e bioquímicas encontradas em nossos estudos se dão devido a genética das populações e/ou fatores ambientais peculiares de cada comunidade. Como hábito alimentar, sedentarismo e, outros elementos inerentes ainda desconhecidos.

A OMS (1980) estabeleceu valores considerados aceitáveis de Hg em amostras humanas, ou seja, fora do limite de risco para o comprometimento do organismo, diante de uma possível exposição seja por via alimentar, inalatória ou



cutânea. Os valores preconizados pela OMS em humanos são: 2µg/g(dois micrograma por grama) para populações sem consumo frequente de peixes. 6 µg/g (seis micrograma por grama) para comunidades que ingerem peixe diariamente, 10 µg/g (10 micrograma por grama) para mulheres em idade fértil, considerando a má formação fetal em virtude da transferência vertical e por fim, 50 µg/g (micrograma por grama) para o aparecimento de sinais e sintomas clínicos.

As concentrações medianas de mercúrio total em amostras de cabelo das populações de estudo mostraram variações importantes (0.9 µg/g Hg-T em Samaúma, 1.9 µg/g em Caratateua, e 4.6 µg/g em Barreiras), as quais podem estar relacionadas as características ambientais das respectivas localizações geográficas. Neste sentido, é importante destacar que as comunidades de Samaúma e Caratateua não apresentaram registros de atividades garimpeiras em suas áreas continentais ou insulares, o que teoricamente explicaria as concentrações baixas obtidas em Samaúma. No entanto, o mesmo não se atribui a Barreiras, que está situada em uma região onde mercúrio foi utilizado por décadas sem controle em regiões de garimpo para o processo de amalgamação de ouro (PINHEIRO *et al.*, 2008; BASTOS *et al.*, 2010, PINHEIRO *et al.*, *al.*, 2012).

Em Samaúma, a baixa concentração de mercúrio quantificada nos ribeirinhos denota que no momento da coleta esta população não se encontrava sob o risco de exposição, fato que pode ser atribuído, sobretudo, a ausência de impactos ambientais nesta região. Segundo Rebelo *et al.* (2011), que avaliou os determinantes da modernização e hierarquização na agricultura em municípios do estado do Pará, entre esses Limoeiro do Ajuru, considerou este município como uma das cidades menos desenvolvida no setor da agricultura no estado do Pará. Assim, é provável que o desmatamento e queimadas considerados impactos antropogênicos comuns na agricultura e que disponibilizam o Hg em áreas mesmo com ausência de atividade mineradora não sejam relevantes em Samaúma.

As concentrações de mercúrio encontradas em ribeirinhos de Limoeiro do Ajurú foram as mais baixas já encontradas em consumidores de peixes na Amazônia. Outros estudos encontraram concentrações baixas em outras localidades (porém maiores que as encontradas no corrente trabalho) e recomendaram os níveis encontrados como referencia de área controle para exposição ao mercúrio. Assim sendo, os níveis encontrados nesta região permitem inclui-la como referencia de

área controle (SANTOS, *et al.*, 2000; VILHENA *et al.*, 2003; PINHEIRO *et al.*, 2008; KHOURY *et al.*, 2013).

A comunidade de Caratateua localizada na microrregião do salgado, nordeste do estado do Pará, apresentou mediana de 1.9 µg/g abaixo do limite aceito pela OMS em humanos consumidores diário de peixe, 6 µg/g. No entanto, 11,2% da população estudada apresentou níveis maiores que 6 µg/g de Hg-T e 7% acima de 10 µg/g, análogos a resultados já registrados em populações de regiões que apresentam impactos ambientais modernos como a região do Tapajós e rio madeira.

A região bragantina é conhecida pela presença acentuada de manguezais e alto consumo de caranguejo. Segundo os estudos de Vertacnick (1995) e Wasserman *et al.* (1991) o Hg pode ser transportado para os mangues através da deposição atmosférica, pela ação das marés e dos rios além do processo de adsorção por meio de sedimentos em suspensão. Esse evento promove a absorção do mercúrio pelas algas e plantas aquáticas consumidas por animais aquáticos, podendo acumular níveis de Hg que poderão trazer efeitos deletérios a saúde humana. A exposição ao mercúrio de uma parcela da população de Caratateua pode ser atribuída ao consumo de peixes contaminados e a animais extraídos dos mangues, hábito muito comum observados nesta população.

Em Caratateua, segundo Informações obtidas diretamente da comunidade, os peixes mais consumidos são *cynoscium sp* (pescada amarela), *Synanceia verrucosa* (peixe pedra) e *Auchenipterus Nuchalis* (mapará). Essas espécies apresentam hábito alimentar carnívoro e detritívoro, o que favorecem o acúmulo de Hg-T nos tecidos (FAIAL *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2011). Além disso, a bioacumulação do mercúrio em animais aquáticos é multifatorial. Características ambientais como temperatura, disponibilidade de matéria orgânica, espécie planctônica, microbiota local, pH e salinidade precisam ser avaliadas em ambientes onde não há registros de impactos antropogênicos, de acordo com KASPER *et al.* (2012), aspectos não avaliados na região de Caratateua.

A presença do mercúrio em animais de vida marítima já foi mencionada na literatura como uma realidade. Em uma região marítima, Cavalcanti *et al.*, (2003), averiguou contaminação por mercúrio em ostras capturadas na praia da Boa Viagem, registrando valores acima de 1.000 µg/g de Hg-T, acarretando grande

preocupação aos consumidores de ostras desta região, devido ao efeito acumulativo do Hg.

Em Barreiras a mediana obtida foi de 4.6 µg/g de Hg-T, 32% dos participantes da pesquisa se encontravam acima de 6 µg/g e 5% acima de 10 µg/g. Na década passada Pinheiro *et al.*(2000) e Silveira *et al.* (2004) investigando a exposição ao mercúrio em ribeirinhos de Barreiras encontraram média de 16 µg/g de Hg-T. Ressalta-se que naquele período ainda era muito intensa a atividade garimpeira de ouro, além disso, as atividades educativas sobre prevenção da exposição, por diferentes grupos de pesquisa não havia ainda se fortalecido, fatores que podem explicar os atuais níveis reduzidos de exposição na comunidade de Barreiras, que outrora apresentou níveis importantes de exposição ao mercúrio através do consumo de pescado contaminado da região.

Esta diferença pode ser explicada por possíveis mudanças no hábito alimentar, como um aumento do consumo de peixes herbívoros em lugar dos carnívoros, diminuição do consumo da água dos rios através do incentivo ao consumo de água de poço, aumento do consumo de frutas e verduras entre outras pequenas medidas que estão dando bons resultados e diminuindo os níveis de mercúrio (PASSOS *et al.*, 2003; PASSOS *et al.*, 2007). Além disso, há referencia de diminuição das atividades garimpeiras desordenadas nas últimas décadas. No entanto, outros fatores biogeoquímicos precisam ser avaliados nesta região, como a persistência e troca de deposição atmosférica e sedimentar, o que ainda justifica valores considerados elevados de Hg-T nas populações a margem do rio Tapajós.

Recentemente Khoury *et al.* (2013) e Vieira *et al.* (2013) estudando ribeirinhos da bacia do Tapajós e do Madeira respectivamente encontraram níveis médios de 9 µg/g e 8.02 µg/g de Hg-T. Essas concentrações são as mais próximas aos achados do presente estudo (6 µg/g), sugerindo modificações nos hábitos alimentares dos ribeirinhos e redução das atividades antropogênicas na região.

O número de refeições de peixe por semana exerceu influência positiva nos níveis de mercúrio nas comunidades, sobretudo, de Caratateua e Barreiras. As diferenças estatísticas nos resultados quantificados de mercúrio começaram a surgir a partir da categoria de 2-4 refeições semanal de peixes, onde Caratateua e Barreiras mostraram níveis de Hg-T semelhantes estaticamente.

Em peixes de mares, já foram quantificadas concentrações de Hg. Ferreira *et al.*(2012), traçou o perfil do grau de contaminação mercurial em atum *in natura* (*Thunnus albacares*) e em conserva (*Thunnus sp.*), Meca (*Xiphias gladius*), corvina (*Micropogonias furnieri*), peixe-espada (*Thichiurus lepturus*), camarão (*Litopenaeus vannamei*) e raia (*Pteroplatytrygon violácea*) e concluiu que considerando a amostragem de Meca (n=83), 2,4% ultrapassou o limite máximo recomendado para peixes predadores pela legislação nacional e que dependendo da frequência de consumo, com exceção do camarão, estas espécies podem constituir risco à saúde humana. Ainda que, Caratateua não possua histórico de impactos ambientais de origem humana, os peixes consumidos pelos seus residentes necessitam ser avaliados, afim de melhor compreensão para os valores de Hg-T descritos nesta pesquisa.

A frequência de consumo de peixes foi maior na Comunidade de Samauma (90,4%) com mais de duas refeições semanais quando comparada com as da população de Caratateua (88,6%) e Barreiras (82,3%). Apesar da menor frequência de consumo, a comunidade de Barreiras apresentou maior nível de mercúrio total em cabelo e Samaúma a menor concentração, sugerindo que esta população está consumindo peixes com baixos teores de mercúrio. Principalmente, devido à localização em zona estuarina. Pois segundo Colino *et al.* (2009), os peixes de estuário ainda são jovens e não atingiram sua maturidade sexual, se alimentando principalmente de detritos e frutas, o que diminui sua capacidade de acumulação do metal.

Outra justificativa, seria a alimentação acrescida de nutrientes antioxidantes, a exemplo do açaí, considerando sua característica antioxidante, uma vez que, o hábito de ingestão de açaí é frequente nesta comunidade e podem está contribuindo para os baixos níveis de Hg. Em contrapartida, Barreiras continua consumindo peixes contaminados mantendo níveis de mercúrio que podem oferecer riscos à saúde humana.

Esses resultados corroboram os achados de Brunet *et al.*(1991), Farias *et al.*, (2006) e Passos *et al.*, (2007) os quais verificaram presença da associação número de refeições semanais de peixes e teores mais elevadas de mercúrio total e metilmercurio em amostras sanguíneas e tecidos capilares. Nos estudos citados, as

populações eram residentes da região do Tapajós e costeira do estado de São Paulo.

Neste sentido, se faz necessário destacar que a exposição ao Hg pode ser acentuada, sobretudo quando não há inclusão de frutas na dieta destas populações e escolha de espécies de peixes menos contaminadas por Hg e de hábito alimentar herbívoros e onívoros (PASSOS *et al.*, 2007; FAIAL, *et al.*, 2005; FARIAS *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 2011, AMARO *et al.*, 2014.).

O estresse oxidativo é considerado um dos produtos dos danos causados pela exposição ao mercúrio em humanos (PINHEIRO *et al.*, 2005; GROTO *et al.*, 2009).

Os menores níveis de GSH total foram registrados em amostras de sangue dos ribeirinhos de Barreiras, considerada região exposta. Para Rodrigues *et al.* (2013) a dosagem de GSH total é um indicador antioxidante e tem um papel central na toxicidade induzida por Hg. No entanto, Pinheiro *et al.* (2005) admitiram que a GSH total isoladamente, não é um bom marcador antioxidante, pois deve-se considerar a possibilidade de um acúmulo maior da forma oxidada em relação a reduzida. Neste estudo, os níveis de GSH total em Caratateua e Barreiras foram representadas por mais de 50% na forma oxidada.

O maior nível de GSH total foi observado na comunidade de Caratateua, embora tenha apresentado também maior nível de GSSG e MDA, ambos marcadores representativos de lesão oxidativa celular. Não existem estudos sobre estresse oxidativo e mercúrio realizados nesta comunidade, o que dificulta a análise comparativa com a literatura pertinente. Admite-se que, o grau de oxidação encontrado neste grupo esteja, em parte, relacionado aos níveis elevados de exposição ao mercúrio. Para Pinheiro *et al.*, (2005) e Groto *et al.* (2009) a exposição ao mercúrio contribui significativamente para as taxas de GSH total no sangue, em grande parte da forma oxidada.

Uma variável relevante que não foi controlada neste estudo e que poderia elucidar a participação do Hg nas atividades oxidantes em ribeirinhos de Caratateua e Barreiras, seria a dosagem da glutathione peroxidase (GPH-Px), uma enzima importante do ciclo glutathione, selênio dependente, que participa na transformação da GSH em GSSG. Vários estudos, como os de Angstwurm & Gaertner (2006) e Thomson *et al.* (2010) demonstram que variações na concentração de selênio

podem influenciar diretamente a atividade da enzima GSH-Px, interferindo no ciclo antioxidante da glutathiona, que participa diretamente na catalise à oxidação da GSH a GSSG. Seus níveis diminuídos sugerem uma alta exposição a metais, entre eles o Hg (HUBER E ALMEIDA 2008). Além disso, não foram controlados o perfil lipídico e pressão arterial que poderiam está influenciando no perfil oxidativo. Por outro lado, os níveis de GSH dos ribeirinhos de Caratateua se mostraram semelhantes aos de Samaúma que apresentaram níveis de Hg-T bem abaixo do estabelecido pela OMS, para populações com hábitos frequente de dieta a base de peixe, 6 µg/g.

Os níveis de GSH em Barreiras de 0.2 mm/ml de plasma foram os menores entre as três comunidades. Havendo também associação entre seus respectivos valores de GSH e a concentração de Hg-T. Nas demais comunidades, Samaúma e Caratateua esta associação não foi observada. Groto *et al.* (2009), obteve níveis de GSH 1, 54 µg/ml em ribeirinhos da região do Tapajós, bem acima dos valores obtidos no presente estudo.

É importante mencionar que análise isolada da GSH não demonstra a dimensão do sistema oxidante e antioxidante, considerando a complexidade deste que envolve um processo constante de reações de oxi-redução. Sugerindo a importância da análise da relação dos níveis de GSSG e GSH.

No corrente estudo, esta relação foi utilizada para análise do status antioxidativo das comunidades, onde Samaúma apresentou melhor proteção, mesmo mostrando níveis de GSH iguais a comunidade de caratateua. A mesma avaliação foi realizada entre Caratateua e Barreiras que embora tenham apresentado níveis similares de oxidação, Barreiras demonstrou está menos protegida.

Estudo prévio realizado por Pinheiro *et al.*(2008) na comunidade de Barreiras observou níveis de GSH total mais elevado em relação a área controle. Sugerindo que esse aumento seria por conta da GSSG.

Por outro lado, os estudos a cerca da exposição ao Hg, os valores de GSH em sangue não apontam para uma única direção. Chen (2005) reportou em sua pesquisa um aumento na concentração de GSH, declarando haver um mecanismo compensatório de caráter protetor.

Diante dos fatos, vale ressaltar que os ribeirinhos de Barreiras por décadas foram expostos ao mercúrio através da alimentação de peixes contaminados ao Hg,

por conta da intensa atividade garimpeira na região; o que poderia ter movido o desequilíbrio entre o par GSH e GSSG nesta comunidade. A GSH e GSSG são importantes indicadores do estado redox celular e alterações nestes elementos ratificam a sua relação com a proliferação, diferenciação e apoptose celular, além de ser considerada um preditivo de longevidade celular (PARK, 2009).

O teste de correlação mostrou associação negativa entre os níveis de GSH e Hg-T na comunidade Barreiras, sugerindo que a exposição ao mercúrio está influenciando negativamente na proteção antioxidativa desta população. Corroborando aos resultados similares de Groto *et al.* (2009), em ribeirinhos da região do Tapajós.

Em relação aos níveis normais de GSH em Caratateua e Samaúma, 2.0 µg/ml, estes podem estar sendo influenciados pela própria genética e alimentação da comunidade, como a ingestão de açaí, considerado um antioxidante em potencial e outras frutas nativas da região, como acerola (CANUTO *et al.*, 2010). Além de uma possível modulação seletiva nos níveis de GSH-Px nos ribeirinhos da comunidade de Caratateua. Segundo Gutierrez (2002), expondo ratos a HgCl<sub>2</sub> por 30 dias, semana a semana a uma determinada concentração de mercúrio, percebeu que dentre as enzimas avaliadas, SOD e CAT, todas sofreram diminuição ao longo do experimento, com exceção da GSH-Px que passou por estagio de diminuição na primeira semana de exposição e aumento na a partir da segunda semana, demonstrando uma adaptação seletiva no sistema antioxidante.

Os níveis medianos da capacidade antioxidante total nas comunidades de estudo se mostraram estatisticamente diferentes entre a comunidade de Samaúma 0.4 e as outras comunidades que foram avaliadas 0.6 (Caratateua e Barreiras). Além de não ser observada associação entre seus respectivos valores de Hg-T. O TEAC é um preditivo importante na exposição a xenobioticos, tendo como função, estimar a concentração dos antioxidantes presente em um organismo, sejam eles enzimáticos e não enzimáticos, através da oxidação do radical ABTS em amostras de Plasma (PRIOR & CAOR, 1999).

Os maiores níveis de TEAC, nas comunidades que apresentaram concentrações de Hg-T mais elevadas, Caratateua e Barreiras, poderiam ser explicados através de alguns estudos que admitem uma possível modulação ao longo do tempo de exposição ao mercúrio nos elementos antioxidantes.

Não há estudos que avaliem a correlação entre níveis de Hg-T e TEAC em humanos. Este é o primeiro estudo realizado em populações expostas na Amazonia. Os estudos existentes foram realizados em modelos experimentais de ratos por Auzani (2001) e Guteirres (2002).

Nos estudos de Auzani *et al.* (2001), a capacidade antioxidante total reduziu em 68% em ratos exposto ao HgCl<sub>2</sub> somente na primeira semana, reforçando a ideia de processos adaptativos que permitem o reequilíbrio a esta situação.

Gutierrez (2002), constatou que a dosagem da capacidade antioxidante total somente na primeira semana de exposição ao HgCl<sub>2</sub>, se mostrou diminuída, aumentando progressivamente ao longo da exposição a uma proporção de 225% no tecido cardíaco, 100% no renal e 55% no hepático.

A concentração de MDA entre as comunidades foram estatisticamente diferente entre as dosagens obtidas nos ribeirinhos de Caratateua quando comparadas a Samaúma e Barreiras. Além da ausência de associação entre seus respectivos valores de Hg-T.

A TBRAS, está diretamente associada ao grau de peroxidação lipídica da membrana celular diante do estresse oxidativo, originada a partir de contaminantes como o mercúrio. E sua avaliação se faz importante, visando prevenir alterações nos mecanismos de homeostase celular (RODRIGUES *et al.*, 2013).

A dosagem de MDA obtida em ribeirinhos de Barreiras no presente estudo MDA foram semelhantes aos de Hoyos *et al.* (2011). No referido estudo os pesquisadores avaliaram o papel do MDA em danos neurológicos de homens expostos laboralmente ao Hg, não encontrando diferença entre a concentração de MDA entre trabalhadores com e/ou sem alterações neurológicas, nem tão pouco, associação com seus respectivos níveis de Hg-T.

Os níveis de 1.4 ml de MDA em Barreiras foram menores do que os obtidos por Valentini (2012) em humanos na região do Tapajós. Além de uma correlação positiva com os níveis de Hg-T em suas comunidades. Embora, a região ser a mesma em ambos os estudos, a comunidade de estudo de Valentini (2012) não foi a mesma selecionada no presente estudo. Mas é necessário destacar, que Caratateua apresentou dosagem de MDA (3,1) semelhante a áreas reconhecidamente impactadas pela contaminação de mercúrio 2,54 e 4,49 m /L de MDA.



Para Barcelos (2010), a exposição ao metilmercúrio por organismos vivos, é capaz de aumentar as concentrações de MDA. Os níveis maiores de MDA, em Caratateua, merecem ser reavaliados, considerando o tipo de dieta predominante desta comunidade, baseados em mariscos. Acrescentando a este resultado, Valentine (2012), admiti a partir de seus achados que uma dieta enriquecida de  $\beta$ -caroteno, ameniza as concentrações de MDA. O que poderia estar influenciando os níveis de MDA em ribeirinhos de Caratateua, sugerindo uma possível deficiência de  $\beta$ -caroteno.

Quando foi aplicada a correlação linear de Pearson, para a avaliação da associação dos níveis de Hg-T e relação da GSSG/GSH em todos os participantes das três comunidades, considerando que todos são expostos ao Hg, pela ingestão de peixes, foram observadas fraca correlação. Fortalecendo a hipótese que, o Hg interfere nos elementos do sistema glutathiona. Além da importância em considerar a relação entre GSSG/GSH, para uma melhor avaliação do estresse oxidativo. Este achado corrobora para o perfil oxidativo observado na comunidade de Barreiras no corrente estudo. A associação inversa observada entre os níveis de Hg e MDA, em todos os participantes da pesquisa, demonstra que o mercúrio não é o protagonista nos níveis de peroxidação lipídica destas populações, sugerindo a participação de outros interferentes nos níveis de TBRAS.

## 9. CONCLUSÃO

Conclui-se que a exposição ao mercúrio e o perfil oxidativo e antioxidante das comunidades estudadas apresentam características particulares. Os níveis de exposição ao mercúrio são diferentes conforme localização geográfica das comunidades, com níveis maiores na região do Tapajós e menores na comunidade de Samaúma, localizada na região estuarina do Pará. Os níveis encontrados em Samaúma foram os mais baixos já relatados na literatura para população consumidora de pescado.

A população pesqueira da região costeira marítima apresentou níveis considerados acima do limite de tolerância para população consumidora de pescado. Os fatores relacionados aos níveis de exposição encontrados não foram totalmente esclarecidos. No entanto, as evidências apontam que o pescado é a fonte de exposição ao mercúrio nas comunidades de Caratateua e Barreiras.

Barreiras e Caratateua mostraram níveis de oxidação celular maior que a de Samaúma demonstrando que esta última possui melhor capacidade antioxidante da GSH em relação às demais estudadas.

A Capacidade antioxidante total (TEAC) em Samaúma foi menor que Barreiras e Caratateua. A peroxidação lipídica foi maior em Caratateua, não havendo correlação com os níveis de mercúrio. Entretanto há necessidade de mais estudos desses marcadores em associação ao Hg, principalmente em Caratateua.

Esses resultados apontam para a necessidade de investir-se em medidas educativas, principalmente as relacionadas à alimentação considerando a escolha das espécies de pescado, o número de refeições a base de pescado, a variabilidade da dieta e a importância da ingestão de nutrientes antioxidantes que possam modificar o perfil das defesas antioxidantes nas comunidades expostas.

## 10. REFERENCIAS

AKAGI, H.; MALM, O.; KINJO, Y.; HARADA, M.; BRANCHES, F. J. P.; PFEIFFER, W. C. & KATO, H. Methylmercury pollution in the Amazon, Brazil. **Science of the Total environment.** v.75, p. 85-95, 1995.

ALABI, N.S.; WHANGER, P.D.; WU, A.S.H. Interactive effects of organic and inorganic selenium with cadmium and mercury on sper matozoal oxygen consumption and motility in vitro. **Biology of Reproduction.** v. 33, p. 911–919.1985.

ALENCAR, F.; YUYAMA, L.; VAREJAO, M. J.; MARINHO, H.A. Determinantes e consequência da insegurança alimentar no amazonas: A Influencia do Ecosystema. **Acta Amazônica.** v 37, p. 413-418, 2007.

ALLEN, J.W.; SHANKER, G.; TAN, K.H.; ASCHNER, M.The consequences of methylmercury exposure on interactive functions between astrocytes and neurons. **Neurotoxicology.** v. 23, n.6. P.755- 759, 2002.

ALLENA J. W., SHANKERA G., ASCHNER M. Methylmercury inhibits the in vitro uptake of the glutathione precursor, cystine,in astrocytes, but not in neurons **Brain. Research.** v. 894, p.131–140, 2001.

ALMEIDA, S.; VIEIRA J.; PINHEIRO, M.; FREITAS, J.; RIBEIRO, D.; AZEVEDO, A.; FERREIRA, M. Concentração de mercúrio total em peixes Consumidos Pela População Amazônica.In: III Encontro da ANPPAS, 2006.70-76.

AMARO, C.S.O.; JUNIOR, D.R.; SILVA, M.C.F.; LIMA, A.A..S.; SANTOS, G.F.S.; PINHEIRO, M.C.N. Concentração de mercúrio total (Hg-T) em peixes comercializados em diferentes períodos sazonais no mercado do Ver-o-Peso, Belém, estado do Pará, Brasil.**Revista Pan-Amazonica de Saúde.**v.5.n.1p.53-60, 2014.

AMORIM, M.I.M; MERGLER, D.; BAITIA, M.O.; DUBEAU, H.; MIRANDA, D.;LEBEL, J.; BURBANO, R.R.; LUCOTTE, M. Cytogenetic damage related to low levels of methylmercury contamination in the Brazilian Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** v. 72, p. 497-507, 2000.

AMOUREUX, D.; WASSERMAN, J.C.; TESS, E.R.E.; DONARD, O.F.X. Elemental mercury in the atmosphere of a tropical amazonia forest (French Guyana). **Enviromental Sience Tecnology.** v. 33, p. 3044-3048, 1999.

ANGSTWURM, M. W. A.; GAERTNER, R.P racticalities of selenium supplementation in critically ill patients. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care,** v. 9, p. 233-238, 2006..

ANDERSON, M.E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. **Methods in Enzymology.**, v. 113,p. 548-555, 1985.

ANDRADE J.R., D.R., SOUZA, R.B., SANTOS, S.A., ANDRADE, D.R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares J. **Bras. Pneumol.** v.31, n. 1, p.60- 68, 2005.

ARRIFANO, F.P.G. **Metilmercúrio e mercúrio inorgânico em peixes comercializados no mercado municipal de Itaituba (Tapajós) e mercado do Ver-o-peso.** 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado) em Neurociência e Biologia celular. Universidade Federal do Pará. Belém do Pará. 2011

ARIZAN, M.E.; BIJUR, G. N.; WILLIAMS, M. Lead and mercury mutagenesis; role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, superoxide dismutase, and xanthine oxidase. **Environmental and Molecular Mutagenesis, Nem yourk.** v.31, n.4 p. 352-361, 1998.

ARROYAVE CL, CUESTA F, WILCHES N, ÁLVAREZ, DM, CORNEJO JW. Asociación entre las concentraciones de malondialdehído (MDA) y las alteraciones neurológicas en personas expuestas ocupacionalmente a mercurio. **Rev. Cienc. Salud** v. 10 (Especial): p.17-28, 2012.

ASHOUR, H.; ABDEL-RAHMAN, M.; KHODAIR A. The mechanism of methylmercury toxicity in isolated rat hepatocytes. **Toxicology Letters.** v. 69, p. 87-96, 1993.

ATLI G & CANLI M. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology.** v.145, p. 282-287, 2007.

AUGUSTI, R.P. **Efeitos dos carotenoides licopeno e astanxantina sobre danos renais induzidos por cloreto de mercúrio.** 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado) – Em Bioquímica Toxicológica. Universidade Federal de Santa Maria- Santa Maria Rio grande do Sul. 2007

AUZANI, J. A. S., GUTIERREZ, L. L. P., KLIPEL, R. B., MAZZOTTI, N. G., FERNANDES, T. R. G., LLESUY, S. F., & BELLÓ-KLEIN, A. (2001). Estresse oxidativo sistêmico na intoxicação crônica por cloreto de mercúrio: perfil temporal. Salão de Iniciação Científica (13. 2001: Porto Alegre). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2001.

AYRES, M. Elementos de Bioestatística- Seiva do Açazeiro.5 ed.2011.522p.

AVILEZ I.M.; HORI, T.S.F.; ALMEIDA, L.C.; HACKBARTH, A.; BASTOS, NETO. J.C.; BASTOS, V.L.F.C & MORAES G. Effects of phenol in antioxidant metabolism in matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). **Comparative Biochemistry and physiology.**v.148, p.136-142,2008.

BALLATORI, N.; CLARKSON, T.W. Biliary secretion of glutathione and of glutathione-metal complexes. **Fundamental and applied Toxicology, Akron.** v.5.n.5, p.816-831, 1985

BANNAI, S.; Ransport of cystine and cysteine in mammalian cells, transBiochim. **Biophysical Acta.** V.779, p. 289–306, 1984.

BARBER, A.D., HARRIS, S.R. Oxygen free radicals and oxidants: a review. **Amer. Pharm.**, v.34, n.9, p.26-35, 1994.

BARCELOS, G.R.M. **Avaliação das propriedades antígenotóxicas e antioxidantes do flavonoide quercetina e dos carotenoides bixina e norbixina contra os danos no materail genético e distúrbios do estado redox causados pelo cloreto de mercúrio e metilmercúrio, in vitro e in vivo.** 2010. 112 f. Tese (Doutorado) Faculdades de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP. Ribeirao Preto, 2010.

BARREGARD, L.; THOMASSEN, Y.; SCHUTZ, A.; MARKLUND, S. Levels of Selenium and Antioxidative Enzymes Following Occupational Exposure to Inorganic Mercury. **The Science of the Total Environmental.**, v. 99, p.37-47, 1990.

BAST, A.; HAENEN, G.; DOELMAN, C.J.A. Oxidants and antioxidants: state of the art. **Amj Med.**, v.91, p. 2-13, 1993.

BASTOS, W. R.; LACERDA, L. D. Mercúrio na Bacia de Drenagem do Rio Madeira, Rondônia. **Geochimica Brasiliensis**, v.18, p.99-114, 2004

BASTOS, R.W.; REBELO, F.M.; FONSECA, F.M.; ALMEIDA, R.; MALM, O. Um estudo descritivo do mercúrio em peixes da bacia do Rio Madeira, Amazônia, Brasil. **Acta Amazonica.**, v. 38, p. 431-438, 2008.

BASTOS, W.; HACON, S.; SALES, A.; SOUZA, A.; ALVES, B.; SOUZA, B.; CARIOLANDO, C.; CARVALHO, D.; COSTA, J. **Relatório trimestral do projeto de risco e análise do perfil de saúde das comunidades potencialmente expostas ao mercúrio no Rio Madeira-UHE Santo Antonio.** Universidade do Rio de Janeiro - UNIR/RIO, 2010.

BATTIGELLI, M.C. Lavori scientifici sulla tossicità del mercurio contenuto solo negli amalgami denta. **Actualidad Dermatologica.**, v. 33, p.683-695, 1994.

BERLIN, M.; FRIBERG, L.; NORDBERG, G.F.; VOUK, V. In: **Handbook on the toxicology of metals.** Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1986 p. 345-387.

BERG, J.M.; TYMOCZKO JL & STRYER L. **Bioquímica.** 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.2004.

BISNOTI, M.C; JARDIM, W.F.O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente.Quím. **Nova.** V.27. n.4 p. 593-600, 2004.

BJOUBIRRA, M.A; HANDEN, K.; GUERMAZI, F.; BOUSLAMA, A.; OMEZZINE, A.; KAMMOUN, A., E FEKI. Testicular toxicity in Mercury cloridre treated rats: Associated with oxidative oxidative. **Reprotuctive Toxicology.** v.28, p.81-89, 2000.

BRANDÃO, R., SANTOS, F.W., ZENI, G., ROCHA, J.B.T., NOGUEIRA, C.W. DMPS and N-acetilcisteína induced renal toxicity in mice exposed to mercury. **Biometals**, 2006.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index>, abril, 2013.

BRIDGES, C.C., ZALUPS, R.K. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 204, p. 274-308.2005.

BRUNE .G.F. N.; VESTERBERG.;L. GERHARDSSON.;P.O. WESTER. A review of normal concentrations of mercury in human blood. **The Science of the Total Environment.** v. 100, p. 235-282, 1991.

BULAT, P. Activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in workers occupationally exposed to mercury. **International Archives of Occupational and Environmental Health.** v. 71, p. S37-S39, 1998.

CALABRESE, A.I.; ASTOLFI, E.A. In: **Toxicologia**. Buenos Aires, Argentina: Kapelusz, p.139-143.1973

CAMPOS,M.S.;SARKIS,J.E.S.;MULLER,R.C.S.;BRABO,E.A.;SANTOS,E.O.Correlati on between mercury and selenium concentrations in Indian hair from Rondonia State, Amazon region, Brazil. **Science of the Total Environment.** v. 287, p. 155-161, 2002.

CANUTO,G.A.B.; XAVIER,A.A.O.; NEVES,L.C.; BENASSI,M.T.; Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazonia e sua correlação com a atividade de radicallivre. **Rev. Bras. Frutic.** v.32 n.4 p.26, 2010.

CASTELLINI, C.In vitro toxic effects of metal compounds on kinetic traits and ultrastructure of rabbit spermatozoa. **Reproductive Toxicology**, v. 27, p. 46–54. 2009.

CASTILHOS, Z.; RODRIGUES, A. **Avaliação da potencial acumulação de mercúrio em peixes dos reservatórios de (previstos) do Jiraú e de Santo Antonio, Rio Madeira, Ro.**Centro de Tecnologia Mineral. CETEM. v.7 p.1-4.2007

CAVALCANTE,A.D. Monitoramento da contaminação por elementos traço em ostras comercializadas em Recife, Pernambuco, Brasil. **Cad. Saúde Pública.**v.19 n.5 Rio de Janeiro Sep./Oct. 2003

CHANDRAN, R.; SIVAKUMAR, A.A.; MOHANDASS S & ARUCHAMI M. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. **Comparative Biochemistry and physiology.** v. 140, p.422-426, 2005.

CLARKSON, T.W. The toxicology of mercury. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Science.** v. 34, p. 369-403, 1997.

CHUNYING. CHEN. LIYA, QU.; BAI, LI.; LI, XING. GUANG. J.I.A.;TIANCHENG, WANG.; YUXI, G.A.O.;1PEIQUN, Z.;1 MEI, LI.; WEI, C.; ZHIFANG, C. Increased Oxidative DNA Damage, as Assessed by Urinary 8-Hydroxy-2\_-Deoxyguanosine Concentrations, and Serum Redox Status in Persons Exposed to **Mercury Clinical Chemistry** v. 51 p. 4 759–767, 2005.

COELHO, S.A.; MIRANDA. M.R.; GUIMARÃES, R.D.A. Importância das macrófitas aquáticas no ciclo do mercúrio na bacia do rio tapajós (Pá).**oecol Bras.** v.11, n. 2, p.252-263,2007.

COGO, A.J.D.; SIQUEIRA, A.F.; RAMOS, A.C.; CRUZ, Z.M.A & SILVA, A.G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line.** v.7, n.1, p.37-42, 2009.

COLINO, E.C.V.; PALHETA, D. C.; SARAIVA, A.F; CARDOSO, E.C. Níveis de metais pesados em piramutabas (*Brachyplatystoma vailantii*) capturadas na Baía de Marajó e comercializadas no município de Belém/PA. **Revista de Medicina Veterinária** v.6 p. 54-98,2009.

CUBAS, A, S.I; ALBERNAZ, P.L.M. Manifestações auditivas e vestibulares decorrentes da exposição ao mercúrio. **Rev Bras Saúde Ocupacional.** v. 25, p.93-94, 1998.

DAHLE, L.K.; HILL, E.G.;HOLMAN,R.T.The thiobarbituric acid reaction and the autooxidantios of polyunsaturated fatty acid me thyl esters.**Archives of Biochemistry and Biophysicis.** v. 98, p. 253-261, 1962

DEBY, C.; PINCEMAIL, J. Toxicidade do oxigênio, radicais livres e meios de defesa. **Presse Médicale.** v. 15, p. 1468-1474, 1986.

DE MARCO, F.;BUCAJ,E.; FOPPOLI, C.; FIORINI, A.; BLARZINO, C.;Oxidative Stress in HPV-Driven Viral Carcinogenesis: Redox Proteomics Analysis of HPV-16 Dysplastic and Neoplastic Tissues. **PLoS ONE.** v. 7 n.3, 2012.

DUTRA, M.D.S.; MONTEIRO, M.C.; CÂMARA, V.M. Avaliação do processamento auditivo central em adolescentes expostos ao mercúrio metálico. **Pró-Fono Revista de Atualização Científica.** v.22, p. 44-339, 2010.

ELBAZ.A.; WEI, Y.Y.; MENG, Q.; ZHENG, Q.; YANG, Z.M.; Mercury-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in hlamydomonas reinhardtii. **Ecotoxicology.** v.19. p. 1285–1293,2010.

FAIAL, M.R.F.; SANTOS, E.C.O.; BRABO, E.S.; SÁ, C.G.; JESUS, I.M.; LIMA, M.; MENDES, R.A.; MASCARENHAS, A.F.S. Níveis de Mercúrio em peixes do Rio Trombetas no Baixo Amazonas: Uma Área sem influencia de garimpo. **Caderno de Saúde Coletiva.** v. 13 p.237-248, 2005.

FARIAS, L.A. **Avaliação do Mercúrio, Metilmercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da Região Amazônica**. 2006. 233 f. Tese (Doutorado)- Programa de pós-graduação de Ciências -Tecnologia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada a Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FARIAS, L.A.; FAVARO, I.D.; SANTOS, O.J.; VASCONCELOS, B.M.; PESSOA, A.; AGUIAR, L.P.J.; YUYAMA, L. Cooking process evolution on mercury content in fish. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. **Acta Amazonica**. v. 40, p.741-748, 2010.

FARINA, M, AVILA, D.S.; ROCHA, J.B.T.; ASCHNER, M. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. **Neurochemistry International** v.62 p. 575–594, 2013.

FATINEL, M.R. **Efeito *in vitro* de *Paullinia cupana* no metabolismo oxidativo de espermatozoides humanos expostos ao cloreto de mercúrio**. 2012. 87f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Bioquímica toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

FERREIRA, M.S.; MÁRSICO, E.T.; MARQUES, A.N.J.; MANO, S.B.; CLEMENTE, S.C.S.; CONTE, C.A.S.J. Mercúrio total em pescado marinho do Brasil. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 19, n. 1, p. 50-58, 2012

FICHA DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA–FIT. **Mercúrio e seus compostos-CETESB**, 4 p, 2010.

FILHO, E. V.; KÜTTER, M. T.; KÜTTER, V. T.; LACERDA, L. D. **Mercúrio em peixes no Brasil e sua implicação ecológica: revisão bibliográfica**. In: Fortaleza-Ceará, p. 1-4.2008

FONSECA, M.F. **O isolamento geográfico como interferente em avaliações neurológicas de possíveis tóxicos do metilmercúrio**. 2007. 251 f. Tese (Doutorado) Instituto de Biofísica. Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

FREEMAN, B.A.; CRAPO, J.D. Biology of disease: free radicals and tissue injury. **Laboratory Investigation**. v. 47, p. 412-426, 1982.

FRUSTACI, A.; ENRICO S.; SALVADOR F.; MASSIMO, F.; RICCARDO D.T.; MARCO, T.; EMANUELA, M.; MARIA, R.C.; MATTEO, A.R.; CRISTINA, C. Selenium- and zinc-deficient cardiomyopathy in human intestinal malabsorption: preliminary results of selenium/zinc infusion. **European Journal of Heart Failure**., v. 14, p.202–210, 2012.

GEIER, D. A., & GEIER, M. R. A prospective assessment of porphyrins in autistic disorders: a potential marker of heavy metal exposure. **Neurotoxicity Research**. v. 10, p. 57–64.2006.



GEIER, D.A., KERN, J.K. & GEIER, M.R., A prospective study of prenatal mercury exposure from maternal dental amalgams and autism severity. **Acta NeuroBiol Exp.**, v. 69, p.1-9., 2009.

GHISELLI A, S. M.; NATELA, F.; SCACCINI, C.Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data.**Free Rad Biol Med.** v. 29. P.1106-1114, 2000.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C.**Free Radical Biol. Med.**,v. 29, p.1106, 2006

GIODA, A.; HANKE, G.; BONETA E. A.; JIMENEZ ,V.B.A. Pilot study to determine mercury exposure through vapor and bound to PM10 in a dental. **School environment. Toxicology and Industrial health.** v. 23 p. 103-113, 2007.

GLASSER, V. **Participação da mitocôndria na neurotoxicidade induzida por toxicantes endógenos e ambientais em cérebro de roedores.** 2010 98 Dissertação (mestrado) em bioquímica do centro de ciência biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

GROTTO, D.; SANTA MARIA, L.D.; BOEIRA, S.; VALENTINI, J.; CHARÃO, M.F.; MORO, A.M.; NASCIMENTO, P.C.; POMBLUM, V.J.; GARCIA,S.C.Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography – visible detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* v.43, p.619-624, 2007.

GROTO,D.; GUSTAVO.R.M.B; VALENTINI, J.; ANTUNES, L.; ANGELI,J.P.; GARCIA ,S.; FERNANDO, B.JR. Low levels of methylmercury induce DNA damage in rats:Protective effects of seleniun. **Archive of Toxicology.** v. 83, p.249-254, 2009.

GROTTO.D; VALENTINI.J; SERPELONI.M.J; MONTEIRO.P; ALVES.P. LATORRACA. E.F; DE OLIVEIRA, R. S; GREGGI A.; LUSANIA, M.; GARCIA, S.C; BARBOSA, F.JR.Evaluation of toxic effects of a diet containing fish contaminated with methylmercury in rats mimicking the exposure in the Amazon riverside population.**Environmental Research**, v. 111, n. 8, p. 1074-1082.2011.

GUALLAR, E.; SANZ, G.M.I.; VAN´T, V.P.; ARO, A.; GÓMES, A.J.; KARK, J.D.; RIEMERSMA, R.A.; MARTÍN, M.J.M.; KOK, F.J. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. **The new england of journal of medicine.** v.347, p.1747-1754, 2002.

GUTIERRES, L.P.**Avaliação do estresse oxidativo sistêmicoe órgão específico na intoxicação crônica por cloreto de mercúrio.** 2002. 90 f. Dissertação (Mestrado)Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Porto Alegre.2002.

HACON S, ARTAXO P, GERAB F, YAMASOE MA, CAMPOS RC, Conti LF. Atmospheric mercury and trace elements in the region of Alta Floresta in the Amazon basin. **Water, air soil pollut.** v. 80 p. 273-283, 1995.

HACON, S.; ROCHEDO, E.R.; CAMPOS, R.; ROSALES, G. & LACERDA, L.D. Risk Assessment Of Mercury In Alta Floresta.Amazon Basin.**Water, Air And Soil Pollution**. v 97.p. 91-105, 2008.

HAMADA, R.; OSAME, M. Minamata disease and other mercury syndroms. In:Chang, L.W. (ed.). **Toxicology of Metals**. New York: CRC Lewis.p.337-351, 1996.

HARADA, M. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. **Critical Reviews in Toxicology**. v. 25, p. 1-24, 1995.

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**, New York, U.S.A.: CRC Press, p. 177-187,1997

HARMS-RINGDAHL, K., SCHULDT, K. Maximum neck extension strength and relative neck muscular load in different cervical spine positions. **Clin. Biomech**. v.4, p.17-24, 1988.

HEAVEN,S.;LYUSHCHENKO,M.A.;KAMBEROV,I.M.;POLITIKOV,M.I.;TANTON,T.W ULLRICH, S.M.; YANIN, E.P. Mercury in the river nura and its floodplain, central kazakhstan:ii. Floodplains soils and riverbank silt deposits.**Science of the total environment**. v. 260, p. 45-55, 2000.

HIRAYAMA O, MATSUDA H, TAKEDA H, MAENAKA K, TAKATSUKA H. Purification and properties of a lipid acyl-hydrolase from potato tubers. **Biochim Biophys Acta.**, v. 384, p.127-137, 1975

HIRAYAMA K. Effect of amino acid on brain uptake of Methylmercury.**Toxicology Applied Pharmacology**. v. 55, p. 318-323, 1980.

HIRAYAMA, K.; YASUTAKE, A. In vivo degradation of methylmercury – Its mechanisms and significance in methylmercury induced neurotoxicity. In:TAKIZAWA, Y., OSAME, M. (eds.) Methylmercury Poisoing in Minamata and Niigata, Japan., **Japan Public Health Association**, p. 103-110, 2001.

HOYOS, C.L A.; GONZALES, F.C.; WILCHES, N.; ALVARES, D.M.A.; CORNEJO, J.W. Asociacion entre las concentraciones de malondialdeido (MDA) y las alteraciones neurológicas em personas expuestas ocupacionalmente a mercúrio.**rev ciência salud** 10. (Especial): v.17 p.28-17, 2011.

HUSSAIN,S.; ATKINSON,A.; THOMPSON,S.J.; KHAN,A.T. Accumulation of mercury and its effects on antioxidant enzymes in brain, liver and kidneys of mice. **Journal of Environmental Science Health B**. v.34, p.645-660, 1999.

HUBER, P.C.; ALMEIDA, W.P.; Glutaciona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, V. 31.n. 5, p.1170-1179, 2008

IMAN AL-SALEH A.; AL ANOUD AL-SEDAIRI B.; ROLA ELKHATIB A. Effect of mercury (Hg) dental amalgam fillings on renal and oxidative stress biomarkers in children. **Science of the Total Environment** v. 431p. 188–196, 2012

IMAN AL-SALEHA,, REEM AL-ROUQIA, CERCILIA ANGELA OBSUMA, NEPTUNE SHINWARIA, ABDULLAH MASHHOURA, GRISELLHI BILLEDOA, YASER AL-SARRAJA, ABDULLAH RABBAH. Mercury (Hg) and oxidative stress status in healthy mothers and its effect on birth anthropometric. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, p. 19 2013.

ISSAKSSON, C.; STURVE. J. ALMROTH, B.C. The Impact of urban environment on oxidative damage (TBARS) and antioxidant Systems in lungs and liver of great tits, *Parus major*. **Environment Research**, v.109, p.46-50, 2009.

JIM, X. Dietary fats modulates methylmercury-mediated Systemic oxidative stress and oxidative DNA damage in rats. **Food and chemical toxicology**, v. 46 p. 1706, 2000.

JUNIOR, L.R.; HÖEHR, N.; ELLASCO.A.P.; Sistema Antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quim. Nova**. v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

KASPER, D.; FERNANDES, E.; PLERMO, A.; BRANCO, C.W.C.; MALM, O. Evidence of elevated Mercury levels in carnivorous and omnivorous fishes downstream from an Amazon reservoir. **Hydrobiologia**. V.694.p.87-98, 2012.

KERRY E. LESLIE & SUSAN M. KOGER. A. Significant Factor in Autism: Methyl Mercury Induced Oxidative Stress in Genetically Susceptible Individuals. **J Dev Phys Disabil** n. v.23, p.313–324, 2011.

KHOURY, E.D.T.; SOUZA, G.S.; SILVEIRA, L.C.L.; COSTA, A.C.; ARAÚJO, AA.; PINHEIRO, M.C.N. Manifestações neurológicas em comunidades expostas ao mercúrio na Amazonia Brasileira. **Cad.saúde Publica**. v.29, n.11, p. 2307-2318, 2013.

KUNIMOTO, M.; TAKANAGA, H.; ADACHI, T. Factors controlling the cell death of cerebellar neurons induced by methylmercury. In: the VI International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2001, Minamata-Japan. National Institute for Minamata Disease (NIMD), 2001.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LACERDA, L.D.; MALM, O. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. **Estudos Avançados USP** 22: 173-190, 2008.

LEAL, H.F. **Estudo geoquímico e biogeoquímico do sedimento água intersticial e plantas (avicennia gerrminars) no manguezal de Bragança- Ajuruteua, Ne do**

**Pará.**2001, 104 f. Dissertação(mestrado em geologia)-Universidade Federal do Pará, Belém do Pará, 2001.

LIMA, É.S; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LIU, P.; HE, K.; LI, Y.; WU, Q.; YANG, P.; WANG, D. Exposure to mercury causes formation of male-specific structural deficits by inducing oxidative damage in nematodes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 2011

LUND, B.O.; MILLER, M.D.; WOODS, J.S. Mercury-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, p. 181-187, 1991.

MALM, O. **Contaminação Humana e Ambiental dos Garimpos de Ouro do Rio Madeira Amazônia.**1991, 106 f. Tese (Doutorado em meio ambiente) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

MALM, O.; GUIMARARAES, J.R.D.; CASTRO, M.B.; BASTOS, W.R.; VIANA, J.P.; BRANCHES, F.J.P.; SILVEIRA, E.G.; PFEIFFER, W.C. Follow-up of mercury levels in fish, human hair and urine in the Madeira and Tapajos basins, Amazon, Brazil. **Water, Air, Soil and Pollution**. v. 97, p. 45-51, 1997.

MARINS, R.V.; LACERDA, L.D.; VILLAS BOAS, R.C.; Em Mercury Contamination Sites: Characterization, Risk Assessment and Remediation; Ebinghaus, R.; Turner, R.R.; Lacerda, L.D.; Vasiliev, O.; Salomons, W., eds.; **Springer Verlag: Berlin** 1999, p. 207.

MARQUES, F.A. O mercúrio da época alquímica ao século XXI GQI026. Uberlândia-Faculdade de Ciência Integradas do Portal e Universidade Federal de Uberlândia - FACIP/UFU, **História da Química**. p.1-2, 2009.

MARQUES, J.S.J. ;RANGEL,T.P. ; BRITO, F.P ; CARVALHO, R.S. ; ARAÚJO, B.F. ; SALOMÃO, M.S.M.B. ; ALMEIDA, C.E. Distribuição do mercúrio em águas superficiais ultrafiltradas da Baía de Sepetiba e do estuário do Rio Paraíba do Sul. III congresso brasileiro de oceanografia, UENF.2010.

MENDES, S. G., MERONA, B. ; JURAS A.A. ;JEGU, M. **Peixes do raixo Rio Tocantins : 20 anos depois da usina hidrelétrica Tucuruí.** In : Brasilia : Electronorte, p.60-70.2004.

MEISTER, A. Selective modification of glutathione metabolism. **Science**. v. 7 p. 220, 472-7.1983

MERTENS, F.; JOHANN, S.C B.; MERGLER, D. Social communication network analysis of the role of participatory research in the adoption of new fish consumption behaviors. **Social Science & Medicine**. v. 75 p. 643-650, 2012.

MENDES, R.A.; MASCARENHAS, A.F.S. Níveis de Mercúrio em peixes do Rio Trombetas no Baixo Amazonas: Uma Área sem influencia de garimpo. **Caderno de Saúde Coletiva**. v.13, p. 237-248, 2005.

MICARONI, R. C. C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. F. Compostos de Mercúrio: Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Química Nova**,v. 23 p. 487-495, 2000.

MILAEVA, E.; PETROSVAN, V.; BERBEROVA, N.; PIMENOV, Y.; PELLERITO, L. Organicderivatives of mercury and tin as promoters of membrane lipid peroxidation. Bioinorganic chemistry and applications, **PubMed**. v. 25 p. 69-91,2004

MS - Ministério da Saúde. 1998. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos: Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos. Secretaria de Vigilância Sanitária, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 685 de 27.08.98, DOU de 28.08.1998.

MUNTHE, J.; BODALY, R. A.; BRANFIREUN, B. A.; DRISCOLL, C. T.; GILMOUR, C. C.; HARRIS, R.; HORVAT, M.; LUCOTTE, M.; MALM, O. Recovery of Mercury-Contaminated Fisheries. **Ambio**. v. 36 p. 33-44, 2007.

NASCIMENTO, E.L.; GOMES, J.P.O; ARVALHO, D.P.; LMEIDA, R.; BASTOS, W.R.; MIYAI, K.R. Mercúrio na comunidade planctônica do reservatório da usina hidrelétrica de Samuel (ro), Amazônia Ocidental. **Geochimica Brasiliensis**. v. 23, n.1,p. 101-116, 2009.

NISHIOKU. T.; TAKAI. N.; MIYAMOTO. K.; MURAO, K.; HARA, C.; YAMAMOTO, K.; NAKANISH H. Involvement of caspases 3-like protease in methylmercury-induced apoptosis of primary cultured rat cerebral microglia. **Brain Research**. v 871, p.160-164.2000

OIKAWA, T.; PINHEIRO, M. C. V.; FERREIRA, L. B.; TODA, K. S. Avaliação dos teores de mercúrio na urina dos graduandos de Odontologia. **Revista Paraense de Medicina**. v. 21, p. 25-29, 2007.

PARAQUETI, HHM., et al Caracterização hidroquímica, distribuição e especiação de mercúrio nos estuários dos Rios Ceará e Pacotí, Região Metropolitana de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Geochimica Brasiliensis**.v.16, p.37-48, 2002

PARAQUETI HHM, AYRES GA, ALMEIDA MD, MOLINASI MM, LACERDA LD. Mercury distribution, speciation and fluxe in the Sepetiba Bay, tributaries, SE Brazil. **Water resources**. v 38, p.1439–1448,2004.

PARKS, J. M., GUO, H., MOMANY C., LIANG L., MILLER S., SUMMERS A., SMITH G. Mechanism of Hg-C Protonolysis in the Organomercurial Lyase Mer Chem. **Soc**. v.131, p. 3278-3285, 2009.

PASSOS, C.J., MERGLER, D., GASPAR, E., MORAIS, S., LUCOTT, M., LARRIBE F., DAVIDSON R., GROSBOIS, S. Eating tropical fruit reduces mercury exposure from fish consumption in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**. v.93. p. 123-130.2003

PASSOS, J.S.C.; MERGLER, D.; FLLLION, M.; LEMIRE, M.; MERTENS, F.; GUIMARÃES, J.R.D.; PHILIBERT, A. Epidemiologic confirmation that fruit consumption influence exposure mercury in riparian communities in the Brazilian Amazon. **Environment research** v.105. p.183-193, 2007.

PINHEIRO, M.C.N.; GUIMARÃES, G.A, NAKANISHI, J.; OIKAWA, T., VIEIRA, J.L.; L QUARESMA, M.; CARDOSO, B. AMORAS.W Avaliação da contaminação mercurial mediante análise do teor de Hg total em amostras de cabelo em comunidades ribeirinhas do Tapajós, Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**-v.33.n.2.p.181-184, 2000.

PINHEIRO, M.C.N. **Exposição mercurial e defesas antioxidantes em mulheres ribeirinhas da Amazônia**.2005.150 f.Tese (Doutorado) Programa de pós graduação em Neurociências e Biologia Celular, Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

PINHEIRO, M.C.; MACCHI, B.M.; VIEIRA, J.L.; OIKAWA, T.; AMORAS, W.W.; GUIMARÃES, G. A.; COSTA, C.A.; CRESPO-LÓPEZ, M. E.; HERCULANO, A. M.; SILVEIRA, L. C. L. & NASCIMENTO, J. L. M do. Mercury exposure and antioxidant defenses in women:A comparative study in the Amazon. **Environmental Research**. v.107, p. 53-59. 2008

PINHEIRO, M.C.N.; FARRIPAS, S.S.M.; OIKAWA, T.; COSTA, C.A.; AMORAS, W.W.; VIEIRA, J.L.F.; et al. Temporal Evolution of exposure to mercury in riverside communities in the Tapajós Basin, from 1994 to 2010. **Bull Environ Contam Toxicol** v 89.p.119-24, 2012.

PRIOR, R.L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity:comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n.11/12, p.1173-1181, 1999.

QUEIROZ, M.L.; PENA, S.C.; SALLES, T.S.; CAPITANI, E.M.; SAAD, S.T.O. Abnormal antioxidant system in erythrocytes of mercury-exposed workers. **Human & Experimental Toxicology**, v. 17, p. 225-230, 1998.

RABITTO, I.S. BASTOS, W.R.; ALMEIDA, R.; ANJOS, A. HOLANDA, I.B.B.; GALVÃO,R.C.F.;NETO , F.F.;MENEZES, M.L.M ; SANTOS,C.A.M.; RIBEIRO,C.A.O. Mercury and DDT exposure risk to fish-eating human populations in Amazon. **Environment International** 1, p.56–65, 2011

REBELLO, F.K.; SANTOS, M.A.S.; HOMA, H.K.O..Modernização da agricultura nos municípios do Nordeste Paraense: Determinantes e hierarquização no ano de 2006. **Revista de economia e agronegócios** v.9, 2006.

RISHER, J.F.; AMLER, S.N. Mercury exposure: evaluation and intervention the inappropriate use of chelating agents in the diagnosis and treatment of putative mercury poisoning. **Neurotoxicology**. v. 26, p.691-699.2005.

RODRIGUES, A. R.; SOUZA, C. R. B.; BRAGA, A. M.; RODRIGUES, P. S. S.; SILVEIRA, A. T.; DAMIN, E. T. B.; CORTES, M. I. T.; Castro, A. J. O. ; MELLO, G. A.; VIEIRA, J. L. F.; PINHEIRO, M. C. N.; VENTURA, D. F.; Ventura, D.F.; SILVEIRA, L. C. L. Mercury toxicity in the Amazon: contrast sensitivity and color discrimination of subjects exposed to mercury. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research on line**. v. 40, p. 415-424, 2007

RODRIGUES N.R.A, NUNES M.E.M, SILVA, D.G.C.; ZEMOLIN, A.P.P.; MEINERZ B.D.F.; CRUZ L.C.; PEREIRA, A.B.; ROCHA, J.B.T.; POSSER A, J.L. FRANCO. Is the lobster cockroach *Nauphoeta cinerea* a valuable model for evaluating mercury induced oxidative stress?. **Chemosphere**. v. 92 p.177–1182, 2013.

ROOS, D.H..**O complexo metilmercúrio cistrina altera o acúmulo de mercúrio em diferentes tecidos de camundongos**.2009. 63 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria Rio grande do Sul, 2009.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, A.P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathiona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quim Nova**. v. 24 p. 112-119,2001.

SÁ, A.L.; HERCULANO, M.A.; PINHEIRO, M.C.N.; SILVEIRA, L.C.L.; NASCIMENTO, J.L.M.; CRESPO, M.H.L. Exposição Humana ao Mercúrio na Região Oeste do Estado do Pará. **Revista Paraense de Medicina**. v.20, p. 5-7. 2006

SAMPAIO DA SILVA, D. et al. Trophic structure and bioaccumulation of mercury in fish of three natural lakes of the Brazilian Amazon. **Water, Air, Soil Pollut.** v. 165, p. 77-94, 2005.

SANTANA, G.P Contaminação Por Mercúrio, 2009. Disponível em: <<http://www.cq.ufam.edu.br/Artigos/mercúrio/mercúrio.html>>. Acesso em 13.01.2013.

SANTOS, E.C.O.; JESUS, I. M.; BRABO, E. S.; LOUREIRO, E. C. B.; MASCARENHAS, A.F.; WEIRICH, J.; CÂMARA, V.M. & CLEARLY, D.Mercury exposure in riverside Amazon communities in Pará, Brazil. **Environmental Research**. v. 84, p. 100-107,2000.

SANTOS, E.C.O.; VOLNEY, M.C.; BRABO, E.S.; LOUREIRO, E.C.B.; JESUS, I.M.; FAYAL, K.; SAGICA, F. Avaliação dos níveis de exposicao ao mercúrio entre índios Pakaanova, Amazonia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 19, p. 199-206, 2003.

SANTOS, E.O.; JESUS, I.M.; CÂMARA, V.D.E M.; BRABO, E.D.A.S.; FAYAL, K.F.; ASMUS, C.I. Correlation between blood mercury levels in mothers and newborns in Itaituba, Pará State, Brazil. **Cadernos Saúde Pública** v.23 n. 622- 629, 2007.

SANTOS, G.F.F. **Níveis de peroxidação lipídica em trabalhadores rurais.** In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2007.

SCHURZ, F.; SABATER-VILAR, M.; FINK-GREMMELS, J. Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defense: the role of metal-binding proteins. **Mutagenesis.** v. 15 p. 525-530, 2000.

SIQUEIRA, G.W.; LIMA, W.N.; MENDES, A.S.; APRILE, F.M.; BRAGA, E.S & MAHIQUES, M.M. Evolução do impacto ambiental causado por matéria orgânica, mercúrio e arsênio nos sedimentos de fundo do sistema estuarino de Santos. **Rev. Geog. Brasil.** 2005

SILVA, C. C. Dieta de comunidade de peixes da área de influência da UHE de Balbina- rio Uatumã, Amazonas, Brasil. Dissertação (Mestrado em ciências biomédicas) – Manaus, Instituto Nacional de Pesquisas/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 2006 63p.

SILVA, M.C.F. **Alterações hepáticas a baixas doses de metilmercúrio em macacos prego *cebus apela(linaeus, 1758)*.** 2011. 73 f. Tese (Doutorado) Programa de pós graduação em neurociências e Biologia celular- Universidade Federal do Pará. Belém. 2011.

SILVIA ESPÍN, A.; EMMAMARTÍNEZ-LÓPEZ, A.; JIMÉNEZ, A.P.; PEDRO MARÍA-MOJICA, A.B.; ANTONIO, J.; GARCÍA-FERNÁNDEZ. Effects of heavy metals on biomarkers for oxidative stress in Griffon vulture (*Gyps fulvus*). **Environmental Research** v.129, p.59–68, 2014.

SILVEIRA, L. C.; VENTURA, D.F; PINHEIRO, M.C.N Toxicidade mercurial - Avaliação do sistema visual em indivíduos expostos a níveis tóxicos de mercúrio. **Neurociências/artigo.**

SKERFVING, S.; HANSON, K.; LINOSTEN, J. Chromosome breakage. In humans exposed to methylmercury through fish consumption. **Archives of Environmental Health.** v. 21, p. 133-139, 1970.

SOUZA, J.R.; BARBOSA A.C. Contaminação por mercúrio e o caso da Amazônia. **Química Nova na Escola.** v. 12, p. 3-7, 2000.

SOUZA, M. L.; MENEZES, H. C. Processamentos de amêndoa e torta de castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciênc. Tecnol. Alim.** v. 24, n. 1, p. 120-128, 2004.

STOHS, S.J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free Radical Biology & Medicine.** v.18, p. 321-336, 1995.

SUZUKI, T.; OGRA, Y. Metabolism of selenium and its interaction with mercury: mechanism by speciation study. **Phosphorus, sulfur and silicon.** v.171, p.135-169, 2001.



SWEET, L. I.; ZELIKOFF, J. T. Toxicology and immunotoxicology of mercury: a comparative review in fish and humans. **Journal Toxicol. Environ. Health.** p. 161-205. 2002.

TEKMAN B, OZDEMIR H, SENTURK M & CIFTCI M. Purification and characterization of glutathione reductase from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver and inhibition effects of metal ions on enzyme activity. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C.** v. 148, p. 117-121, 2008.

THOMSON, C. D. et al. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 87, p. 379–384, 2008.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). **Mercury Study Report to Congress. Volume V: Health Effects of Mercury and Mercury Compounds.** EPA-4562/R-97-007. Washington, DC, USA: U.S. EPA, 1997.

VACA, C.E., WILHEM, J., HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. **Mut. Res.** v.195, p.137-149.1988.

VALAVANIDIS, A.; VLAHOGIANNI, T.; DASSENAKIS M & SCOULLOS M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** v. 64, p.178-189,2006.

VALENTINE, J. **Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de estress oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da Amazônia.** 2012, 140 f. Tese (Doutorado) Faculdade de ciências Farmacêuticas – USP, Ribeirão Preto, 2012.

VERA, Y. M.; CARVALHO, R.J; CASTILHOS, Z.C.; KURTZ, M.J.R. Acumulação de Mercúrio em Tucunares da Amazônia. Série Gestão e Planejamento Ambiental. **Ministério da Ciência e Tecnologia – MCT.** p.1-32, 2007.

VERTANIK, A.; PROHIC, E.; KOZAR, S.; JURACIC, M. Behavior of some trace elements in alluvial sediments, zagreb water well fill area, croatia. **Water research.** v. 29. p.237-246. 1995.

VIEIRA J.L., GOMES A.L., SANTOS J.P., LIMA T.C., FREITAS J.A. JR., PINHEIRO M.C. Mercury distribution in organs of two species of fish from Amazon region. **Bull Environ Contam Toxicol.** v. 87 n. 4 p.377-80. 2011

VIEIRA, S.M, ALMEIDA, R. HOLANDA, I.B.BA, MUSSY, MH. GALVAO, R.C.F, CRISPIM, P.T.B.; DOREA, J.G. BASTOS, W.R. Total and methyl-mercury in hair and milk of mothers living in the city of Porto Velho and in villages along the Rio Madeira, Amazon, Brazil. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** v. 216 p.682-689, 2013.

VILHENA, M.P.P.; COSTA, M.L.; BERREDO, J.F.; SÁ, G.C.; COSTA, A.M.; SANTOS, E.O.; BRABO, E.S. Mercúrio em sedimentos de mangues,

cranguejos(*ucides cordatus*) e cabelos humanos em torno dos manguezais do nordeste do Pará. **Geoquímica Brasil**.v.17. n. 2 p. 121-129, 2003.

VIRTANEN, K.J., RISSANEN, T.H., VOUTILAINEN, S., TU; OMAINEN, T.P. Mercury as a risk factor for cardiovascular diseases. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v.18, p. 75–85. 2007.

WASSERMAN, J. C; HACON, S. S. WASSERMAN, M. A. O ciclo do mercúrio no Ambiente amazônico. Mundo e vida vol. 2. 2001

WOLF & BAYNES. Cadmium and mercury cause an oxidative stress-induced endothelial dysfunction. **BioMetals**. v. 20 p. 73–81, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Program in Chemical Safety (IPCS). Environmental Health Criteria 101: Methylmercury. Geneva,Switzerland: WHO, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) & UNEP Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure, Geneva, Switzerland, 2008.

YASUTAKE A., ADACHI T., HIRAYAMA K., INOUE M. Integrity of blood-brain system against methylmercury acute toxicity. **Japan Journal of Toxicology Environmental Health**. v. 37, p. 355-362, 1991

ZALUPS, R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. **Pharmacol. Rev.** v. 52, p. 113-143, 2000.

## ANEXO

NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Estresse Oxidativo e defesas antioxidantes relacionados a exposição ao mercúrio decorrente do consumo de peixes oriundos de diferentes ecossistemas Amazônicos.

**Pesquisador:** Marta da Conceição Nascimento Pinheiro

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 18226313.2.0000.5172

**Instituição Proponente:** Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

**Patrocinador Principal:** CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 334.523

**Data da Relatoria:** 16/07/2013

**Apresentação do Projeto:**

O mecanismo pelo qual o mercúrio exerce a sua toxicidade ainda não está totalmente esclarecido. Admite-se que, mercúrio aumenta a produção de espécies reativas tóxicas de oxigênio, altera as defesas antioxidantes comprometendo principalmente o sistema glutatona. A maioria desses estudos foi realizado em modelos experimentais, e os poucos realizados em humanos deixaram algumas questões a serem respondidas. O objetivo deste estudo é avaliar a influência do consumo de peixe contaminado por mercúrio sobre o estresse oxidativo e as defesas antioxidantes em comunidades dependentes de pescado oriundos de diferentes ecossistemas(rio, estuário e marítimo). O estudo consistirá em levantamento clínico e epidemiológico, em análises toxicológicas de mercúrio e determinação dos níveis de estresse oxidativo e de antioxidantes(GSH /GSSG). Todas as análises laboratoriais serão realizadas pelos laboratórios do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA. A principal contribuição científica e tecnológica resultante deste estudo referees a aplicação de um método na otimização no diagnóstico de alteração em nível bioquímico-celular na exposição ao mercúrio, com vista, a prevenção e controle dos efeitos clínicos causados pelo mercúrio. De outra maneira, este projeto apresenta

um dimensionamento diferenciado na formação de recursos humanos no Estado do Pará preparando massa crítica que atue em diferentes ações(diagnóstico clínico de intoxicação por

**Endereço:** Av. Generalíssimo Deodoro, 02  
**Bairro:** Umarizal **CEP:** 66.055-240  
**UF:** PA **Município:** BELEM  
**Telefone:** (011)3201-8857 **E-mail:** cepbel@ufpa.br

NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 334.523

mercúrio, técnicas e métodos laboratoriais, etc) com efeito multiplicador em áreas de Interesse regional, considerando a participação de diferentes profissionais qualificados e em fase de qualificação no projeto.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

avaliar a influência do consumo de peixe contaminado por mercúrio sobre o estresse oxidativo e as defesas antioxidantes em comunidades dependentes de pescado oriundos de diferentes ecossistemas (rio, estuário e marítimo).

**Objetivo Secundário:**

1- Estimar a quantidade de peixes consumida semanalmente pelas comunidades selecionadas para o estudo, nos dois períodos de coleta 2- Identificar as espécies de peixes mais consumidas nos diferentes períodos sazonais (período de chuva e de seca) 3- Quantificar os níveis de mercúrio total em tecido muscular das espécies mais consumidas pela população de estudo; 4- Quantificar os níveis de mercúrio total em amostras de cabelos na população de estudo; 5- Quantificar os níveis de estresse oxidante (MDA) e de antioxidantes (GSH total, reduzida e oxidada) no sangue da população em estudo. 6- Correlacionar os níveis de mercúrio total encontrado com os níveis de oxidantes e antioxidantes.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Não haverá riscos físicos adicionais decorrentes da coleta de material biológico, pois todos os procedimentos a serem utilizados nesta pesquisa serão 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 serão os procedimentos a serem adotados para minimização dos riscos.

**Benefícios:**

Considera-se como benefícios resultantes deste estudo a possibilidade de identificação de indicadores bioquímicos para o diagnóstico precoce de danos causados pelo mercúrio e conseqüentemente, a prevenção de danos neurológicos irreversíveis àqueles pessoas expostas ao mercúrio através do consumo frequente de peixes contaminados por metilmercúrio.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa está bem estruturada. As populações a serem estudadas estão bem caracterizadas. Riscos e benefícios estão descritos.

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92  
Bairro: Umarizal CEP: 68.055-240  
UF: PA Município: BELEM  
Telefone: (91)3201-6857 E-mail: cepbel@ufpa.br

NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 334.523

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

As documentações obrigatórias foram entregues e as pendências referentes ao TCLE e cronograma foram atendidas.

**Recomendações:**

sem recomendações

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

sem pendências.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

BELEM, 16 de Julho de 2013

---

Assinado por:  
ANDERSON RAIOL RODRIGUES  
(Coordenador)

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 02  
Bairro: Umarizal CEP: 66.055-240  
UF: PA Município: BELEM  
Telefone: (01)3201-6857 E-mail: cepbel@ufpa.br