



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE ESTUDOS EM SAÚDE COLETIVA

IRACINA MAURA DE JESUS

COMPORTAMENTO DE BIOMARCADORES DO METABOLISMO ENERGÉTICO EM
SITUAÇÃO DE EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO NA CIDADE DE MANOEL URBANO,
ESTADO DO ACRE, BRASIL

Rio de Janeiro

2018

IRACINA MAURA DE JESUS

COMPORTAMENTO DE BIOMARCADORES DO METABOLISMO ENERGÉTICO EM
SITUAÇÃO DE EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO NA CIDADE DE MANOEL URBANO,
ESTADO DO ACRE, BRASIL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Saúde Coletiva

Orientador: Prof. Dr. Volney de Magalhães Câmara

Rio de Janeiro

2018

J58

Jesus, Iracina Maura de.

Comportamento de biomarcadores do metabolismo energético em situação de exposição ao mercúrio na cidade de Manoel Urbano, Estado do Acre, Brasil / Iracina Maura de Jesus. – Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, 2018.

102 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Volney de Magalhães Câmara.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, 2018.

Referências: f. 91-102.

1. Mercúrio. 2. Exposição ambiental. 3. Peixes. 4. Lipoproteínas . 5. Insulina. 6. Leptina. I. Câmara, Volney de Magalhães. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva. III. Título.

CDD 615.925663

FOLHA DE APROVAÇÃO

IRACINA MAURA DE JESUS

COMPORTAMENTO DE BIOMARCADORES DO METABOLISMO ENERGÉTICO EM
SITUAÇÃO DE EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO NA CIDADE DE MANOEL URBANO,
ESTADO DO ACRE, BRASIL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Saúde Coletiva

Aprovada em: ____/____/2018

Orientador: Prof. Dr. Volney de Magalhães Câmara
Professor Titular da Faculdade de Medicina do IESC/UFRJ

Membro: Prof. Dr. Edivaldo Herculano Correa de Oliveira
Professor Associado da Universidade Federal do Pará- UFPA

Membro: Prof. Dr. Rosivaldo de Alcântara Mendes
Pesquisador do Instituto Evandro Chagas/SVS-MS e docente do PPGEVS

Prof. Dr. Kleber Raimundo Freitas Faial
Pesquisador do Instituto Evandro Chagas/SVS-MS

Profª Dra. Eliane Brabo de Sousa
Pesquisadora do Instituto Evandro Chagas/SVS-MS

*Aos meus pais David (in memoriam) e Anastácia
Jesus, com amor.*

*O que atenta para o ensino acha o bem, e o que
confia no Senhor, esse é feliz.*

Provérbios: 16:20

AGRADECIMENTOS

A Jesus Cristo, o autor e consumidor da minha fé e esperança.

Aos meus pais, David (*in memoriam*) e Anastácia de Jesus, e aos meus familiares, pelo amor e apoio irrestrito.

Ao Profº Dr. Volney de Magalhães Câmara, pela orientação nessa feliz jornada.

Ao Instituto Evandro Chagas, na pessoa de seu Diretor, Dr. Pedro Fernando Vasconcelos, pelo apoio na realização deste estudo.

A minha amiga e mestra Dra. Elisabeth Conceição de Oliveira Santos, por seus grandes ensinamentos e por tudo que construiu em Saúde Ambiental no IEC.

As Secretarias de Saúde do Estado do Acre e municipais de Manoel Urbano e Abaetetuba, pelo apoio no trabalho de campo.

Ao Dr. Kleber Faial pelo grande apoio no desenvolvimento deste estudo.

Às Senhoras Fátima Moraes e Nadja de Oliveira, da Secretaria do PPG em Saúde Coletiva/IESC/UFRJ pelo carinho e cuidado com os discentes da turma do Pará.

Ao Setor de Mercúrio do Laboratório de Toxicologia/SAMAM-IEC, Dr. Marcelo Lima, MSc. Diomar Cavalcante e Farmacêutico João Góes Pereira, pelo apoio nas análises de mercúrio e metilmercúrio.

Aos técnico(a)s em pesquisa Ritângela Santos, Edna Cabral e Anísio Lima; à MSc. Luciana Melo, MSc. Marluce Moraes, MSc Renato Medeiros, MSc, Cassia Rocha, pelo apoio no trabalho de campo.

A equipe do Laboratório de Biologia Humana/SAMAM-IEC, Dra. Maria Izabel de Jesus, MSc. Renato Medeiros, Farmacêutica Patrícia Almeida, MSc. Aline Colares, técnico(a)s Carlos Nascimento e Vanda Siqueira pelo apoio nas análises de hormônios.

Ao Dr. Arnaldo Martins Filho, da Seção de Patologia do IEC, pelo apoio nas análises de lipoproteínas plasmáticas e glicose.

Ao Assistente de Pesquisa Gilson Braga Monte Filho pelo apoio na organização e tratamento de dados.

Aos colegas da Seção de Meio Ambiente/IEC pelo apoio e companheirismo de todos os momentos: Alexandre Nakano, Olga Neta, Marcella Perotes, Andrea Bembom, Thiago Rocha, Dorotéia Lobato, Lena Sá, Marcos Mota, Fernanda Sagica, Bruno Carneiro, Kelson Faial, Adaelson Medeiros, Samara Pinheiro, Luis Marques, Francisco Arimatéia, Walber Victor, Vanessa Costa, Samara Pinheiro, Sílvia Lacerda, Elivam Vale, Mônia Silva, Lorena Mendes, Denise Santos, Tânia Santos, Auciléia de Paula, Elinelson Silva.

RESUMO

JESUS, Iracina Maura de. **Comportamento de biomarcadores do metabolismo energético em situação de exposição ao mercúrio na cidade de Manoel Urbano, Estado do Acre, Brasil.** Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) – Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Este estudo avaliou os níveis de mercúrio total (Hg-T) e metilmercúrio (MeHg) em residentes da cidade de Manoel Urbano na bacia do rio Purus, estado do Acre e associação com biomarcadores do metabolismo energético. Comparativamente, o estudo incluiu a localidade Beja, no estado do Pará. Foi realizado inquérito epidemiológico com coleta de sangue, cabelo e peixes, para determinação de Hg-T por CVAAS e de MeHg por GC-ECD. Lipoproteínas plasmáticas (colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos) e glicemia foram analisadas por método enzimático automatizado. Insulina e leptina foram analisadas pelo método ELISA. A média geométrica de Hg-T em sangue foi maior em Manoel Urbano ($16,12 \mu\text{g.l}^{-1}$, IC 95% 13,63 a 19,07, $n=254$) em relação a Beja ($4,29 \mu\text{g.l}^{-1}$, IC 95% 3,66 a 5,03, $n=201$) ($p<0,0001$). Os níveis médios de Hg-T em cabelo também se destacaram em Manoel Urbano ($4,22 \mu\text{g.g}^{-1}$, IC 95% 3,57 a 4,99, $n=254$) em comparação a Beja ($0,82 \mu\text{g.g}^{-1}$, IC 95% 0,70 a 0,97, $n=201$) ($p<0,0001$). As médias geométricas de MeHg em Manoel Urbano foram $10,39\pm 3,43 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue ($n=82$) e $5,98\pm 1,97 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo ($n=87$). A média de Hg-T em peixes em Manoel Urbano variou de $1,621\pm 1,389 \mu\text{g.g}^{-1}$ em carnívoros a $0,199\pm 0,070 \mu\text{g.g}^{-1}$ em detritívoros. O teor médio de MeHg em peixes variou de 0,041 a $1,285 \mu\text{g.g}^{-1}$. A exposição ambiental ao mercúrio em Manoel Urbano mostrou-se associada ao consumo de peixe ($p<0,001$), idade ($p<0,001$) e tempo de residência ($p=0,014$ e $p<0,001$ para Hg-T em sangue e cabelo, respectivamente). Os níveis de Hg-T também se associaram positivamente às concentrações de colesterol total ($p=0,009$ para Hg-T em sangue e $p=0,0132$ em cabelo), LDL ($p=0,0303$ para Hg-T em sangue e $p=0,0365$ em cabelo), colesterol não HDL ($p=0,0041$ para Hg-T em sangue e $p=0,0157$ em cabelo), triglicerídeos ($p=0,0175$ para Hg-T em sangue e $p=0,0481$ em cabelo) e leptina ($p=0,0254$ para Hg-T em cabelo), sugerindo possível interação entre a exposição ao mercúrio e o perfil desses biomarcadores.

Palavras-chave: Mercúrio. Exposição. Peixe. Lipoproteínas. Insulina. Leptina.

ABSTRACT

JESUS, Iracina Maura de. **Behavior of energy metabolism biomarkers in a situation of mercury exposure in Manoel Urbano city, Acre State, Brazil.** Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) – Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

This study evaluated total mercury (T-Hg) and methylmercury levels (MeHg) in residents from Manoel Urbano city, Acre state, in the Purus river basin and mercury association with biomarkers of energy metabolism. Comparatively the study included the Beja locality in the state of Pará. An epidemiological survey was performed with blood, hair and fish collection for determination of T-Hg by CVAAS and MeHg by GC-ECD. Serum lipoprotein analyzes (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides) and glycemia were analyzed by automated enzymatic method. Insulin and leptin were analyzed by the ELISA method. Geometric mean of T-Hg in blood was higher in Manoel Urbano ($16.12 \mu\text{g.l}^{-1}$, 95% CI 13.63 a 19.07, n=254) in relation to Beja ($4.29 \mu\text{g.l}^{-1}$, 95% CI 3.66 to 5.03, n=201) ($p<0.0001$). Mean levels of T-Hg in hair also stood out in Manoel Urbano city ($4.22 \mu\text{g.g}^{-1}$, 95% CI 3.57 to 4.99, n=254) compared to Beja ($0.82 \mu\text{g.g}^{-1}$, 95% CI 0.70 to 0.97, n=201) ($p<0.0001$). Geometric mean of MeHg in Manoel Urbano city were $10.39 \pm 3.43 \mu\text{g.l}^{-1}$ in blood (n=82) and $5.98 \pm 1.97 \mu\text{g.g}^{-1}$ in hair (n=87). In this city, T-Hg mean in fish varied from $1.621 \pm 1.389 \mu\text{g.g}^{-1}$ in carnivores to $0.199 \pm 0.070 \mu\text{g.g}^{-1}$ in detritivores and MeHg mean in fish ranged from 0.041 to $1.285 \mu\text{g.g}^{-1}$. Environmental exposure to mercury in Manoel Urbano city was associated with fish consumption ($p<0.001$), age ($p<0.001$) and dwelling time ($p=0.014$ and $p<0.001$ for T-Hg in blood and hair, respectively). T-Hg levels were also positively associated with total cholesterol ($p=0.009$ for T-Hg in blood and $p=0.0132$ in hair), LDL ($p=0.0303$ for T-Hg in blood and $p=0.0365$ in hair), non-HDL cholesterol ($p=0.0041$ for T-Hg in blood and 0.0157 in hair), triglycerides ($p=0.0175$ for T-Hg in blood and $p=0.0481$ in hair) and leptin ($p=0.0254$ for T-Hg in hair), suggesting a possible interaction between the mercury exposure and these biomarkers profile.

Keywords: Mercury. Exposure. Fish. Lipoproteins. Insulin. Leptin.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 01. Localização das áreas de estudo.....	42
Figura 02. Níveis de mercúrio total (Hg) em sangue e cabelo por grupo etário de 0-9 (1), 10-19 (2), 20-59 (3) e 60 ou mais anos (4) de idade em residentes da cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará. As linhas destacam as referências de exposição ao Hg em sangue ($8\mu\text{g/L}^{-1}$) e cabelo ($2\mu\text{g/g}^{-1}$), segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO,1990).....	51

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1. Recuperação analítica de HgT e MeHg em Materiais de Referência Certificado (MRC's).....	45
Tabela 2. Níveis de Hg total em sangue $\mu\text{g.l}^{-1}$ segundo características demográficas, tempo de residência e consumo de peixe em residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012.....	49
Tabela 3. Níveis de Hg total em cabelo $\mu\text{g.g}^{-1}$ segundo características demográficas, tempo de residência e consumo de peixe em residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012.....	50
Tabela 4. Concentração de Hg total em sangue $\mu\text{g.l}^{-1}$ segundo ocupação e nível de educação de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012.....	52
Tabela 5. Concentração de Hg total em cabelo $\mu\text{g/g}^{-1}$ segundo ocupação e nível de educação de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012.....	53
Tabela 6. Níveis de MeHg em sangue e cabelo segundo grupo etário e gênero de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre, Brasil, 2012.....	54
Tabela 7. Níveis de mercúrio total e metilmercúrio em peixes do rio Purus, município de Manoel Urbano, estado do Acre Brasil, 2012.....	55

Artigo 2

Tabela 1. Características epidemiológicas e metabólicas dos participantes do estudo.....	72
Tabela 2. Média geométrica e intervalo de confiança (IC 95%) dos níveis de mercúrio em relação aos parâmetros epidemiológicos e metabólicos dos participantes do estudo.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-ECD	Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons
C-NHDL	Colesterol não HDL
CT	Colesterol total
CVAAS	Espectrometria de absorção atômica por vapor frio
DOLT	Material de referência certificado (fígado de peixe cachorro)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra acético
ELISA	Enzimaimunoensaio
H ₂ O	Água
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HClO ₄	Ácido perclórico
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>high density lipoprotein</i>)
Hg	Mercúrio
HgCl ₂	Cloreto de mercúrio
Hg-T	Mercúrio total
HNO ₃	Ácido nítrico
IAEA	Agência Internacional de Energia Atômica
IMC	Índice de massa corpórea
KOH	Hidróxido de potássio
LDI	Lipoproteína de densidade intermediária (<i>intermedium density lipoprotein</i>)
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>low density lipoprotein</i>)
MeHg	Metilmercúrio
mg	Miligrama
ml	Mililitro
MRC	Material de referência certificado
ng/mg	Nanograma/miligrama
NHDL-C	Colesterol não HDL
SNC	Sistema nervoso central
TG	Triglicerídeos
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade (<i>very low density lipoprotein</i>)
µg.g	Micrograma por grama
µg.l	Micrograma por litro

SUMÁRIO

	APRESENTAÇÃO	11
1	INTRODUÇÃO	13
1.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO MERCÚRIO E A CONVENÇÃO DE MINAMATA	13
1.2	USO DO MERCÚRIO NA MINERAÇÃO DE OURO	14
1.3	EXPOSIÇÃO HUMANA AO MERCÚRIO E SEUS COMPOSTOS	15
1.4	TOXICOLOGIA DO MERCÚRIO E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA INTOXICAÇÃO	17
1.5	LEPTINA E O METABOLISMO ENERGÉTICO	21
1.6	INSULINA E O METABOLISMO ENERGÉTICO	22
1.7	LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS	24
1.8	INTERAÇÃO DA INSULINA E LEPTINA NA REGULAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO	26
1.9	EFEITOS DO MERCÚRIO NO SISTEMA ENERGÉTICO	28
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3	MÉTODOS E CASUÍSTICA	32
3.1	CARACTERIZAÇÃO DAS LOCALIDADES DE ESTUDO	32
3.2	DESCRIÇÃO DO ESTUDO	32
3.3	ASPECTOS ÉTICOS	33
3.4	PROCEDIMENTOS DE CAMPO	33
3.5	ANÁLISES LABORATORIAIS	34
3.5.1	 Mercúrio total e metilmercúrio	34
3.5.2	 Hormônios, lipoproteínas plasmáticas e glicemia	35
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
4	RESULTADOS	37
4.1	ARTIGO 1	37
4.2	ARTIGO 2	64
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
	REFERÊNCIAS	90

APRESENTAÇÃO

Os processos naturais e antropogênicos representam as fontes de mercúrio na Amazônia e os níveis de mercúrio em indivíduos de áreas afetadas por essas fontes podem superar valores de referência para tolerância biológica ao agente tóxico. Contudo, algumas áreas sem fontes antropogênicas apresentam populações com teores de mercúrio acima do limite de referência para não expostos. Um estudo preliminar do Instituto Evandro Chagas na primeira metade da década de 2000 chamou a atenção para a ocorrência de exposição ao mercúrio em cidades do estado do Acre (SANTOS *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2006). Como não existem fontes antropogênicas de grande impacto como a mineração de ouro no estado do Acre, considerou-se a possibilidade de exposição ambiental ao metilmercúrio. A toxicidade desse composto para o Sistema Nervoso Central é uma das ações deletérias do mercúrio mais conhecidas, no entanto outros sistemas podem ser severamente afetados pelos compostos derivados desse elemento. Assim, este estudo se propôs avaliar possíveis alterações no padrão secretório de biomarcadores do metabolismo energético em residentes na cidade de Manoel Urbano, estado do Acre e sua associação com os níveis de exposição ao mercúrio. Esse conhecimento é útil para a vigilância ambiental em saúde. Em termos comparativos o estudo também foi desenvolvido na localidade Vila de Beja, município de Abaetetuba Pará, com padrão semelhante de consumo de peixe e sem exposição a fonte antropogênica conhecida de mercúrio. Neste contexto, esta tese de doutoramento está dividida em cinco capítulos, especificados em seguida.

Introdução

Descreve de forma geral as características e utilização do mercúrio, o seu uso na mineração de ouro e como ocorre a exposição humana às diversas formas químicas do mercúrio. A toxicologia e as características clínicas da intoxicação pelos compostos mercuriais também são destacadas. São descritas ainda as características dos hormônios leptina e insulina e sua importância no controle energético do organismo, bem como o papel das lipoproteínas plasmáticas nesse contexto. Aborda a possível interação entre a exposição ao mercúrio e o perfil secretório de biomarcadores do metabolismo energético, explicitando a motivação do estudo nas áreas selecionadas.

Objetivos

Apresenta o objetivo principal do estudo e detalha os objetivos específicos que se propõe alcançar.

Métodos e casuística

Descreve as características, geográficas e sócio-econômicas das áreas a serem estudadas que são a cidade de Manoel Urbano, estado do Acre e a comunidade Vila do Beja, município de Abaetetuba, estado do Pará. Apresenta a metodologia utilizada no desenvolvimento da tese em relação ao estudo epidemiológico e clínico e na análise dos biomarcadores utilizados.

Resultados

Os resultados estão apresentados em 02 artigos científicos, conforme especificado a seguir.

Artigo 1: Possibilidades naturais e antropogênicas da exposição ao mercúrio na bacia do rio Purus, Estado do Acre, Brasil

Artigo 2: Associação de biomarcadores do metabolismo energético e a exposição ao mercúrio na Amazônia ocidental brasileira

Considerações finais

Destaca os principais achados do estudo, indicando a contribuição do mesmo para a vigilância em saúde de populações com exposição ambiental ao mercúrio.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO MERCÚRIO E A CONVENÇÃO DE MINAMATA

O mercúrio (Hg) é um elemento químico presente na crosta terrestre e sua ocorrência em minérios está principalmente relacionada aos depósitos de cinábrio (sulfeto de mercúrio ou HgS), podendo ser encontrado nas rochas também na forma elementar, com sua característica peculiar de ser o único metal líquido em temperatura ambiente (UNEP, 2013). Além do mercúrio elementar em estado líquido ou gasoso, existem ainda os compostos inorgânicos de mercúrio tais como o cloreto de mercúrio, cloreto mercurioso, acetato de mercúrio e sulfeto de mercúrio (WHO, 2003).

Os compostos orgânicos incluem principalmente o metilmercúrio, etilmercúrio e fenilmercúrio. O mercúrio pode ser transportado pela água e pelo ar e é liberado na atmosfera durante processos naturais como a atividade vulcânica, movimentos dos corpos d'água, queima da biomassa, erosão dos solos e processos biológicos (POULIN; GIBB, 2008). As atividades antropogênicas como os processos minerários, produção industrial de cloro-álcalis, queima de combustíveis fósseis, produção de cimento e a incineração de resíduos químicos, hospitalares e municipais são também grandes fontes de liberação de mercúrio para o ambiente. As intempéries e as emissões naturais e antropogênicas alimentam o ciclo global do mercúrio (UNEP, 2013; POULIN; GIBB, 2008; GONZALEZ-RAYMAT *et al.*, 2017).

As características químicas do mercúrio tais como a alta pressão de vapor, boa condutividade metálica, baixa resistividade elétrica e as diversas formas de apresentação de seus compostos favorecem sua aplicabilidade na indústria como componente na produção de baterias, termômetros, barômetros, lâmpadas e interruptores, dentre outros produtos (WHO, 2003; MARTINEZ-FINLEY; ASCHNER, 2014). Em aplicações relacionadas à saúde, os sais de mercúrio estão presentes em laxantes, cosméticos, diuréticos e antissépticos. As formas orgânicas estão presentes em inseticidas, fungicidas e conservantes de vacinas, soluções nasais e oftálmicas (CLARKSON *et al.*, 2003; BJØRKLUND *et al.*, 2017).

A presença do mercúrio e seus compostos em produtos e processos na sociedade humana e interações com o ambiente são abordados na Convenção de Minamata, um tratado internacional que visa proteger a saúde humana e o ambiente das consequências danosas das emissões antropogênicas e liberação de mercúrio e seus compostos. A Convenção conferiu maior evidência aos impactos do mercúrio como poluente global e foi assinada por 127 países e a União Européia em 2013 em Kumamoto, Japão, entrando em vigor em 16 de agosto de

2017, quando já havia sido ratificada por 50 países. A primeira Conferência das Partes – COP 1 foi realizada em setembro de 2017 em Genebra, Suíça. Os aspectos de saúde estão inseridos no capítulo 16 da Convenção, embora haja transversalidade com o tema saúde em outros capítulos (UNEP, 2017a; SELIN *et al.*, 2018).

A Convenção de Minamata foi fundamentada em extenso conhecimento científico produzido mundialmente sobre o mercúrio e o esforço das políticas nacionais e internacionais de manejo dos riscos do mercúrio para o ambiente e as populações, sendo que vários países vem desenvolvendo esforços conjuntos nesse sentido desde a década de 1970. O Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) estabeleceu parcerias para reduzir o uso e liberação de mercúrio, ressaltando riscos para a saúde humana e ambiental, desde o início da década de 2000. No entanto, o fato do mercúrio ser um elemento químico extraído da natureza para uso em processos e produtos industriais, sendo emitido e liberado no ambiente como um subproduto de atividades antropogênicas, indica a complexidade do processo de implementação da Convenção (SELIN *et al.*, 2018).

1.2 USO DO MERCÚRIO NA MINERAÇÃO DE OURO

Em termos globais, a mineração artesanal de ouro de pequena escala representa a atividade econômica que utiliza atualmente maior quantidade de mercúrio, o qual é lançado para o ambiente em várias etapas do processo. Com seus métodos e tecnologias simples, esta forma de mineração está concentrada principalmente em países da Ásia, África e América do Sul e apresenta aumento progressivo conforme o preço do ouro se eleva no mercado financeiro (UNEP, 2017b). Apesar de prevalecer nessas regiões, acima de 70 países no mundo praticam esse processo, envolvendo cerca de 10 a 15 milhões de trabalhadores. Esse processo de extração de ouro é contextualizado por fatores sócio-econômicos, ambientais e de saúde, de natureza complexa e variável, possuindo características e peculiaridades em cada país (WHO, 2016). Apesar disso, identificam-se seis etapas básicas nesse processo que são: extração, processamento do minério, concentração, amalgamação, queima e requeima ou refinamento do ouro.

Na extração, o ouro é retirado de depósitos aluvionares dos sedimentos dos rios por dragagem ou extraído do solo e das rochas por escavação de superfície ou construção de túneis. O processamento objetiva separar o ouro de outros minerais com métodos que variam de acordo com o tipo de depósito, sendo que o ouro aluvionar é mais facilmente separado que o ouro proveniente de rochas, que exige tratamento mecânico mais intenso com esmagamento

e moagem. Na fase de concentração vários métodos como o uso de centrífugas e mesas vibratórias, dentre outros, podem concentrar e liberar o ouro utilizando a gravidade para favorecer o processo, uma vez que a densidade do ouro é geralmente maior que a de outros componentes do minério (UNEP, 2012; WHO, 2016).

A fase de amalgamação utiliza o mercúrio metálico para formar o amálgama ouro-mercúrio. Esse processo pode adicionar o mercúrio ao minério sem grande pré-tratamento de fragmentação ou concentração, usando maior quantidade de mercúrio, sendo ineficiente na obtenção do ouro e produzindo maior resíduo, o que levou a Convenção de Minamata a estabelecer um tópico para esse assunto (Anexo C), objetivando sua eliminação. A amalgamação pode ocorrer também com a adição de mercúrio sobre o concentrado de minério, material em menor quantidade que resultou da etapa de concentração, com recuperação do excesso de mercúrio (WHO, 2016). O objetivo da etapa de queima do amálgama é separar o ouro do mercúrio pela volatilização deste último, que é lançado na atmosfera durante a queima em ambiente aberto, contribuindo para a carga ambiental de mercúrio. Em vista disso, o anexo C da Convenção de Minamata também enfatiza a eliminação deste processo. A requeima ou refinamento do ouro é realizada visando remover as impurezas residuais (UNEP, 2015; WHO, 2016).

Na Amazônia, o processo de mineração de pequena escala, com exploração de depósitos secundários em terra firme ou nos leitos de rios foram bem descritos por Pfeiffer e Lacerda (1988) e Lodenius e Malm (1998), em que estes autores destacaram o processo de amalgamação do material extraído nos garimpos de balsa e baixão e o lançamento de resíduos no solo, ou nos corpos hídricos. Nesse processo é utilizado um sistema de caixas forradas com carpete onde se lança o mercúrio sobre o material obtido do desmonte hidráulico do solo ou do fundo dos rios, com a finalidade de concentrar o ouro na etapa prévia a amalgamação (CASTILHOS *et al.*, 2015). Os vapores de Hg lançados na atmosfera pela queima do amálgama precipitam-se com as chuvas, alcançando rios, solos e vegetação (LACERDA; SALOMONS; 1992). A requeima do amálgama também expõe trabalhadores e residentes em núcleos rurais ou urbanos ao vapor de mercúrio (SILVA, 1995; CÂMARA *et al.*, 1997; DE JESUS *et al.*, 2001).

1.3 EXPOSIÇÃO HUMANA AO MERCÚRIO E SEUS COMPOSTOS

A população em geral pode ter contato com o mercúrio e seus compostos de várias maneiras. Essa exposição pode ocorrer pelo contato com produtos contendo mercúrio, contato

com solo ou ar contaminado, ingestão de alimento e água contendo compostos de mercúrio, uso de amálgama dentário e de produtos cosméticos e ainda o uso do mercúrio em atividade folclórica ou religiosa (POULIN; GIBB, 2008). No caso do mercúrio elementar e compostos inorgânicos, destaca-se a exposição ocupacional na mineração e indústria. No entanto, pode ocorrer a exposição ambiental em caso de contato com o mercúrio líquido pela quebra de dispositivos como termômetros, barômetros, esfigmomanômetros e lâmpadas. O amálgama dental constituído de limalha de prata e mercúrio nas restaurações dentárias é considerado uma fonte de exposição da população ao vapor de mercúrio. A ingestão de peixes de topo da cadeia trófica e mamíferos também pode contribuir para a exposição ao mercúrio inorgânico (WHO, 2003).

A exposição ao mercúrio orgânico, sendo o metilmercúrio (MeHg) o principal composto, está relacionada a ingestão de alimentos contendo essa forma de mercúrio. Na cidade de Minamata, Japão, foi descoberta na década de 1950 uma síndrome neurológica posteriormente conhecida como doença de Minamata, decorrente da intoxicação de milhares de pessoas por metilmercúrio devido a ingestão de peixes e frutos do mar contaminados (EKINO *et al.*, 2007). O composto foi lançado por décadas na baía de Minamata por uma indústria que produzia acetaldeído utilizando sulfato de mercúrio como catalisador, gerando metilmercúrio como sub-produto da reação. Devido a exposição de mulheres durante a gravidez ocorreram muitos casos de doença de Minamata congênita, evidenciando os efeitos teratogênicos do mercúrio (EKINO *et al.*, 2007; ETO *et al.*, 2010; HA *et al.*, 2016). No Iraque também ocorreu a intoxicação de mais de 6 mil pessoas na década de 1970 pelo consumo de pão produzido com sementes de trigo e cevada tratadas com fungicida mercurial orgânico contendo metilmercúrio (BAKIR *et al.*, 1980).

Nos ecossistemas aquáticos, o mercúrio orgânico sofre processos que levam a absorção e acumulação do composto pelos organismos, processo denominado de bioacumulação, havendo ainda o aumento da concentração do mesmo ao longo da cadeia alimentar, que é a biomagnificação. Assim, o mercúrio orgânico atinge os níveis tróficos mais elevados em concentrações cada vez maiores, tornando-se disponível para as populações humanas (WHO, 1990; QUÉDRAOGO *et al.*, 2015). A concentração de referência no Brasil para mercúrio em peixes predadores é de $1,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ (parte por milhão) e de $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ para as espécies não predadoras (BRASIL, 2013). Padrões internacionais consideram $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ como limite de referência principal (WHO, 1990).

Nas últimas décadas, diversos estudos tem demonstrado que comunidades consumidoras de peixes na Amazônia têm apresentado níveis de mercúrio de magnitude

elevada em função da dependência dessa fonte alimentar para subsistência (BOISCHIO; CERNICHIARI, 1998; FAIAL *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007; PINHEIRO *et al.*, 2007; MALM *et al.*, 2010). Nessas comunidades, grupos vulneráveis como as crianças também estão submetidos a níveis de exposição acima dos limites de referência (MARINHO *et al.*, 2014). Alguns autores ressaltam a possível contribuição de vacinas para a exposição de crianças ao mercúrio, por conterem preservantes com mercúrio orgânico, porém os estudos apresentam resultados controversos (MARQUES *et al.*, 2016). Em locais distantes das áreas de mineração também podem ser encontrados grupos expostos ao mercúrio orgânico (SANTOS *et al.*, 2002; 2005).

1.4 TOXICOLOGIA DO MERCÚRIO E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA INTOXICAÇÃO

O processo de absorção, transporte, acumulação e eliminação do mercúrio no organismo sofre influência da sua forma química. As vias respiratória, digestiva, ocular e cutânea possuem importância diferenciada em relação à absorção do mercúrio. Para as formas elementar e inorgânica, a via respiratória é a mais relevante sendo que na exposição ao vapor de mercúrio acima de 80% dos vapores inalados penetram na corrente sanguínea. O mercúrio elementar possui alto poder de penetração nos tecidos e tende a se acumular no sistema nervoso central e nos rins, porém o mercúrio inorgânico, geralmente na forma de sais, possui baixa lipossolubilidade e se deposita nos rins e no fígado (MARTINEZ-FINLEY; ASCHNER, 2014).

A absorção do mercúrio orgânico de fontes alimentares ocorre pelo intestino em quantidade que pode superar 90% do MeHg ingerido. No fígado, esse composto forma complexos do grupo tiol (-SH) com proteínas e aminoácidos como a glutatona e cisteína (CLARKSON; MAGOS, 2006). O mercúrio orgânico se distribui pelo organismo de maneira mais uniforme que o mercúrio inorgânico, depositando-se principalmente no cérebro, fígado e rins, podendo se depositar também no epitélio da tireóide, células medulares das glândulas adrenais, dentre outros tecidos. Em torno de 10% do mercúrio orgânico ingerido a partir do peixe deposita-se no cérebro. (USEPA, 1997; CLARKSON, 2002).

O MeHg é reabsorvido pela circulação enterohepática, sendo incorporado na bile e secretado no intestino de forma cíclica. No caso do etilmercúrio, devido ao tamanho da cadeia orgânica, este é mais facilmente metabolizado para íon mercuroso (Hg^{2+}) e tende a se acumular nos rins. Os grupos tiol, presentes em proteínas como metalotioneína e glutatona e

grupos selenol (-SeH), presentes em proteínas como glutathiona-peroxidase e selenoproteína P, atuam primariamente no transporte do mercúrio no organismo e entre as células, pela afinidade do mercúrio por esses grupos, especialmente pelo grupo selenol. A formação de um complexo do metilmercúrio com a L-cisteína, que apresenta estrutura semelhante ao aminoácido L-metionina, facilitaria o transporte para os tecidos (MARTINEZ-FINLEY; ASCHNER, 2014; CLARKSON; VYAS; BALLATORI, 2007).

O transporte plasmático de mais de 90% do MeHg e íon mercurioso (Hg^{2+}) ocorre por meio da albumina sérica e hemoglobina, utilizando resíduos de cisteína. A concentração de mercúrio orgânico nos eritrócitos é cerca de 20 vezes a concentração no plasma e acima de 90% do mercúrio presente nessas células está na forma metilada. O Hg elementar também é transportado pelas hemácias e tanto nestas quanto nos tecidos esse Hg sofre oxidação (Hg^{2+}) e se fixa às proteínas. A quantificação dos níveis de mercúrio em sangue representa uma avaliação de exposição recente. A excreção sistêmica do MeHg e Hg^{2+} através do fígado, rins e efluxo celular de MeHg dos astrócitos é facilitada pela formação de complexos de mercúrio com a glutathiona (CLARKSON, 2002; WHO, 2003; MARTINEZ-FINLEY; ASCHNER, 2014).

O metilmercúrio ultrapassa mais facilmente as barreiras hematoencefálica e placentária do que os outros compostos de mercúrio, acumulando-se em maior quantidade no cérebro de fetos em relação às concentrações maternas, como observado em estudos experimentais (HONG; KIM; LEE, 2012). Em populações humanas, os níveis de mercúrio em sangue de cordão umbilical também tem se mostrado maiores que as concentrações em sangue materno (SANTOS *et al.*, 2007; SAKAMOTO *et al.*, 2016). Apesar da habilidade do MeHg em atravessar a barreira placentária, o mercúrio inorgânico alcança mais facilmente a glândula mamária, sendo detectado no leite materno (HONG; KIM; LEE, 2012).

Os sais inorgânicos de mercúrio não tem facilidade de atravessar as barreiras orgânicas por não serem lipossolúveis, no entanto o mercúrio elementar pode atravessar essas barreiras, inclusive membranas celulares e de organelas por sua lipossolubilidade. Quando absorvido, o pouco tempo de permanência do mercúrio na forma elementar, antes de ser oxidado para a forma iônica, é suficiente para que atravesse a barreira hemoatoencefálica, sofra oxidação e se acumule no cérebro (CLARKSON; MAGOS, 2006). O Hg elementar também pode alcançar o sistema nervoso central utilizando a via olfatória, penetrando pela mucosa e tecido conectivo da cavidade nasal e sendo transportado pelas células nervosas do sistema olfatório até alcançar o cérebro. Os sais inorgânicos de mercúrio e a forma elementar são excretados principalmente pelas fezes e urina, sendo que pequenas quantidades do mercúrio elementar

inalado pode ser eliminado pela respiração, suor e saliva. Esses compostos possuem meia vida biológica estimada em cerca de 60 dias e 30 a 60 dias, respectivamente. Assim, a urina é a matriz preferencial para análise de mercúrio em caso de exposição recente ou crônica (que ainda se mantém) ao mercúrio elementar ou inorgânico (WHO, 2003; PARK; ZHENG, 2012)

O mercúrio orgânico é também excretado pelas fezes e em menor quantidade, pela urina, sendo que a eliminação lenta e a acumulação do metilmercúrio estão relacionadas ao ciclo enterohepático do composto e seu retorno para a corrente sanguínea, mencionado anteriormente. Como o mercúrio também pode se depositar no cabelo, este material é considerado um indicador biológico de exposição ambiental ao mercúrio orgânico, podendo oferecer a possibilidade de monitoramento dessa exposição, pela medida das concentrações do mercúrio ao longo do comprimento dos fios. A velocidade de excreção está associada à espécie e é dose-dependente. A meia-vida biológica estimada do MeHg é em média 70 dias (WHO, 1991; CLARKSON *et al.*, 2003; HONG; KIM; LEE, 2012).

Os compostos inorgânicos de mercúrio de maior solubilidade em água são em geral mais tóxicos que os menos hidrossolúveis. A exposição aos sais inorgânicos de mercúrio por via oral produz efeitos agudos que podem ser fatais, pois são corrosivos e aumentam a permeabilidade e absorção intestinal. Exposição a altas doses causa dor torácica em queimação, escurecimento da mucosa oral e sintomas gastrointestinais severos pelo dano corrosivo ao trato digestivo, além de estomatite e injúria renal. Em contato com a pele e anexos pode causar dermatite, descoloração de unhas, corrosão de membranas mucosas e queimaduras corrosivas. Cronicamente, a intoxicação por mercúrio inorgânico é incomum e ocorre com sais puros, sendo o rim o órgão alvo, principalmente os túbulos contorcidos proximais. Em decorrência disso, os sintomas clínicos incluem poliúria e proteinúria, levando a síndrome nefrítica com hematúria e anúria nos casos graves (PARK; ZHENG, 2012).

Crianças expostas a produtos para a dentição contendo calomelano (cloreto mercuroso) apresentaram acrodinia (também chamada de doença do bebê rosa ou “Pink disease”), tumefação e rubor das mãos e dos pés, descamação e sensibilidade dolorosa ao toque, erupção em corpo e membros, sudorese profusa, anorexia, fadiga, apatia, perda de peso, irritabilidade, fotofobia e polidipsia. Havendo a exposição a compostos inorgânicos de mercúrio em produtos de pintura ou exposição a mercúrio metálico em acidentes com quebras de termômetro ou contato com resíduos de mercúrio em carpetes também pode ocorrer acrodinia em crianças (WHO, 2010; CLARKSON; MAGOS, 2006; BOSE-O'REILLY *et al.*, 2010).

A exposição aguda ao mercúrio elementar como vapor produz danos aos pulmões, pneumonite química, dispneia, febre, hipóxia, tremor, parestesia, perda de memória, hiperexcitabilidade, eretismo, reflexos lentos e pode ser de alta gravidade. A ingestão do mercúrio elementar não tem efeitos graves por haver pouca absorção no trato gastrointestinal (menor que 0,01%), no entanto o contato com a pele pode produzir dermatite. A exposição crônica ao vapor de mercúrio atinge principalmente o sistema nervoso central e os rins, destacando-se sinais e sintomas como tremor (manifestação precoce de tremor intencional ou em repouso), dificuldade de marcha, perda de concentração e de memória, irritabilidade, parestesia, insônia, fala trêmula, visão turva, diminuição da condução nervosa, neuropatia periférica, eretismo, alterações sensoriais, proteinúria e síndrome nefrótica. Os efeitos renais também se devem a reações de hipersensibilidade e formação de imunocomplexos, podendo levar a perda da função renal (WHO,1991; 2003; PARK; ZHENG, 2012).

O quadro de psicose orgânica denominado de eretismo, causado pela intoxicação inclui timidez excessiva, desconfiança, irritabilidade, hiperatividade mental, perda de memória, nervosismo, dificuldade de concentração, depressão, sonolência, delírio e alucinação. Distúrbios orais incluem gengivite, estomatite e salivação. A desregulação imunológica com o desenvolvimento de alergia e autoimunidade tem sido relacionada a exposição ao mercúrio elementar (GRAEME; POLLOCK, 1998; CLARKSON, 2003; PARK; ZHENG, 2012).

A atração do mercúrio orgânico pelo SNC faz com que este sistema seja o alvo principal das manifestações da intoxicação causada pelo metilmercúrio. A sintomatologia classicamente descrita nos casos de doença de Minamata incluiu como principais alterações o distúrbio da marcha, perda do equilíbrio (ataxia cerebelar), distúrbio da fala (disartria), distúrbio da visão periférica (constricção do campo visual), fraqueza muscular, câimbra muscular (distúrbio de movimento), distúrbio de audição e distúrbio da sensação de dor, toque ou temperatura (alterações sensoriais) e desordens psiquiátricas. Nos casos de doença de Minamata congênita foram observados alterações neuropsicomotoras, distúrbio de personalidade, crises epilépticas e outros distúrbios neurológicos. A sintomatologia relacionou-se às diversas áreas afetadas no cérebro em desenvolvimento, havendo casos de paralisia cerebral e mutismo acinético (EKINO *et al.*, 2007; ETO *et al.*, 2010; HA, 2016).

Os efeitos adversos estão relacionados aos níveis de metilmercúrio, tempo de exposição e concentrações presentes nos órgãos afetados (WHO, 1990). Na exposição crônica ao metilmercúrio, os distúrbios somatosensoriais se destacam com a presença de neuropatia periférica (parestesia em luva e bota) e alterações sensoriais principalmente em região perioral

e membros. Pode ocorrer ataxia cerebelar e alterações de reflexos (EKINO *et al.*, 2007). A associação da exposição ao metilmercúrio com alterações imunológicas e cardiovasculares tem sido avaliada em estudos experimentais e epidemiológicos, os quais têm indicado possíveis efeitos adversos nos referidos sistemas, embora com resultados controversos, sobretudo em relação aos estudos populacionais (SILBERGELD *et al.*, 2005; GARDNER *et al.*, 2010; NYLAND *et al.*, 2011; KARAGAS *et al.*, 2012, CROWE *et al.*, 2016). Lee *et al.* (2017), avaliou os impactos da exposição ao mercúrio nas funções hepáticas e encontrou alteração na produção das enzimas transaminases, com aumento dos riscos de mal funcionamento do órgão quando o etilismo também estava presente. Fatores epidemiológicos como tabagismo tem mostrado uma associação positiva com acumulação de mercúrio em pessoas assintomáticas (HONG *et al.*, 2013).

1.5 LEPTINA E O METABOLISMO ENERGÉTICO

O hormônio proteico leptina possui 167 aminoácidos e foi descoberto a partir de estudos experimentais sobre obesidade em duas cepas de camundongo (*ob/ob* e *db/db*) em que se verificou que a cepa *ob/ob* perdia peso quando em contato com o sangue da cepa *db/db*, evidenciando resposta neural a algum fator circulante presente no tecido adiposo daquela cepa. O gene deste fator foi clonado em 1994 e foi denominado proteína ob ou leptina (alusão ao termo grego *leptos* que significa magro). O gene da leptina humana apresenta uma homologia de 84% em relação ao gene de camundongo (NEGRÃO; LICÍNIO, 2000; KELESIDIS *et al.*, 2010). A leptina é produzida em maior quantidade no tecido adiposo branco e em menor quantidade no tecido adiposo marrom, estômago e placenta. Já foram encontrados receptores em outros órgãos como pâncreas e rins. Existem cinco variantes de receptores da leptina (Ob-Ra/e), contudo apenas um receptor da família das citocinas (Ob-Rb forma longa) transmite o sinal de ligação intracelular da leptina por possuir um domínio intracelular. Após a ligação deste receptor com a leptina ocorre ativação da via de sinalização celular JAK-STAT3 (TOUW *et al.*, 2000).

A leptina está relacionada ao metabolismo energético e de reservas lipídicas do organismo, possuindo receptores específicos nos núcleos hipotalâmicos moduladores da ingestão alimentar e controle do gasto energético (núcleo arqueado, ventro medial e dorso medial). Este hormônio sinaliza o estado nutricional do indivíduo e a sensação de saciedade, induzindo fatores anorexígenos (diminuindo a ingestão de alimento) e suprimindo fatores orexígenos (aumentando o consumo de energia). Em vista do seu papel no controle

metabólico do organismo, os seus níveis séricos se relacionam com a massa de tecido adiposo corporal e também com medidas indiretas de gordura, como o índice de massa corpórea (IMC). A leptina é secretada com padrão pulsátil no decorrer do dia, porém o aumento de produção ocorre durante a noite (DARDENO *et al.*, 2010; ABELLA *et al.*, 2017). No entanto, a flutuação dos níveis desse hormônio em relação ao ritmo circadiano pode também não ser evidente (KIM *et al.*, 2015).

A relação da leptina com o sistema nervoso central ocorre na forma de uma retroalimentação negativa da quantidade de tecido adiposo no organismo (MAFFEI *et al.*, 1995). Uma mutação no gene do receptor Ob-Rb pode causar obesidade mórbida também em humanos (NEGRÃO; LICÍNIO, 2000). A leptina é considerada um hormônio-citocina e seu papel vai além do controle do apetite, atuando na regulação da massa óssea, funções reprodutivas, secreção da insulina, doença cardiovascular e hipertensão arterial, nestes dois últimos casos, especialmente em mulheres (DUANDUAN *et al.*, 2009). Atualmente, a leptina é considerada um hormônio de ligação entre os sistemas neuroendócrino e imunológico e exerce efeito modulatório em quase todas as células do sistema imune, por mecanismos que ainda estão sendo elucidados (ABELLA *et al.*, 2017). A ação de compostos mercuriais sobre a produção de leptina nos adipócitos mostrou diminuição dos níveis de leptina em estudos experimentais (KAWAKAMI *et al.*, 2012).

A leptina é considerada uma adipocina (biomolécula do tecido adiposo) pró-inflamatória que favorece a inflamação em casos de obesidade ou sobrepeso. Além da ingestão alimentar e da ação de outros hormônios, a síntese de leptina depende dos níveis energéticos do organismo, hormônios sexuais que podem suprimir (testosterona) ou aumentar a síntese (estrógeno e progesterona) e mediadores inflamatórios como as citocinas pró-inflamatórias, que podem aumentar ou diminuir a síntese em estados agudos ou crônicos. No sistema imunológico, a leptina atua na modulação da resposta imune inata e adaptativa e está envolvida na patofisiologia de diversas doenças reumáticas como osteoartrite e artrite reumatoide (ABELLA *et al.*, 2017). Níveis séricos de leptina elevados podem estar associados com hipertensão arterial sistêmica, resistência à insulina, dislipidemia e disfunção endotelial (HAQUE *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2015).

1.6 INSULINA E O METABOLISMO ENERGÉTICO

A insulina é um hormônio peptídico do pâncreas, secretado pelas células β das ilhotas de Langerhans. Diabetes induzida por pancreatectomia em animais evidenciou a importância

de um fator presente no pâncreas no controle metabólico ainda no final do século dezenove, porém o isolamento, purificação e disponibilidade terapêutica da insulina só ocorreu em 1921 (WILCOX, 2005). A insulina é um dipeptídeo com 51 aminoácidos, peso molecular de 5102 Kda, constituída por cadeia peptídica A e B ligadas por duas pontes dissulfídicas. O hormônio é codificado no gene situado no braço curto do cromossomo 11 e o seu precursor (pró-insulina) é sintetizado nas células beta, no retículo endoplasmático rugoso e armazenada no aparelho de Golgi. Por ação enzimática, a pro-insulina é convertida em insulina e peptídeo-C. Por exocitose, os grânulos maduros são secretados e liberam para a circulação insulina e uma taxa equimolar de peptídeo C. A secreção da insulina é pulsátil e a glicose representa um estímulo que contribui para que a secreção seja bifásica constituída de uma fase inicial rápida e intensa e de uma fase subsequente sustentada e de menor intensidade (BRATANOVA-TOCHKOVA *et al.*, 2002).

A insulina age no metabolismo dos carboidratos, através de difusão facilitada nas células musculares e adiposas mediada por proteínas transportadora de glicose (GLUT 4). No metabolismo lipídico, a insulina estimula a síntese de ácidos graxos no fígado, adipócitos e glândula mamária (em lactação) para a formação e armazenamento de energia na forma de triglicerídeos no fígado e tecido adiposo (HUNTER; GARVEY, 1998). A deficiência na produção de insulina ou alteração na sua ação (resistência a insulina) constitui a base fisiopatológica do diabetes melito, conjunto de doenças com alta prevalência mundial, que afeta o metabolismo dos carboidratos e produz danos sistêmicos severos. O diabetes tipo 1 é de menor prevalência (cerca de 10%) e geralmente está relacionada com a destruição das células β produtoras de insulina no pâncreas, cuja susceptibilidade genética está associada com genes do cromossomo 6 associados a resposta imune, dentre outros genes. O diabetes tipo 2 é o mais prevalente (cerca de 90%) e esta doença está relacionada a um conjunto de fatores de risco como obesidade, sedentarismo, história familiar, idade avançada, etnia e diabetes gestacional (VAN BELLE *et al.*, 2011; ABDULFATAI *et al.*, 2012; OLOKOBA *et al.*, 2012).

Um estudo recente revelou a necessidade de revisão dessa doença, no sentido de promover uma nova classificação em 5 subtipos, de acordo com as características e manifestações clínicas, visando uma melhor compreensão da sua fisiopatologia e melhor resposta terapêutica. Os pacientes foram divididos em 5 grupos, sendo que o primeiro foi classificado como casos de diabetes severa e incluiu pessoas com início precoce da doença, relativamente baixo índice de massa corpórea, controle metabólico inadequado, deficiência de insulina e presença de anticorpos para a enzima descarboxilase do ácido glutâmico (DAG). O segundo grupo foi considerado como tendo severa deficiência de insulina, anticorpos

negativos para DAG e demais características semelhantes às do primeiro grupo. O terceiro grupo foi classificado com severa diabetes insulino-resistente e apresentou alto índice de massa corpórea e alto índice de resistência à insulina. O quarto grupo foi classificado como portadores de diabetes medianamente relacionada à obesidade, no entanto sem resistência a insulina. O quinto grupo foi classificado como portador de diabetes relacionada à idade (AHQVIST *et al.*, 2018).

A comparação da progressão da doença, tratamento e desenvolvimento de complicações diabéticas nos grupos do mesmo estudo, levou os autores a identificar padrões diferenciados de evolução e prognóstico, com alto risco de complicações renais em pacientes com severa resistência à insulina. Marcadores da doença renal diabética tais como a hipertensão glomerular, hiperfiltração, aumento da sensibilidade ao sal e a diminuição da função renal estão associados à presença de resistência à insulina. A deficiência de insulina e hiperglicemia se mostrou como um gatilho para a retinopatia diabética no grupo 2 do estudo (AHQVIST, *et al.* 2018). A resistência à insulina se caracteriza por níveis normais ou elevados de insulina que produzem uma resposta biológica diminuída com redução da sensibilidade ao hormônio, mediada pela eliminação da glicose (WILCOX, 2005).

1.7 LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Dentre os principais lipídios plasmáticos destacam-se o colesterol e os triglicerídeos, que são transportados no sangue pelas proteínas do plasma, formando complexos macromoleculares denominados lipoproteínas que podem ser classificadas em função de seu tamanho, composição química, características físico-químicas e o comportamento em eletroforese. Desta maneira, as classes mais importantes são os quilomicrons (as maiores lipoproteínas), as lipoproteínas de muito baixa densidade (*Very Low Density Lipoprotein-VLDL*), lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein-LDL*), lipoproteínas de densidade intermediária (*Intermedium Density Lipoprotein-IDL*) e as lipoproteínas de alta densidade (*High Density Lipoprotein-HDL*) (MILLER *et al.*, 2011; DASHTY, 2014). Proteínas específicas (apolipoproteínas) compõem a parte proteica das lipoproteínas com uma determinada composição e quantidade relativamente constante e são reguladores críticos do transporte dos lipídeos. Essas proteínas também atuam na montagem das lipoproteínas e no metabolismo dos lipídeos, pela ativação ou inibição das enzimas envolvidas nesse metabolismo e a ligação dessas proteínas aos seus receptores na superfície celular (DASHTY, 2014; RAMASAMY, 2014).

O principal componente proteico dos quilomicrons e da VLDL é a apolipoproteína B (ApoB), possuindo também as apolipoproteínas E e C, sendo que esta última é adquirida no plasma. As apolipoproteínas A são componentes de superfície dos quilomicrons, os quais transportam os triglicerídeos exógenos a partir do intestino através da linfa para o duto torácico para que alcancem o sistema venoso. Um grupo de lipases remove os triglicerídeos dos quilomicrons ao nível dos capilares nos tecidos muscular e adiposo, sendo que os ácidos graxos e o glicerol (produto da hidrólise dos quilomicrons) entram nas células desses tecidos para serem utilizados ou se tornarem reserva energética. Os triglicerídeos endógenos são transportados do fígado através das VLDL para os tecidos citados, com a mesma finalidade (DASHTY, 2014).

O desequilíbrio entre a produção e secreção das VLDL pode levar a consequências adversas como a esteatose hepática e a alta concentração desses lipídeos no sangue (RAMASAMY, 2014). A degradação das VLDL, que perdem os triglicerídeos pela ação das lipases, origina as LDL e constitui a principal fonte dessas lipoproteínas para o plasma. As partículas de LDL podem variar em tamanho e densidade e as menores e densas apresentam uma afinidade decrescente pelo receptor LDL permanecendo mais tempo na circulação sendo mais pro-aterogênicas que as partículas maiores (DESSI *et al.*, 2013; FEINGOLD; GRUNFELD, 2018).

As gorduras presentes na dieta incluem triacilglicerol, responsável por 90 a 95% da energia calórica desses lipídeos, fosfolipídeos como a fosfatidilcolina, colesterol e vitaminas solúveis em gordura. A enzima lipase pancreática desdobra o triacilglicerol em 2-monoacilglicerol e ácidos graxos livres. Do lúmen intestinal, os ácidos graxos são absorvidos para os enterócitos intestinais visando a biossíntese de gorduras neutras. O transporte de ácidos graxos livres através da membrana apical da célula intestinal ocorreria por difusão independente de proteína e também por processo dependente de proteínas, segundo modelo proposto por alguns autores (RAMASAMY, 2014).

O transporte de colesterol através da membrana em borda-escova é facilitado pelas micelas de sais biliares. A ressíntese do triacilglicerol ou do diacilglicerol a partir de ácidos graxos e monoacilglicerol é realizada pela ação das enzimas Acil-coenzimaA - monoacilglicerol aciltransferase e Acil-coA- diacilglicerol aciltransferase no retículo endoplasmático. As gorduras absorvidas no intestino delgado são incorporadas no núcleo dos quilomicrons e estes lipídeos são liberados para tecidos periféricos, desaparecendo geralmente da circulação 12-14 horas após a ingestão alimentar (RAMASAMY, 2014).

A lipoproteína HDL é produzida no fígado, intestino ou constituída na circulação a partir de lipídios individuais e apolipoproteínas e sua formação depende da síntese e liberação de apolipoproteína A-I (RYE; BARTER, 2014). Possui propriedades antioxidantes, antiinflamatória e vasodilatadora e atua na remoção do excesso de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado visando reutilização ou eliminação através da bile, no processo denominado de transporte reverso do colesterol (MAÏGA; KALOPISSIS; CHABERT, 2014; DASHTY, 2014). Esse transporte é importante para evitar o acúmulo tóxico de colesterol nas células que não metabolizam o colesterol e contribui para a homeostase do mesmo no organismo. As lipoproteínas HDL apresentam tamanho e composição heterogênea com diversas apolipoproteínas, que podem significar subclasses de HDL com funções distintas (RAMASAMY, 2014).

As dislipidemias (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia) são alterações do metabolismo lipídico caracterizadas pelo aumento dessas lipoproteínas na circulação e estão relacionadas com o aumento do risco de doenças cardiovasculares (DESSI *et al.*, 2013). Atualmente, a avaliação das dislipidemias e sua interação com esses riscos considera importante a verificação dos níveis de colesterol total, LDL, HDL, colesterol não HDL (que é obtido pela subtração do HDL do valor do colesterol total) e triglicerídeos, sendo que à medida que o indivíduo apresenta maior número de fatores de risco cardiovascular, menor é o nível estabelecido como ótimo para esse indivíduo (exceto para o HDL em que os níveis altos são os desejáveis). Isso representa alvo terapêutico do manejo da doença (FALUDI *et al.*, 2017).

1.8 INTERAÇÃO DA LEPTINA E INSULINA NA REGULAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO

Fatores circulantes como hormônios e citocinas, dentre outros, regulam a decomposição dos lipídeos, destacando-se o papel dos hormônios leptina e insulina que são considerados os principais indicadores de adiposidade endócrina nos mamíferos, comunicando a disponibilidade energética no organismo para o cérebro. Em regiões do sistema nervoso central como o hipotálamo, a sinalização desses hormônios se integra com neurotransmissores e nutrientes, sendo o controle do apetite e repartição de nutrientes comandado pelo hipotálamo. No cérebro, o papel da insulina e da leptina na regulação da homeostase de energia ocorre então de forma sinérgica, suprimindo a ingestão de comida pela sinalização ao hipotálamo. Em termos clínicos, no entanto, a insulina tem propriedades

anabólicas e pacientes diabéticos tendem ao ganho de peso no início do tratamento com insulina. A administração de leptina leva a perda de gordura em humanos e roedores com deficiência desse hormônio (SCHERER; BUETTNER, 2011).

O tecido adiposo branco, principal fonte de leptina, possui receptores para insulina, a qual é considerada como principal fator regulador anti-lipolítico e pró-lipogênico nesse tecido e esses efeitos são mediados pelo receptores expressos nos adipócitos. A presença de mutações nesses receptores leva ao aparecimento de distrofia ou lipoatrofia em humanos, com grande redução do tecido adiposo branco e aumento de ácidos graxos circulantes. Por sua vez, a leptina, com efeitos primariamente via sinalização cerebral, induz lipólise e inibe a lipogênese, opondo-se aos efeitos da insulina no tecido adiposo branco, contribuindo a longo prazo para a redução da adiposidade. A infusão intracerebroventricular de pequenas quantidades de leptina em modelo animal pode reproduzir esses efeitos sistêmicos do hormônio, que ocorrem de forma parcialmente independente de seus efeitos anoréxicos (LAFONTAN; LANGIN, 2009; SCHERER; BUETTNER, 2011).

Além de atuarem de várias maneiras no metabolismo dos lipídeos, a insulina e leptina também atuam no metabolismo da glicose. A insulina é considerada hormônio-chave para a homeostase metabólica e sobrevivência. No entanto, desde os estudos iniciais sobre a leptina, verificou-se que esse hormônio possuía a habilidade de regular o metabolismo da glicose independente de sua ação de supressão do apetite. Essa habilidade pode ocorrer de forma dependente ou independente de insulina e envolve a circuitaria neuronal que inclui os neurônios responsivos à leptina. Embora receptores de leptina sejam expressos em tecidos periféricos, a maioria das funções fisiológicas desse hormônio é mediada por seus receptores no sistema nervoso central (FUJIKAWA; COPPARI, 2015).

Em modelos de camundongos com deficiência quase completa de insulina por ablação farmacológica das células β pancreáticas, o aumento sistêmico de leptina por transferência adenoviral do gene desse hormônio reduziu os níveis de hiperglicemia (YU *et al.*, 2008). Em ratos não obesos com diabetes tipo 1 não controlada, a administração contínua de leptina diminuiu as doses de insulina necessárias para o controle da glicemia, sugerindo possível utilidade como coadjuvante da insulina no tratamento do diabetes (WANG *et al.*, 2010). Contudo, a quantidade de leptina necessária para manter o metabolismo normal da glicose e dos lipídeos na ausência da insulina é maior do que as quantidades fisiológicas. Outros obstáculos ao uso terapêutico da leptina para o diabetes seriam a resistência a leptina (como ocorre com a insulina) e consequências da falta de insulina, que poderia aumentar os tipos de

diabetes tipo 1 – por deficiência de insulina e tipo 2 – por resistência a insulina (FUJIKAWA; COPPARI, 2015).

Em relação a produção de glicose pelo fígado, as propriedades antilipolíticas da insulina são fundamentais para a supressão dessa produção, uma vez que o glicerol age como um precursor gliconeogênico e os ácidos graxos livres proveem substrato de energia no processo de gliconeogênese. O fluxo da glicose hepática pode ser alterado pela infusão cerebral de insulina ou de leptina, porém com diferentes efeitos nos processos de produção de glicose. Em roedores, a infusão cerebral de insulina suprimiu a produção de glicose hepática, reduzindo a gliconeogênese sem afetar a glicogenólise, entretanto a infusão de leptina promoveu a gliconeogênese de forma aguda e suprimiu a glicogenólise. Assim, verifica-se que os efeitos antagônicos da insulina e leptina cerebral na lipólise do tecido adiposo branco se refletem na regulação da gliconeogênese hepática através da sinalização desses hormônios no sistema nervoso central (SCHERER; BUETTNER, 2015).

1.9 EFEITOS DO MERCÚRIO NO SISTEMA ENERGÉTICO

O mercúrio atua em mecanismos de patogênese que podem afetar múltiplos sistemas orgânicos e que são o estresse oxidativo (interferindo em sistemas enzimáticos pro e antioxidantes) e mecanismos de inflamação, os quais tem grande influência sobre o sistema energético e no desenvolvimento de componentes da síndrome metabólica (TINKOV *et al.*, 2015). Em relação ao estresse oxidativo, a exposição ao mercúrio aumenta a produção de radicais livres, espécies reativas de oxigênio (ROS) e de ânions superóxidos. Além disso, a formação de complexos químicos do mercúrio a partir de sua ligação com o grupo tiol (SH-) e com o selênio, compromete a ação de enzimas como a glutathione peroxidase, catalase e superóxido dismutase, devido a ausência do selênio no sítio ativo dessas enzimas, as quais tem suas atividades reduzidas (GENCHI *et al.*, 2017). O mercúrio pode influenciar a resposta inflamatória induzindo a formação de metabólitos do ácido aracdônico, incluindo as prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos e outros compostos que são mediadores da inflamação. A ativação da enzima fosfolipase A₂ pelo mercúrio, contribui para a ocorrência de doenças inflamatórias relacionadas às artérias coronarianas e ruptura de placa cerebral (GENCHI *et al.*, 2017).

Um possível efeito no desenvolvimento de aterosclerose tem sido sugerido por estudos que encontraram associação significativa entre mercúrio em cabelo e a espessura da camada íntima-media da artéria carótida (SALONEN *et al.*, 2000), porém outros estudos com mais de

30 mil indivíduos não evidenciaram associação entre exposição ao mercúrio e doença coronariana (TINKOV *et al.*, 2015). Embora existam dados controversos na literatura acerca da ação do mercúrio no desenvolvimento de aterosclerose, os resultados em relação a dislipidemia tem sido mais evidentes com associação significativa positiva sobre a ingesta de mercúrio e os níveis de colesterol total, LDL, triglicerídeos e associação negativa com o HDL (TINKOV *et al.*, 2015).

O mercúrio aumenta a oxidação do LDL e leva a inativação da enzima antioxidante extracelular paraoxonase, relacionada ao HDL e essa inativação reduz o transporte reverso de colesterol que é realizado pelo HDL. Como antioxidante do LDL, essa enzima também é importante no processo de aterosclerose e risco de doença cardiovascular, doença coronariana, infarto agudo do miocárdio e estenose da artéria carótida (GENCHI *et al.*, 2017). A inflamação vascular e a disfunção endotelial mediada pela diminuição de óxido nítrico disponível e atividade aumentada do sistema renina-angiotensina estão relacionadas com a gênese da hipertensão arterial (KIM *et al.*, 2015). Diversos estudos tem indicado um risco aumentado de desenvolvimento de hipertensão em indivíduos expostos ao metilmercúrio, com alteração dos níveis da pressão sistólica (WELLS *et al.*, 2017), diastólica (FILLION *et al.*, 2006) ou ambas em estudo referente ao mercúrio total (HONG *et al.*, 2013).

A bioacumulação do mercúrio pode apresentar associação com inflamação crônica e manifestações de doenças como hipertensão, doença cardiovascular e resistência a insulina, envolvendo mecanismos de disfunção mitocondrial, peroxidação lipídica e estresse oxidativo (KIM *et al.*, 2015). Alguns estudos tem evidenciado a ação do mercúrio na desregulação de glândulas como o pâncreas, promovendo disfunção das células β pancreáticas, podendo levar ao diabetes (KIM *et al.*, 2015, PARK *et al.*, 2017). Nesse órgão, o mercúrio pode ocupar sítios de ligação na molécula de insulina que contém grupos tiol (SH-) levando ao comprometimento da função biológica do órgão e desregulação dos níveis de glicose no organismo (RICE *et al.*, 2014).

A associação entre os níveis de mercúrio e a presença de diabetes tem sido evidenciada em alguns estudos (HE *et al.*, 2013) e refutada em outros (PARK *et al.*, 2017; MOZAFFARIAN *et al.*, 2011). Alguns estudos tem investigado a ocorrência de resistência a insulina em populações expostas ao mercúrio utilizando indicadores como o HOMA-IR (Avaliação do Modelo de Homeostase para Resistência a Insulina), pois é possível o aparecimento dessa resistência ainda que os níveis de insulina se mostrem normais (KIM *et al.*, 2015; ROY *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2017).

Na regulação do metabolismo energético, a leptina modula a secreção de insulina (ABELLA *et al.*, 2017) e ambos os hormônios possuem efeitos importantes no tecido adiposo branco que atua na homeostase, reserva de energia e produção de substâncias bioativas como a leptina e adiponectina, dentre outras. Em ratos alimentados com dieta rica em gordura e expostos a compostos mercuriais como o Cloreto de Mercúrio (HgCl_2) reduziram-se o peso do tecido adiposo branco e o tamanho dos adipócitos, sugerindo que o tamanho e a função dos adipócitos são sensíveis aos efeitos do mercúrio. Além disso, houve diminuição dos fatores de regulação de energia nos adipócitos e diminuíram-se os níveis séricos de leptina com *down* regulação da expressão do mRNA desse hormônio em adipócitos e redução do tamanho dos mesmos. Dessa forma, o mercúrio poderia contribuir para acelerar o desenvolvimento de doenças metabólicas (KAWAKAMI *et al.*, 2012).

Segundo Yamamoto *et al.*, (2014), as alterações metabólicas observadas no diabetes tipo 2 que levam a ganho de peso podem estar associadas com o aumento da toxicidade pelo metilmercúrio, o que representaria risco para populações expostas a essa forma orgânica do mercúrio. Por sua vez, concentrações plasmáticas de leptina foram correlacionadas positivamente com a obesidade e em altos níveis pode associar-se com hipertensão arterial e taquicardia (HAQUE *et al.*, 2006).

Na Amazônia, alguns estudos tem indicado em populações expostas ao mercúrio a ocorrência de alterações no perfil de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (GARDNER *et al.*, 2010; NYLAND *et al.*, 2011), estímulo aos mecanismos de estresse oxidativo (GROTTO *et al.*, 2010) e associação da exposição com hipertensão arterial (FILLION *et al.*, 2006). Estudos sobre os possíveis efeitos do mercúrio em sistemas orgânicos como aqueles relacionados ao metabolismo energético, são de grande relevância para o desenvolvimento de ações de vigilância ambiental em saúde na região amazônica. No caso da Cidade de Manoel Urbano, estado do Acre, um estudo preliminar desenvolvido na primeira metade da década de 2000, indicou que os níveis de mercúrio total em cabelo ($14 \mu\text{g/g}$) alcançavam médias semelhantes aos valores encontrados em localidades da região da bacia do rio Tapajós (SANTOS *et al.*, 2000; JESUS *et al.*, 2003).

A origem do mercúrio no ambiente do Acre também tem sido discutida por alguns estudos, que levantam as possibilidades em relação à formação natural do solo amazônico nessa região, a contribuição vulcânica e fontes antropogênicas, incluindo a mineração em países vizinhos (BRABO *et al.*, 2003; MASCARENHAS *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2006). Assim, este estudo avaliou os níveis de exposição ao mercúrio na cidade de Manoel Urbano, em seu contexto epidemiológico e a relação com possíveis efeitos adversos, verificando o

perfil de biomarcadores do metabolismo energético que podem sofrer efeitos da exposição, no sentido de contribuir para a vigilância ambiental em saúde.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a exposição ao mercúrio e possível influência no comportamento do padrão secretório de biomarcadores do metabolismo energético em residentes da cidade de Manoel Urbano, Estado do Acre, comparativamente à localidade Beja, Abaetetuba, estado do Pará.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o perfil epidemiológico das populações do estudo;
- Avaliar os níveis de exposição ao mercúrio nos indivíduos;
- Avaliar o perfil secretório de biomarcadores do metabolismo energético (colesterol total, LDL, HDL, CNHDL, triglicerídeos, leptina, insulina e glicose);
- Verificar os níveis de mercúrio em peixes consumidos em Manoel Urbano;
- Avaliar a possível interação dos fatores epidemiológicos e níveis séricos dos biomarcadores em relação aos teores de mercúrio.

3 MÉTODOS E CASUÍSTICA

3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS LOCALIDADES DO ESTUDO

O Estado do Acre está localizado na parte sudoeste da região norte, limitando-se internacionalmente ao sul e leste com a Bolívia e ao sul e oeste com o Peru e os demais limites estaduais ao norte são com o estado do Amazonas, e, em menor extensão, a nordeste, com Rondônia.

Este estudo foi desenvolvido na cidade de Manoel Urbano, que está localizada na região central do Acre, na margem direita do rio Purus com população estimada no último censo de 7.981 habitantes (IBGE, 2011). Apresenta as coordenadas geográficas de Latitude 8° 52' 24" Sul, 69° 16' 49" Oeste.

O grupo comparativo do estudo é proveniente da vila de Beja, distrito de Beja, Município de Abaetetuba, estado do Pará, cuja sede distrital é situada às margens da baía do Capim, rio Pará e que não possui registros conhecidos de fontes antropogênicas de exposição ao mercúrio. Apresenta as coordenadas 01°37'01,2" Sul e 48°48'38,4" Oeste. A população estimada no último censo abrangeu 7.470 habitantes (IDESP, 2011). O município de Abaetetuba limita-se ao norte com o município de Barcarena e rio Pará, a leste com o município de Moju, ao sul com os municípios de Igarapé Miri e Moju e a oeste com os municípios de Igarapé Miri, Limoeiro do Ajuru e Muaná.

3.2 DESCRIÇÃO DO ESTUDO

Foi desenvolvido estudo do tipo seccional com aplicação de inquérito epidemiológico com coleta de material biológico (sangue e cabelo). O cálculo amostral, realizado por meio do *software* EPIINFO™ versão 7 (DEAN *et al.*, 2011), considerou a população do último censo, limite de confiança de 5%, frequência esperada de exposição na população de 20% e nível de confiança de 95%, estimando-se a amostra em 239 indivíduos na cidade de Manoel Urbano e 238 em vila de Beja. Contudo, o número de participantes do inquérito abrangeu 254 e 201 em Manoel Urbano e vila de Beja, respectivamente. Para a avaliação de biomarcadores do metabolismo energético foi selecionado uma sub-amostra de 125 pessoas em Manoel Urbano e 122 em vila de Beja dentre os que participaram do inquérito, considerando os níveis decrescentes de mercúrio total e representatividade proporcional por idade e gênero.

O inquérito abrangeu a utilização de questionário semi-estruturado para obtenção de dados que incluíram a identificação do respondente, endereço e perguntas sobre educação e ocupação, consumo de peixe, tabagismo, etilismo, hipertensão e diabetes, sendo realizada a medida de peso e altura. Foi utilizada metodologia de amostragem de conveniência, na qual foram pesquisados 7 bairros em Manoel Urbano (cerca de 100 %), sendo incluídas 18 ruas (66,7% do total de 27 ruas existentes) e 83 domicílios, visitados de forma sistemática sendo um domicílio a cada 7, com cerca de 3 participantes por domicílio. Em caso de domicílio fechado, recusa ou outro tipo de estabelecimento (comércio não habitado, igreja, centro comunitário, escola, etc.) foi incluído o domicílio seguinte. Na vila de Beja foi utilizada metodologia semelhante com inclusão de 19 ruas (61,3% de um total de 31 ruas) e 58 domicílios com cerca de 3 participantes por domicílio.

O trabalho de campo foi desenvolvido por equipes, as quais aplicaram os questionários epidemiológicos nos domicílios selecionados, mediante concordância prévia dos entrevistados, utilizando-se termo de consentimento livre e esclarecido. Como critérios de inclusão, foi considerado o tempo de residência na localidade superior a um ano e a capacidade de responder (ou de seu responsável legal) às perguntas do formulário epidemiológico. Os indivíduos foram atendidos no posto de atendimento da Vigilância em Saúde das localidades, onde foram realizadas as medidas de peso e altura.

3.3 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos-CEP do Instituto Evandro Chagas, obedecendo as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS nº 196/96), utilizando-se Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), entre os participantes do estudo (CAAE nº 10114212.1.0000.0019 e Parecer CEP/IEC nº: 141.519 de 08.11.2012).

3.4 PROCEDIMENTOS DE CAMPO

O desenvolvimento do trabalho de campo abrangeu as seguintes etapas:

- Apresentação e assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- Preenchimento de ficha epidemiológica

- Medição do peso e altura

As medidas de peso e altura foram realizadas no posto de vigilância em saúde em cada localidade. O peso foi medido utilizando-se balança portátil digital com capacidade de 200 Kg e variação de 50 gramas (modelo BK55, Black +Decker, Towson, Maryland, EUA). A altura foi medida utilizando-se antropômetro portátil com faixa de uso de 1 mm até 2,50m, da marca Nutri-Vida (Nutri-Vida, São Paulo, Brasil). O cálculo do índice de massa corpórea (IMC) foi realizado dividindo-se o peso pelo produto da altura.

- Coleta de materiais biológicos humanos (254 indivíduos em Manoel Urbano e 201 em vila de Beja): sangue (venoso, com e sem anticoagulante) para análise de mercúrio e para as dosagens bioquímicas e hormonais, respectivamente. As amostras de sangue sem EDTA foram centrifugadas em 3000 rotações por minuto durante 10 minutos, para a obtenção do soro a ser utilizado nas dosagens supracitadas.

- A coleta de 233 amostras de pescado foi realizada com o apoio de pescadores locais e as espécies foram capturadas no rio Purus, que margeia a cidade de Manoel Urbano. A identificação taxonômica contou com o auxílio de um biólogo especializado em ictiologia.

3.5 ANÁLISES LABORATORIAIS

3.5.1 Mercúrio total e metilmercúrio

As análises de mercúrio em sangue foram desenvolvidas no Laboratório de Toxicologia da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas em Ananindeua, sendo realizadas por espectrometria de absorção atômica por geração de vapor frio - CVAAS para o mercúrio total (AKAGI *et al.*, 1996; SUZUKI *et al.*, 2004). Amostras de sangue foram coletadas de sangue periférico dos indivíduos, utilizando seringas descartáveis e acondicionadas em tubos com EDTA 10% para a conservação das amostras, sendo mantidas congeladas a -70°C até o momento das análises laboratoriais. Para a análise de mercúrio total 0,5 ml de hemácias foram medidos com pipeta automática e colocados em balões volumétricos de 50 ml aos quais foi adicionado 2ml de $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (1:1), 5ml de H_2SO_4 e 1ml de H_2O e levado à placa aquecedora a 250°C por 20 minutos.

Após o aquecimento, a solução da amostra digerida foi completada até 50 ml com H_2O e uma alíquota foi introduzida no Analisador de Mercúrio HG 201 (K.K. Sanso corp.). Para o

controle de qualidade, foram utilizados materiais de referência para sangue Whole Blood 3 (SerionormTM Trace Elements). Para a análise de mercúrio total em cabelo foram coletadas amostras de cabelo com cerca de 100 fios, cortados o mais próximo possível e de forma segura do couro cabeludo na região occipital, com tesoura de aço inoxidável, sendo as amostras acondicionadas em envelope branco e conservadas à temperatura ambiente até o momento da análise. Após lavagem e recorte dos fios, massas de 20 mg foram pesadas em balões volumétricos de 50 ml e submetidos aos procedimentos analíticos já descritos.

A dosagem de metilmercúrio em cabelo e sangue também foi realizada segundo a metodologia Akagi, descrita em Suzuki *et al.*, (2004), abrangendo a lavagem da amostra com ácido perclórico, extração com tolueno e quantificação do metilmercúrio por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (GC-ECD). Como controle de qualidade para a análise de MeHg foi utilizado material de referência certificado IAEA 085.

Para a análise de mercúrio total e metilmercúrio em peixe as amostras também foram submetidas aos procedimentos do método proposto por Akagi *et al.*, (1996) descrito em Suzuki *et al.*, (2004). Para o Hg-T o método está descrito resumidamente a seguir: Foi pesada uma massa aproximada de 10mg em frascos de digestão de 50mL. Em seguida foram adicionados 2mL de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4(1:1)$ + 5 mL de H_2SO_4 e 1 mL de H_2O deionizada. Após homogeneização os frascos foram levados à chapa aquecedora a uma temperatura de 220°C por 20 minutos, sendo as soluções resfriadas à temperatura ambiente e transferidas para balões volumétricos de 50 mL e posteriormente aferidas com água deionizada. As análises de Hg total foram feitas por Espectrofotometria de Absorção Atômica com sistema de geração de vapor frio.

3.5.2 Hormônios, lipoproteínas plasmáticas e glicemia

As lipoproteínas Colesterol total (CT), HDL, triglicerídeos (TGs) e glicose foram analisadas por ensaio bioquímico automatizado (Roche Diagnostics GmbH, D-68298; COBAS Integra 400 Mannheim, Alemanha). LDL foi calculado de acordo com a fórmula de Friedewald. Colesterol não HDL (NHDL-C) foi calculado pela diferença entre o colesterol total e o HDL. Os ensaios bioquímicos foram realizados no laboratório da Seção de Patologia do Instituto Evandro Chagas em Ananindeua, Pará. A insulina foi determinada pelo método imunoenzimático de fase sólida (DRG Instruments GMBH, Marburg, Alemanha). A leptina foi analisada pelo método imunoenzimático tipo sanduíche (DBC, Diagnostics Biochem Canada Inc., Ontario, Canadá). As análises de leptina e insulina foram realizadas em

duplicata. Devido a insuficiência de amostra para análise de leptina nas amostras de Beja, não existem resultados disponíveis desse biomarcador para essa localidade.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram organizados em bancos de dados elaborando-se estatísticas descritivas (tendência central e dispersão), e associação de variáveis como análise de Correlação (Pearson), teste paramétrico (t – Student, Anova) e não paramétricos (Kruskal Wallis, Quiquadrado, teste de Fisher). Foram utilizados para tabulação e análise dos dados os programas Microsoft Excel 2007, MINITAB 17 e GraphPad PRISMA 6, considerando-se nível de significância de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO 1

Possibilidades naturais e antropogênicas da exposição ao mercúrio na bacia do rio Purus, Estado do Acre, Brasil

Resumo

Fontes naturais e antropogênicas de mercúrio podem gerar riscos a saúde de populações residentes em áreas próximas e distantes dessas fontes. O Estado do Acre na Amazônia brasileira não possui mineração de ouro artesanal e de pequena escala e suas principais bacias hidrográficas são originárias de países vizinhos. Este estudo avaliou os níveis de mercúrio total (Hg-T) e metilmercúrio (MeHg) em indivíduos residentes na cidade de Manoel Urbano e em peixes do rio Purus, para verificar a magnitude da exposição e fatores epidemiológicos associados. Comparativamente o estudo incluiu a localidade Beja no rio Pará, estado do Pará. Foi realizado inquérito epidemiológico com coleta de sangue e cabelo, para determinação de Hg-T por Espectrometria-CVAAS e de MeHg por cromatografia gasosa-GC-ECD. As análises de Hg-T e MeHg em músculo de peixes foram realizadas pelos mesmo métodos. Os níveis de mercúrio em sangue e cabelo (Média±DP) dos participantes de Manoel Urbano mostraram-se elevados em relação ao verificado em Beja ($17,19 \pm 22,01 \mu\text{g.l}^{-1}$ e $6,14 \pm 5,83 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue, respectivamente, $t=7,90$ $p<0,0001$ e $4,62 \pm 5,18 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $1,29 \pm 1,34 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo, respectivamente, $t=12,56$, $p<0,0001$). As médias de MeHg encontradas em Manoel Urbano foram $20,27 \pm 24,96 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue e $7,45 \pm 5,62 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo. A média de Hg-T em peixes de Manoel Urbano variou de $1,621 \pm 1,389 \mu\text{g.g}^{-1}$ em carnívoros a $0,199 \pm 0,070 \mu\text{g.g}^{-1}$ em detritívoros. O teor médio de MeHg em peixes variou de 0,041 a $1,285 \mu\text{g.g}^{-1}$. A exposição ambiental ao mercúrio em Manoel Urbano mostrou-se principalmente associada ao consumo de peixe ($p<0,001$), idade ($p<0,001$) e tempo de residência ($p=0,014$ para Hg-T em sangue e $p<0,001$ para Hg-T em cabelo) e requer vigilância em saúde. Múltiplos fatores locais e regionais podem contribuir para a disponibilidade local do mercúrio.

Palavras-chave: Mercúrio; Metilmercúrio; Exposição; Peixe; Amazônia

Natural and anthropogenic possibilities of mercury exposure in the Purus river basin, Acre State, Brazil

Abstract

Natural and anthropogenic sources of mercury can pose health risks to populations living in areas near and far from these sources. The Acre State in the Brazilian Amazon does not have artisanal and small scale gold mining and its main hydrographic basins originate in neighboring countries. This study evaluated total mercury (T-Hg) and methylmercury (MeHg) levels in individuals living in the Manoel Urbano city and in fish of Purus river to verify the intensity of exposure and associated epidemiological factors. Comparatively the study included the Beja locality in the Pará river, state of Pará. An epidemiological survey was carried out with blood and hair collection for determination of T-Hg by Spectrometry-CVAAS and MeHg by gas chromatography-GC-ECD. T-Hg and MeHg analyzes in fish muscle were performed by the same methods. Total mercury levels in blood and hair (Mean $\pm$ SD) of Manoel Urbano participants were higher in relation to Beja (for blood 17.19 $\pm$ 22.01 $\mu\text{g.l}^{-1}$ and 6.14 $\pm$ 5.83 $\mu\text{g.l}^{-1}$, respectively, $t=7.90$ $p<0.0001$ and for hair 4.62 $\pm$ 5.18 $\mu\text{g.g}^{-1}$ and 1.29 $\pm$ 1.34 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectively, $t=12.56$, $p<0.0001$). Mean levels of MeHg in Manoel Urbano were 20.27 $\pm$ 24.96 $\mu\text{g/g}^{-1}$ in blood and 7.45 $\pm$ 5.62 $\mu\text{g/g}^{-1}$ in hair. T-Hg average in fish from the Purus river varied from 1.621 $\pm$ 1.389 $\mu\text{g/g}^{-1}$ in carnivores to 0.199 $\pm$ 0.070 $\mu\text{g/g}^{-1}$ in detritivores and mean of MeHg in fish varied from 0.041 to 1.285 $\mu\text{g/g}^{-1}$. Environmental exposure to mercury in Manoel Urbano city was mainly associated with fish consumption ($p<0.001$), age ($p<0.001$) and dwelling time ($p=0.014$ for T-Hg in blood and $p<0.001$ for T-Hg in hair) and demands health surveillance. Multiple local and regional factors may contribute to the local availability of mercury.

Keywords: Mercury; Methylmercury; Exposure; Fish; Amazon

1 Introdução

A mineração artesanal de ouro de pequena escala se constitui em atividade sócio-econômica histórica em muitos países e representa uma das principais fontes de emissão global de mercúrio, sendo desenvolvida na América do Sul, África e Ásia. Estima-se que a subsistência de 100 milhões de pessoas esteja relacionada direta ou indiretamente com essa atividade. O consumo mundial de mercúrio por esse setor econômico foi estimado em 650 a 1000 toneladas em 2005, 912 a 2305 toneladas em 2010 e 872 a 2598 toneladas em 2015, sendo o setor que mais consumiu mercúrio no período. Regionalmente, a utilização de mercúrio na América do Sul variou de 140 a 200 toneladas em 2005, 433 a 897 toneladas em 2010 e 458 a 1130 toneladas em 2015, superando apenas o leste e o sudeste da Ásia (UNEP 2017). Embora nem todo esse mercúrio se relacione com a mineração de ouro na América do Sul, esses dados revelam a magnitude da evolução da carga de mercúrio lançada no ambiente em áreas de mineração de ouro no continente.

A partir da Convenção de Minamata, assinada por países signatários em outubro de 2013 e que entrou em vigor em agosto de 2017, a preocupação mundial sobre o uso do mercúrio e as múltiplas formas de exposição na sociedade ganhou um novo patamar de atenção. Os países partícipes da Convenção se comprometeram a realizar o inventário sobre esse uso em seu território e desenvolver planos nacionais para mitigar e evitar os danos decorrentes desse contaminante para saúde e ambiente, inclusive aqueles relacionados a mineração de ouro (UNEP, 2013).

Esses danos a saúde podem advir da exposição às várias formas de mercúrio que, na Pan-Amazônia, abrange o mercúrio metálico e vapor de mercúrio em áreas de mineração de ouro e o metilmercúrio nas comunidades expostas pela ingestão de peixes de topo da cadeia trófica e mamíferos (WHO, 2003). Nos ecossistemas aquáticos, o mercúrio sofre metilação e participa de processos que levam a absorção e acumulação do composto pelos organismos (bioacumulação) e também ao aumento da sua concentração ao longo da cadeia alimentar (biomagnificação). Assim, o mercúrio orgânico atinge os níveis tróficos mais elevados em concentrações cada vez maiores, tornando-se disponível para as populações humanas (WHO, 2003; QUÉDRAOGO *et al.*, 2015).

Estudos recentes, entretanto, tem discutido a importância de processos como acessibilidade e biodisponibilidade de mercúrio em peixes e nos seres humanos que influenciariam diretamente o transporte, absorção, acúmulo e efeitos do mercúrio, destacando a possível participação de fatores relacionados a microbiota intestinal, além da nutrição e dos

fatores genéticos nesse processo (BRADLEY *et al.*, 2017). A concentração de referência para mercúrio em peixes predadores segundo a OMS é $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ (WHO, 2003) e no Brasil esse limite é de $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ e de $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ para as espécies não predadoras (BRASIL, 2013).

Os processos naturais e antropogênicos representam as fontes de mercúrio na Amazônia e os níveis de exposição em moradores de áreas afetadas por fontes antropogênicas podem superar limites de tolerância biológica, colocando em risco grupos vulneráveis como mulheres em idade fértil e crianças (SANTOS *et al.*, 2000, PINHEIRO *et al.*, 2007; MALM *et al.*, 2010; MARINHO *et al.*, 2012). Contudo, em algumas áreas sem fontes antropogênicas também já foram encontrados níveis elevados de mercúrio em residentes (SANTOS *et al.*, 2002, 2005). Nesses lugares, fontes naturais e processos biogeoquímicos contribuiriam para os níveis elevados de mercúrio no ambiente e na biota, muito mais que fontes antropogênicas como a mineração de ouro, que teria um impacto mais localizado (ROULET *et al.*, 2001; LECHLER *et al.*, 2000).

No estado do Acre, situado no sudoeste da região Norte e onde não há registro de mineração de ouro, alguns estudos indicaram a ocorrência de exposição ao mercúrio em algumas cidades e verificaram níveis elevados em espécies de peixes carnívoros (SANTOS *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2006). O estudo de Brabo *et al.* (2003) destacou como possível explicação para os níveis de mercúrio no Acre o processo de formação do solo enriquecido com mercúrio e outros metais pesados e que em condições tropicais do desenvolvimento do solo e intemperismo o Hg sofre remobilização e é enriquecido por processos geoquímicos nas camadas superiores do solo e devido ao desmatamento e erosão o Hg alcançaria os cursos d'água.

No entanto, alguns autores tem mencionado a possibilidade de influência dos impactos ambientais a longa distância da mineração de ouro artesanal e de pequena escala praticada em países vizinhos como o Peru (SANTOS *et al.*, 2002; BRABO *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2016), onde se situa a bacia do rio Madre de Dios, que possui um histórico de centenas de anos de mineração de ouro e tem apresentado um grande crescimento da mineração nas últimas décadas, com impactos ambientais e expansão da exposição humana ao mercúrio (LANGELAND *et al.*, 2017; SWENSON *et al.*, 2011; DIRINGER *et al.*, 2014; WYATT *et al.*, 2017). Nesse caso, além da conectividade hidrológica das bacias, o transporte atmosférico também teria grande importância. (CASTELLO *et al.*, 2013; UNEP, 2016).

A bacia do rio Madre de Dios e o início da bacia do rio Purus fazem parte da Amazônia Peruana, porém o rio Purus se dirige ao Brasil entrando pelo município de Santa Rosa do Purus e logo percorre o município de Manoel Urbano antes de entrar no estado do

Amazonas (ARAÚJO, 2009). Em vista de relatos anteriores de exposição ao mercúrio em cidades do estado do Acre e pouca informação sobre a bacia do rio Purus, este estudo objetivou avaliar os níveis de mercúrio e metilmercúrio em indivíduos residentes na cidade ribeirinha de Manoel Urbano e em peixes do rio Purus consumidos localmente para verificar a magnitude da exposição e fatores epidemiológicos e ambientais associados.

2 Métodos

2.1 Área e população do estudo

O Estado do Acre está localizado na parte sudoeste da região norte do Brasil, limitando-se internacionalmente ao sul e leste com a Bolívia e ao sul e oeste com o Peru, ao norte com o estado do Amazonas e a nordeste, com Rondônia. Este estudo foi desenvolvido na cidade de Manoel Urbano, que está localizada na região central do Acre à margem direita do rio Purus, com população de 7.981 habitantes em 2010 (IBGE, 2011).

O grupo comparativo é proveniente da vila de Beja, distrito de Beja, Município de Abaetetuba, estado do Pará, cuja sede distrital é situada às margens da baía do Capim, rio Pará e que não possui registros conhecidos de fontes antropogênicas de exposição ao mercúrio. A população estimada do distrito de Beja no último censo abrangeu 7.470 habitantes (IDESP, 2011). O município de Abaetetuba limita-se ao norte com o município de Barcarena e rio Pará, a leste com o município de Moju, ao sul com os municípios de Igarapé Miri e Moju e a oeste com os municípios de Igarapé Miri, Limoeiro do Ajuru e Muaná (Figura 1).

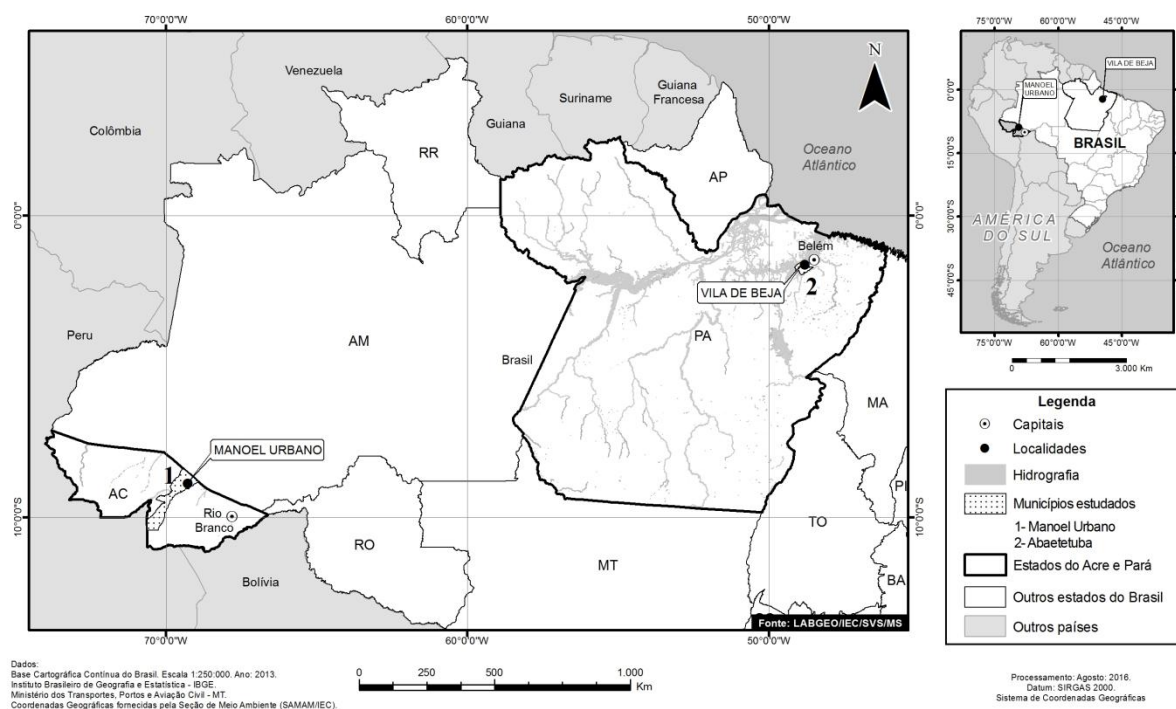


Figura 1. Localização das áreas de estudo.

2.2 Descrição do estudo

Foi desenvolvido estudo seccional com inquérito epidemiológico na população geral e coleta de material biológico (cabelo e sangue) para análise de mercúrio total e metilmercúrio. Para o cálculo amostral considerou-se a população do último censo, limite de confiança de 5%, frequência esperada de exposição na população de 20% e nível de confiança de 95%, sendo a amostra estimada em 239 indivíduos na cidade de Manoel Urbano e 238 em vila de Beja, utilizando-se o *software* EPIINFO™ versão 7 (DEAN *et al.*, 2011). Entretanto, o inquérito abrangeu 254 participantes em Manoel Urbano e 201 em vila de Beja. O inquérito abrangeu a utilização de questionário semi-estruturado para obtenção de dados domiciliares e individuais que incluem a identificação do respondente, endereço e perguntas sobre condições sócio-econômicas, ocupacionais, consumo de peixe, tagagismo, etilismo, diabetes e hipertensão arterial.

Foi utilizada metodologia de amostragem de conveniência, com seleção de bairros e ruas e inclusão sistemática de domicílios. A amostragem em Manoel Urbano incluiu todos os 7 bairros com o sorteio de 18 ruas e 83 domicílios, os quais foram visitados de forma

sistemática a cada 7 domicílios. Em caso de residências fechadas, recusa ou outro tipo de estabelecimento (comércio não habitado, igreja, centro comunitário, escola, etc.), foi incluído o domicílio seguinte. Na vila de Beja aplicou-se a mesma metodologia e foram sorteadas 19 ruas e 58 domicílios. O trabalho de campo foi desenvolvido por equipes, as quais aplicaram os questionários epidemiológicos nos domicílios selecionados, mediante concordância voluntária dos entrevistados e termo de consentimento. Como critérios de inclusão foi considerado o tempo de residência na localidade superior a um ano e a capacidade de responder (ou de seu responsável legal) às perguntas do formulário epidemiológico.

2.3 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos-CEP do Instituto Evandro Chagas, obedecendo as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS nº 196/96), utilizando-se Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), entre os participantes do estudo (CAAE nº 10114212.1.0000.0019 e Parecer CEP/IEC nº: 141.519 de 08.11.2012).

2.4 Coleta dos materiais biológicos

Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa, utilizando seringas descartáveis, acondicionadas em tubos com EDTA - 10% e para sua conservação foram mantidas congeladas a -70°C até o momento das análises. Para cada amostra de tecido Capilar, foi selecionada uma mecha com cerca de 100 fios, cortada o mais próximo possível do couro cabeludo na região occipital, com tesoura de aço inoxidável, sendo as amostras acondicionadas em envelope (devidamente identificado) e conservadas à temperatura ambiente até o momento da análise.

A coleta de amostras de pescado foi realizada com o apoio de pescadores locais e as espécies foram capturadas no rio Purus, que margeia a cidade de Manoel Urbano-AC. Após a aquisição do pescado, uma ficha de Campo foi preenchida com informações de cada exemplar (nomes populares, hábito alimentar, comprimento, peso, aparência, local e data da coleta). Na sequência, o músculo foi coletado com auxílio de bisturis e acondicionado em sacos plásticos, cuidadosamente identificados. Foi realizado registro fotográfico dos espécimes e do processo e posteriormente, as amostras foram congeladas e transportadas em caixas térmicas até o

laboratório. A identificação das espécies foi realizada por biólogo especializado em ictiologia e utilização de guia taxonômico.

2.5 Determinação de mercúrio Total (HgT) em Sangue, cabelo e Pescado

O procedimento analítico para determinação de mercúrio total (HgT) nas amostras de tecido capilar e sangue envolveu as etapas de pesagem (10 mg de tecido capilar e 500 mg de sangue e de pescado), abertura química (1 mL de água deionizada + 2 mL de HNO₃-HClO₄ (1:1) + 5 mL de H₂SO₄) e digestão a 230 °C durante 30 minutos. Para a dosagem em de Hg-T em peixe foi pesada uma massa aproximada de 10mg em frascos de digestão de 50mL. Em seguida foram adicionados 2mL de HNO₃+HClO₄(1:1) + 5 mL de H₂SO₄ e 1 mL de H₂O deionizada. Após homogeneização os frascos foram levados à chapa aquecedora a uma temperatura de 220⁰C por 20 minutos, sendo as soluções resfriadas à temperatura ambiente e transferidas para balões volumétricos de 50 mL e posteriormente aferidas com água deionizada. Para a quantificação de HgT em tecido capilar, sangue e pescado foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com sistema para geração de vapor frio (CVAAS), Mercury Analyzer (SANSO Seisakusho co., Ltd), modelo Hg-201.

A dosagem de metilmercúrio (MeHg) envolveu etapa de pesagem de amostra (10mg de tecido capilar e 500mg de sangue e pescado). Para quantificação de MeHg em Tecido Capilar o procedimento consistiu na lixiviação em banho térmico a 100°C por 5 min. com HCl 2N e na sequencia extração do MeHg em tolueno. O procedimento analítico para sangue e pescado envolveu a digestão com 10 mL de solução KOH-Etanol 1N em banho térmico a 100°C por 60 min. em tubos cônicos Pyrex. A seguir, o MeHg foi extraído com solução ditizona-tolueno. Após as extrações a quantificação foi realizada em um Cromatógrafo gasoso com detecção de captura de elétron (GLC-ECD, Yanako), modelo G6800.

Todas as análises laboratoriais deste estudo foram desenvolvidas no Laboratório de Toxicologia da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas em Ananindeua, Pará, Brasil, realizadas segundo a metodologia Akagi, descrita em Susuki *et al.* (2004).

2.6 Controle de Qualidade Analítica

O controle de qualidade analítica para HgT foi realizado com a leitura dos Materiais de Referência Certificados MRC's (IAEA-085, WB-L2 e TUNA FISH) em tecido capilar, sangue e pescado, respectivamente. Para MeHg foram utilizados os MRC's (IAEA-085 e

DOLT-4) em Tecido capilar e pescado. Para as amostras de sangue total foi realizado o procedimento de adição padrão e obtida uma recuperação média de adição de 99%. Para estabelecimento da reprodutibilidade e recuperação analítica nas análises toxicológicas de Hg foram utilizadas curvas de calibração e uso de replicatas de amostras aleatórias. O nível de contaminação introduzido durante o procedimento experimental no laboratório foi monitorado com brancos do método no período das análises.

Tabela 1. Recuperação analítica de HgT e MeHg em materiais de referência certificados (MRC's)

MeHg				
MRC*	Valor Encontrado	N	Valor certificado ng/mg	Recuperação %
IAEA - 085	21,402	11	22,9	93,5
DOLT-4	1,314	10	1,33	98,8
HgT				
MRC*	Valor Encontrado	N	Valor certificado ng/mg	Recuperação %
IAEA - 085	22,35	5	23,2	96,3
WB-L2	16,046	5	16	100,2
T.Fish	4,72	5	5,24	90

*Material de Referência Certificado

2.7 Análise estatística

A partir dos dados organizados em planilhas, foram elaboradas estatísticas descritivas de tendência central e dispersão. De acordo com as características das variáveis (contínuas ou categóricas) e comportamento de normalidade foram utilizados testes estatísticos apropriados. Foi realizada análise de correlação de Pearson e de Spearman e testes paramétricos (t- Student e Anova um critério) e não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal Wallis). Para as análises paramétricas foi utilizada transformação logarítmica das variáveis contínuas, quando as mesmas não apresentavam comportamento normal pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Foram utilizados para tabulação e análise dos dados os programas Microsoft Excel 2007, MINITAB 17 e GraphPad PRISMA 6, considerando-se nível de significância de $p < 0,05$.

3 Resultados

As características demográficas e de consumo de peixe dos participantes do estudo e sua relação com os níveis de mercúrio estão apresentadas nas tabelas 2 e 3. A distribuição etária dos indivíduos nas localidades Manoel Urbano e Vila do Beja variou de 1 a 82 anos com predominância de adultos (52% e 47% respectivamente) e mulheres (60,6% e 59,7% respectivamente). A maioria dos participantes residia há mais de 10 anos na localidade (64,6% em Manoel Urbano e 64,7% em Beja) e consumia até duas refeições semanais a base de pescado (64,2% e 62,7% respectivamente).

A avaliação dessas características em relação aos níveis de mercúrio total (Hg-T) em sangue e cabelo mostrou que em Manoel Urbano os teores diferiam nas faixas etárias ($p < 0.001$) correlacionando-se positivamente com a idade ($r = 0,3657$, $p < 0,0001$ para Hg em sangue e $r = 0,3354$, $p < 0,0001$ para cabelo, dados não mostrados) e nos indivíduos com maior tempo de residência na localidade ($p = 0.014$ para Hg em sangue e $p < 0.001$ para Hg em cabelo), não se observando diferença entre homens e mulheres.

A frequência semanal de consumo de peixe mostrou-se semelhante em Manoel Urbano e Beja ($2,35 \pm 1,47$ e $2,16 \pm 1,20$, respectivamente, $p = 0,1416$, $t = 1,472$ IC = -0,4415 a 0,06332). O maior número de refeições de peixe por semana mostrou-se associado com o aumento da concentração de mercúrio tanto no sangue quanto no cabelo ($p < 0.001$), havendo correlação moderada e positiva da frequência de consumo com os níveis de Hg total em sangue ($s = 0,448$; $p < 0,0001$) e cabelo ($s = 0,392$; $p < 0,0001$) (dados não mostrados). Em Beja todos esses fatores não mostraram associação significativa com os teores de Hg-T.

A média de concentração de mercúrio dos participantes de Manoel Urbano foi 2,8 vezes maior no sangue ($17,19 \pm 22,01 \mu\text{g/l}^{-1}$ e $6,14 \pm 5,83 \mu\text{g/l}^{-1}$, respectivamente, $t = 7,90$ $p < 0,0001$) e 3,6 vezes maior no cabelo ($4,62 \pm 5,18 \mu\text{g/g}^{-1}$ e $1,29 \pm 1,34 \mu\text{g/g}^{-1}$ respectivamente, $t = 12,56$, $p < 0,0001$), quando comparado com Beja, havendo também maior amplitude dos teores de Hg-T em Manoel Urbano ($0,49$ - $138,64 \mu\text{g/l}^{-1}$ em sangue e $0,10$ - $41,82 \mu\text{g/g}^{-1}$ em cabelo) em relação a Beja ($0,53$ - $28,64 \mu\text{g/l}^{-1}$ em sangue e $7,81$ - $0,09 \mu\text{g/l}^{-1}$ em cabelo).

Considerando os limites de referência (WHO, 1990) para mercúrio em sangue de $8 \mu\text{g/l}^{-1}$ para pessoas com baixa exposição, ultrapassaram esse limite 55,9% (142) dos participantes de Manoel Urbano e 22,4% (45) dos participantes de Beja. Para mercúrio em cabelo o limite de referência em caso de baixa exposição é $2 \mu\text{g/g}^{-1}$, sendo que 63,2% (161) dos participantes de Manoel Urbano e 16,4% (33) dos indivíduos de Beja apresentaram teores

maiores que esse referencial. A figura 2 demonstra os níveis de exposição segundo faixa etária nas duas localidades em relação a esses limites de referência, indicando exposição crescente com a idade em Manoel Urbano, divergindo do observado em vila de Beja.

As características sociais ocupação e nível de educação estão apresentados nas tabelas 4 e 5. Dentre as 9 ocupações categorizadas em Manoel Urbano (excetuam-se o grupo de outras ocupações, crianças de até 6 anos de idade e grupo sem informação), os maiores níveis de mercúrio foram apresentados pelos grupos de agricultores ($30.55 \pm 29.27 \mu\text{g/l}^{-1}$ em sangue e $7.61 \pm 8.77 \mu\text{g/g}^{-1}$ em cabelo), operários ($30.80 \mu\text{g/l}^{-1} \pm 40.10$ em sangue e $7.77 \pm 6.99 \mu\text{g/g}^{-1}$ em cabelo) e aposentados ($32.70 \pm 32.00 \mu\text{g/l}^{-1}$ em sangue e $7.72 \pm 6.61 \mu\text{g/g}^{-1}$ em cabelo) que se destacaram em relação aos teores de mercúrio nos outros grupos (Anova um critério, $p < 0.001$).

Alguns indivíduos também desempenhavam atividade de pesca de subsistência como segunda ocupação na categoria de agricultor (3 pessoas, 13,6%). A frequência semanal de consumo de peixe nesse grupo foi maior que a média geral ($3,77 \pm 1,74$, $p < 0,0001$, $t = 4,251$, $GL = 274$, $IC = -2,070$ a $-0,7594$). Em Beja, apesar dos agricultores (dos quais também 2 pescavam para subsistência), operários e de crianças até 6 anos de idade apresentarem teores de Hg-T um pouco maiores que os demais grupos, essa diferença não foi evidenciada estatisticamente ($p > 0.05$). Observou-se que nenhum dos participantes das duas localidades trabalhava no momento ou anteriormente em mineração de ouro. Os grupos de donas de casa e estudantes apresentaram o maior quantitativo de participantes nas duas localidades representando 43,7% em Manoel Urbano (111) e 46,8% (114) em Beja.

Em termos educacionais, quase a metade da população de Manoel Urbano (47,2%) e de Beja (45,3%) possui o ensino fundamental, com uma parcela de pessoas não alfabetizadas (13,4% e 3,5%, respectivamente) e esses grupos, junto com o de educação superior foram também os que apresentaram níveis de Hg-T em sangue mais elevados em Manoel Urbano ($p = 0.008$), contudo o mesmo não ocorreu em relação ao cabelo. Em Beja não se observou associação do mercúrio em sangue e cabelo com o nível de educação ($p > 0.05$).

Os níveis de metilmercúrio (MeHg) foram avaliados nos participantes de Manoel Urbano (82 amostras de sangue e 87 de cabelo), conforme apresentado por faixa etária e gênero na tabela 6, observando-se como no caso do Hg-T, maiores níveis de MeHg em cabelo nas faixas de maior idade ($p = 0,0038$), porém sem diferença estatística em relação ao sangue ($p > 0.05$). A frequência de consumo de pescado apresentou uma correlação positiva e moderada em relação ao metilmercúrio em sangue ($s = 0,437$; $p = 0,000$) e no cabelo ($s = 0,420$; $p = 0,000$). Fortes correlações foram observadas em Manoel Urbano para mercúrio total em

sangue e cabelo ($r=0.718$ $p<0.001$) e para metilmercúrio ($r=0.825$, $p<0.001$) e correlação moderada em Beja para mercúrio total em sangue e cabelo ($r=0.599$, $p=0.001$) (dados não mostrados).

Como indicador da presença do mercúrio na biota aquática, foram coletados 233 exemplares de 12 espécies de peixes do rio Purus, quase todas referidas como consumidas pelos residentes de Manoel Urbano, sendo algumas citadas por mais de 50% dos participantes (branquinha-detritívora e mandii-carnívora). A tabela 7 apresenta os resultados de mercúrio total nos peixes, que diferiram entre os grupos segundo o hábito alimentar das espécies ($p<0,0001$), verificando-se as médias $\pm$ DP mais elevadas em espécies carnívoras como o peixe cachorro ($1.648 \pm 0.380 \mu\text{g/g}^1$) e piranha ($0.970 \pm 0.335 \mu\text{g/g}^1$) e espécies onívoras como pacu ($0.942 \pm 0.149 \mu\text{g/g}^1$) e mapará ($0.853 \pm 0.061 \mu\text{g/g}^1$). A espécie denominada candiru apresentou o mais alto teor ($2.922 \pm 1.808 \mu\text{g/g}^1$), porém a mesma não foi referida como consumida pela população.

O percentual de MeHg presente nas espécies em relação ao mercúrio total variou de 90,51% na espécie aracu (onívora) a 43, 97% na espécie candiru (carnívoro) (tabela 6). Tendo em vista as espécies citadas como mais consumidas pela população dentre aquelas capturadas no rio Purus, foram selecionados o mandii e o aracu como espécies onívoras, a branquinha e o curimatá como espécies detritívoras para comparação dos níveis de mercúrio entre os participantes. O consumo de mandii apresentou associação com os níveis de mercúrio em sangue ($p=0,0089$, $t=2,634$, IC 95% 0,04251 a 0,2943) e cabelo ($p=0,0143$, $t=2,467$, IC 95%=0,02910 a 0,2596). O consumo de branquinha apresentou associação com os níveis de Hg-T em cabelo ($p=0,0437$, $t=2,027$, IC=0,003323 a 0,2291) e o consumo de curimatá mostrou-se associado aos níveis de Hg-T em sangue ($p=0,0143$, $t=2,467$, IC=0,04033 a 0,3597). O consumo da espécie aracu não se mostrou associado aos níveis de mercúrio em sangue e cabelo dos participantes ($p>0,05$).

Tabela 2. Níveis de Hg total em sangue $\mu\text{g.l}^{-1}$ segundo características demográficas, tempo de residência e consumo de peixe em residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012

Parâmetros	Manoel Urbano						Vila de Beja						*p-Valor
	n	%	Média(DP)	Amplitude	Q2	p-valor	n	%	Média(DP)	Amplitude	Q2	p-valor	
Idade(ano)						<0,001						0,291	<0,001
0-9	35	13,8	10,02(13,75)	0,49-60,20	6,15		34	16,9	6,40(4,83)	0,77-19,63	5,46		
10-19	58	22,8	11,18(16,14)	0,62-87,72	5,00		45	22,4	5,28(4,85)	0,59-24,92	2,99		
20-59	132	52,0	18,39(21,55)	0,75-138,64	12,05		96	47,8	6,46(6,27)	0,82-28,63	3,86		
≥ 60	29	11,4	32,35(32,56)	1,38-116,45	20,52		26	12,9	6,11(6,93)	0,53-28,64	3,97		
Total	254	100	17,19(22,01)	0,49-138,64	9,61		201	100	6,14(5,83)	0,53-28,64	3,91		
Gênero						0,237						0,260	<0,001
Feminino	154	60,6	15,82(19,83)	0,54-138,64	9,59		120	59,7	5,75(5,07)	0,53-28,63	3,87		
Masculino	100	39,4	19,69(24,96)	0,49-127,91	10,13		81	40,3	6,72(6,79)	0,53-28,64	4,49		
Tempo de residência						0,014						0,943	<0,001
0-10	90	35,4	14,15 $\pm$ 17,42	0,49-95,81	7,36		71	35,3	5,93(5,31)	0,77-23,58	3,88		
11-20	79	31,1	14,56 $\pm$ 17,02	0,62-87,72	9,15		58	28,9	6,33(6,27)	0,59-28,63	4,08		
>20	85	33,5	22,84 $\pm$ 28,63	0,75-138,64	12,43		72	35,8	6,19(6,01)	0,53-28,63	4,14		
Consumo de peixe por semana						<0,001						0,545	<0,001
< 1 refeição	94	37,0	9,19(7,87)	0,49-41,38	6,61		66	32,8	5,47(5,19)	0,53-28,63	3,80		
1-2 refeições	69	27,2	18,31(18,82)	0,82-87,72	12,40		60	30,0	6,71(6,50)	0,59-24,41	4,61		
≥ 3 refeições	63	24,8	31,70(32,73)	2,16-138,64	19,64		69	34,3	6,48(6,00)	0,77-28,63	4,86		
Não informado	28	11,0	8,61(13,42)	0,54-60,20	1,98		6	2,9	3,84(1,57)	2,25-6,25	3,24		

*Entre localidades. Anova um critério com transformação logarítmica de variáveis contínuas. Análise bivariada com t-Student. DP=desvio padrão, Q2=mediana.

Tabela 3. Níveis de Hg total em cabelo $\mu\text{g.g}^{-1}$ segundo características demográficas, tempo de residência e consumo de peixe em residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012

Parâmetros	Manoel Urbano						Vila de Beja						*p-Valor
	N	%	Média (DP)	amplitude	Q2	p-valor	n	%	Média (DP)	Amplitude	Q2	p-valor	
Idade(anos)						<0,001						0,270	<0,001
0-9	35	13,8	3,06(3,07)	0,31-12,67	1,88		34	16,9	1,59(1,22)	0,10-4,07	1,44		
10-19	58	22,8	3,02(4,02)	0,10-26,86	1,67		45	22,4	1,17(1,24)	0,12-6,24	0,65		
20-59	132	52,0	4,82(4,58)	0,37-25,90	3,46		96	47,8	1,34(1,48)	0,09-7,81	0,89		
≥ 60	29	11,4	8,80(8,56)	0,18-41,82	6,38		26	12,9	0,95(1,04)	0,12-5,53	0,78		
Total	254	100	4,62(5,18)	0,10-41,82	2,90		201	100	1,29(1,34)	0,09-7,81	0,85		
Gênero						0,146						0,703	<0,001
Feminino	154	60,6	4,21(4,20)	0,27-25,90	2,79		120	59,7	1,32(1,27)	0,10-7,81	0,96		
Masculino	100	39,4	5,26(6,37)	0,10-41,82	3,04		81	40,3	1,25(1,43)	0,09-7,04	0,74		
Tempo de residência						P<0,001						0,595	<0,001
0-10	90	35,4	3,38(2,97)	0,15-12,67	2,22		71	35,3	1,46(1,38)	0,10-7,04	0,86		
11-20	79	31,1	3,60(3,48)	0,10-18,18	2,47		58	28,9	1,23(1,40)	0,12-7,81	0,75		
>20	85	33,5	6,88(7,23)	0,18-41,82	4,33		72	35,8	1,18(1,25)	0,09-6,40	0,87		
Consumo de peixe por semana						<0,001						0,907	<0,001
< 1 refeição	94	37,0	3,03(2,60)	0,18-12,12	2,14		66	32,8	1,35(1,55)	0,15-7,81	0,80		
1-2 refeições	69	27,2	4,83(4,82)	0,40-26,86	3,17		60	30,0	1,24(1,27)	0,12-6,40	0,85		
≥3 refeições	63	24,8	7,31(7,01)	0,37-41,82	5,24		69	34,3	1,30(1,25)	0,09-6,24	0,91		
Não informado	28	11,0	3,41(5,37)	0,10-25-90	1,15		6	2,9	1,03(0,58)	0,42-1,80	0,97		

*Entre localidades. Anova um critério com transformação logarítmica de variáveis contínuas. Análise bivariada com t-Student. DP=desvio padrão, Q2=mediana.

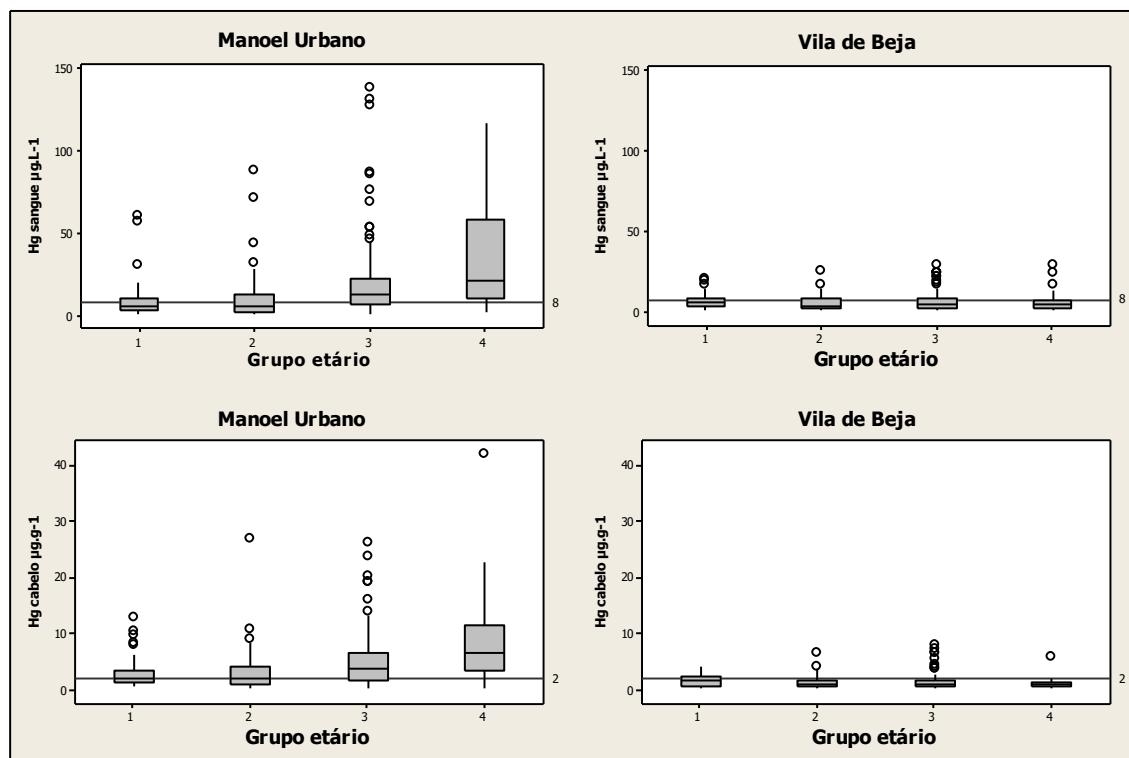


Figura 2- Níveis de mercúrio total (Hg) em sangue e cabelo por grupo etário de 0-9 (1), 10-19 (2), 20-59 (3) e 60 ou mais anos (4) de idade em residentes da cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará. As linhas destacam as referências de exposição ao Hg em sangue ($8\mu\text{g/L}^{-1}$) e cabelo ($2\mu\text{g/g}^{-1}$), segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO,1990).

Tabela 4. Concentração de Hg total em sangue $\mu\text{g.l}^{-1}$ segundo ocupação e nível de educação de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012

Parâmetros	Manoel Urbano						Vila de Beja						*p-valor
	n	%	Média (DP)	Amplitude	Q2	p-valor	n	%	Média (DP)	Amplitude	Q2	p-valor	
Ocupação						<0,001						0,771	P<0,001
Agricultor	22	8,7	30,55(29,27)	2,53-109,26	18,65		4	2,0	10,10(8,78)	5,25-23,26	5,95		
operário	8	3,2	30,80(40,10)	4,20-127,9	19,40		6	3,0	9,79(9,61)	1,12-21,71	6,11		
Comerciante	16	6,3	15,96(15,63)	2,04-46,19	8,92		10	5,0	5,13(4,46)	1,21-16,33	3,82		
Professor	9	3,5	14,19(11,73)	1,65-37,07	12,40		-	-	-	-	-		
Profissional de saúde	9	3,5	7,19(7,44)	0,75-24,06	3,76		-	-	-	-	-		
Serviços domésticos	15	5,9	28,24(35,22)	4,45-138,64	12,69		8	4,0	5,20(2,62)	1,60-8,55	5,47		
Do lar	43	16,9	19,56(21,88)	0,81-116,45	12,41		38	18,9	6,35(5,66)	0,53-28,63	4,06		
Estudante	68	26,8	11,32(16,10)	0,49-87,72	5,37		56	27,9	5,87(5,30)	0,59-24,92	4,37		
Aposentado	10	3,9	32,70(32,00)	1,38-95,80	19,60		20	10,0	6,16(6,12)	0,55-28,64	4,81		
Crianças ≤6anos	19	7,5	9,88(13,78)	0,54-57,10	6,29		19	9,4	6,99(5,63)	1,31-19,64	4,95		
Outro	35	13,8	12,87(12,96)	0,80-57,18	8,66		22	10,9	6,79(8,23)	0,82-24,42	3,12		
Não informado							18	8,9	3,73(2,95)	0,83-10,33	2,37		
Educação						0,008						0,118	P<0,001
Pre-escolar	19	7,5	9,88(13,78)	0,54-57,10	6,29		17	8,5	6,79(5,33)	1,69-19,64	4,95		
Fundamental	120	47,2	20,23(25,40)	0,49-138,64	10,53		91	45,3	6,83(6,48)	0,55-28,63	4,90		
Médio	67	26,4	10,71(12,41)	0,75-76,30	6,15		57	28,3	6,24(5,90)	0,82-28,64	3,91		
Superior	14	5,5	15,65(12,59)	1,65-42,63	14,24		7	3,5	3,62(4,92)	0,83-14,59	1,84		
Não alfabetizado	34	13,4	23,93(26,74)	1,38-109,26	13,35		7	3,5	4,87(3,88)	1,83-12,32	2,90		
Não informado							22	10,9	3,73(2,55)	0,53-10,33	2,67		

*Entre localidades. Anova um critério com transformação logarítmica de variáveis contínuas. Análise bivariada com t-Student. DP=desvio padrão, Q2=mediana.

Tabela 5. Concentração de Hg total em cabelo $\mu\text{g/g}^{-1}$ segundo ocupação e nível de educação de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre e vila de Beja, Pará, Brasil, 2012

Parâmetros	Manoel Urbano						Vila de Beja						p-valor*
	n	%	Média (DP)	Intervalo	Q2	p-valor	n	%	Média (DP)	Intervalo	Q2	p-valor	
Ocupação						0.004						0.319	P<0.001
Agricultor	22	8.7	7.61(8.77)	1.18-41.82	5.66		4	2.0	2.81(2.84)	1.09-7.05	1.56		
operário	8	3.2	7.77(6.99)	1,18-23.60	6.17		6	3.0	1.30(1.52)	0.09-3.94	0.61		
Comerciário	16	6.3	3.80(3.46)	0.34-10.72	2.27		10	5.0	0.94(0.86)	0.15-2.37	0.48		
Professor	9	3.5	4.82(3.75)	0.81-12.96	4.33		-	-	-	-	-		
Profissional de saúde	9	3.5	2.89(3.64)	0.37-12.12	1.43		-	-	-	-	-		
Serviços domésticos	15	5.9	6.24(4.56)	1.90-19.14	4.75		8	4.0	1.33(0.62)	0.12-2.32	1.36		
Do lar	43	16.9	5.00(4.35)	0.27-20.17	4.22		38	18.9	1.46(1.53)	0.13-7.81	0.96		
Estudante	68	26.8	2.88(3.73)	0.10-26.86	1.67		56	27.9	1.37(1.45)	0.12-6.40	0.69		
Aposentado	10	3.9	7.72(6.51)	0.18-18.18	4.54		20	10.0	0.90(0.54)	0.16-2.35	0.86		
Crianças ≤6anos	19	7.5	3.66(3.69)	0.31-12.67	1.88		19	9.4	1.70(1.16)	0.10-4.07	1.50		
Outro	35	13.8	4.64(5.70)	0.37-25.90	2.91		22	10.9	1.17(1.59)	0.17-6.24	0.66		
Não informado							18	8.9	0.70(0.42)	0.23-1.79	0.58		
Educação						0.316						0.245	P<0.001
Pre-escolar	19	7.5	3.66(3.69)	0.31-12.67	1.88		17	8.5	1.77(1.18)	0.10-4.07	1.50		
Fundamental	120	47.2	4.85(5.29)	0.10-26.86	2.88		91	45.3	1.27(1.33)	0.09-7.04	0.79		
Médio	67	26.4	3.88(4.16)	0.27-25.90	2.63		57	28.3	1.50(1.66)	0.15-7.81	0.96		
Superior	14	5.5	4.18(3.83)	0.40-12.96	3.13		7	3.5	0.56(0.38)	0.24-1.38	0.47		
Não alfabetizado	34	13.4	5.99(7.28)	0.18-41.82	4.50		7	3.5	0.83(0.26)	0.35-1.05	0.96		
Não informado							22	10.9	0.87(0.52)	0.17-1.85	0.76		

*Entre localidades. Anova um critério com transformação logarítmica de variáveis contínuas. Análise bivariada com t-Student. DP=desvio padrão, Q2=mediana.

Tabela 6. Níveis de MeHg em sangue e cabelo segundo grupo etário e gênero de residentes na cidade de Manoel Urbano, Acre, Brasil, 2012

Idade e gênero	MeHg em sangue ($\mu\text{g/L}^{-1}$)					MeHg em cabelo ($\mu\text{g/g}^{-1}$)				
	n	Média (DP)	Média geométrica (IC)	Mediana	Amplitude	n	Média (DP)	Média geométrica (IC)	Mediana	Amplitude
0-9	6	16.02(19.84)	9.54	8.30	2.02-55.50	5	7.08(2.88)	6.65	5.59	4.49-11.46
10-19	14	13.52(17.47)	6.99	7.43	0.71-67.71	12	4.19(2.02)	3.58	4.27	0.68-8.06
20-59	52	19.55(24.18)	10.45	10.07	0.37-134.19	51	7.09(4.88)	5.79	5.44	0.71-23.31
60-82	10	36.00(35.70)	18.57	17.90	3.80-95.20	19	10.55(7.92)	8.75	8.56	3.99-36.24
Total	82	20.27(24.96)	10.39	9.45	0.37-134.19	87	7.45(5.62)	5.98	5.63	0.68-36.24
Feminino	47	15.44(19.02)	9.00	7.49	0.73-95.16	56	6.95(4.60)	5.75	5.69	0.68-24.42
Masculino	35	26.76(30.32)	12.62	15.55	0.37-134.19	31	8.34(7.11)	6.41	5.59	0.71-36.24

MeHg= metilmercúrio, DP=desvio padrão, IC=intervalo de confiança

Tabela 7. Níveis de mercúrio total e metilmercúrio em músculo de peixes do rio Purus, município de Manoel Urbano, estado do Acre Brasil, 2012

Nome científico (espécie)	Nome local	Citação de consumo n(%)	Nível trófico	Hg Total $\mu\text{g.g}^{-1}$				MeHg $\mu\text{g.g}^{-1}$		
				n	Média±DP	Mediana	Amplitude	n	Média±DP	% MeHg
Serrasalmus spp	Piranha	6 (2,3)	Carnívoro	12	0.970±0.335	0.829	0.533-1.554	10	0.579±0.222	65.57
Rhaphiodon vulpinis	cf. Candiru	0 (0)	Carnívoro	6	2.922±1.808	2.197	1.566-6.371	6	1.285±0.338	43.97
Pterygoplichthys pardalis	Bodó	9 (3,5)	Detritívoro	9	0.061±0.022	0.059	0.034-0.104	9	0.041±0.015	67.21
Curimata amazonica	cf. Branquinha	131 (51,5)	Detritívoro	117	0.208±0.064	0.206	0.045-0.435	48	0.176±0.044	76.19
Prochilodus nigricans	cf. Curimata	46 (18,1)	Detritívoro	15	0.213±0.041	0.217	0.139-0.303	12	0.153±0.039	72.17
Leporinus spp	Aracu	54 (21,2)	Onívoro	9	0.154±0.051	0.154	0.064-0.223	6	0.124±0.050	90.51
Triportheus albus	Sardinha	17 (6,7)	Onívoro	3	0.678±0.092	0.648	0.605-0.783	2	0.565±0.195	79.02
Myleinae	Pacu	11 (4,3)	Onívoro	3	0.942±0.149	0.932	0.771-1.070	1	0.553*	71.72*
Pimelodus spp.	Mandii	155 (61,0)	Onívoro	47	0.311±0.274	0.256	0.118-1.845	35	0.254±0.255	76.73
Hypophthalmus spp.	Mapará	12 (4,7)	Planctófago s/onívoro	6	0.853±0.061	0.861	0.748-0.912	6	0.542±0.048	63.54
Plagioscion squamosissimus	Pescada Branca	26 (10,2)	Piscívoro	2	0.526±0.165	0.526	0.410-0.643	2	0.366±0.076	69.58
Hydrolycus sp.	Cachorro	5 (2,0)	Piscívoro	4	1.648±0.380	1.575	1.279-2.163	4	0.978±0.187	59.34
Total		254 (100)		233	0.390±0.585	0.224	0.034-6.371	141	0.307±0.320	63.69

*valor não é média pois se refere a uma amostra. Média de Hg-T ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em carnívoros 1,621±1,389; piscívoros 1,274±0,6538; planctófagos 0,8533±0,0615; onívoro 0,3326±0,2922; detritívoros 0,1998±0,0703. ANOVA um critério log de Hg-T $p<0,001$, $F=37,88$

4 Discussão

O estudo demonstrou elevada exposição ambiental ao mercúrio na cidade de Manoel Urbano, em níveis compatíveis com áreas de mineração e está associado ao consumo de peixe do rio Purus. A carga de mercúrio presente nos peixes pode ter possível influência da fonte antropogênica representada pela mineração de ouro de pequena escala que ocorre em áreas adjacentes à bacia do rio Purus antes da fronteira com o Brasil. Embora este rio tenha suas nascentes protegidas no Peru e percorra área de conservação ambiental na Província de Purus (departamento de Ucayali) e província Tahuamanu e Tambopata no departamento Madre de Dios, outros rios deste departamento são severamente afetados pelo impacto da mineração de ouro que nessa região é uma prática histórica ascendente nas últimas décadas (LANGELAND; HARDIN; NEITZEL, 2017).

Um estudo recente em 12 comunidades ribeirinhas do Departamento Madre de Dios no Peru, situadas antes e após a área de mineração de ouro mostrou maior nível de exposição nas comunidades situadas após a área de mineração no sentido da jusante dos rios Madre de Dios e tributários (WYATT *et al.*, 2017). Todavia, a estimativa da importância desse fator para a disponibilidade de mercúrio para a biota do rio Purus no município de Manoel Urbano necessita de estudos adicionais.

Outras fontes de mercúrio de potencial contribuição podem incluir a deposição atmosférica, a erosão do solo, o desmatamento, o alagamento sazonal das florestas marginais e os eventos hidrogeológicos extremos como as grandes enchentes que ocorrem periodicamente na bacia amazônica, carreando material em suspensão de longas distâncias no curso dos rios e tributários, além das características hidrogeológicas do rio Purus, de muitos meandros e lagos (RONCHAIL *et al.*, 2006; ESPINOZA *et al.*, 2013; 2014; MARENGO e ESPINOZA, 2015).

A redução da cobertura florestal na bacia do Purus no Brasil está concentrada em áreas próximas a algumas cidades do estado do Acre (situadas após Manoel Urbano) e do Amazonas e ainda não estaria causando um grande impacto na qualidade da água do rio, que poderia sofrer alteração mais provavelmente decorrente dos fatores climáticos e hidrológicos (RÍOS-VILLAMIZAR *et al.*, 2017). Em relação a inundações, estas podem interferir na capacidade de bioacumulação em algumas espécies de peixes que podem apresentar padrões diferentes de carga de mercúrio no período de cheias em relação ao período seco em bacias da Amazônia (BASTOS *et al.*, 2007).

Na Amazônia brasileira as populações ribeirinhas expostas ao metilmercúrio estão situadas principalmente nas bacias do rio Tapajós e do rio Madeira, onde estudos bem documentados tem sido realizados nas últimas décadas (SANTOS *et al.*, 2000; PINHEIRO *et al.*, 2007, BARBIERI; GARDON, 2009, MARINHO *et al.*, 2012, HACON *et al.*, 2016). Tal como visto em Manoel Urbano, nesses lugares o consumo de peixe está diretamente associado com o nível de exposição. Além disso, a quantidade desse alimento e as espécies de peixe ingeridas (segundo o nível trófico a que pertencem) podem influenciar na acumulação do mercúrio no organismo (PASSOS *et al.*, 2007; SOUZA-ARAÚJO *et al.*, 2016, WYATT *et al.*, 2017). Nosso estudo concorda com isso, pois os participantes com maior frequência de ingestão de peixe apresentavam teores mais altos e também aqueles que relataram o consumo de espécies onívoras como Mandii ($p=0,0089$ para Hg-T em sangue e $p=0,0143$ para Hg-T em cabelo) e detritívoras como Branquinha ($p=0,0437$ para Hg-T em cabelo) e Curimatá ($p=0,0143$ para Hg-T em sangue).

A carga de mercúrio acumulada também depende de como ocorrem os processos de assimilação e biodisponibilidade do mercúrio em peixes e humanos, pois diversos fatores tais como a nutrição, microbiota intestinal e genética podem influenciar essa biodisponibilidade (BRADLEY *et al.*, 2017). É bem conhecido que os peixes piscívoros e carnívoros são os que apresentam teores maiores de mercúrio e neste estudo espécies como peixe-cachorro, pescada branca, candiru e piranha confirmaram isso, com valores acima do limite de tolerância para peixes carnívoros e piscívoros que é $0,50\mu\text{g.g}^{-1}$ (WHO, 2003).

Os níveis mais críticos de Hg-T foram apresentados pelo peixe cachorro e candiru com mais de 1 ppm de Hg no tecido muscular. O elevado teor médio de Hg-T no candiru ($2,922\mu\text{g.g}^{-1}$) pode estar relacionado ao comportamento hematófago do animal que parasita brânquias de peixes maiores (ABELHA *et al.*, 2001). No entanto, também verificou-se alto nível de Hg-T em outros níveis tróficos como onívoros (pacu e sardinha) e planctófagos (mapará), superando até os teores apresentados por alguns carnívoros como pescada branca. No caso do mapará, apesar de ser considerado como tendo hábito especializado em zooplâncton, também pode apresentar um comportamento onívoro (ABELHA *et al.*, 2001).

Diversas espécies coletadas neste estudo são também citadas em um estudo de Bastos e colaboradores (BASTOS *et al.*, 2008) sobre 14 anos de coleta de peixes da bacia do rio Madeira (1987-2000), bacia vizinha a do rio Purus dentre as quais incluem-se peixe-cachorro ($1,020\mu\text{g.g}^{-1}$), pescada ($0,449\mu\text{g.g}^{-1}$), aracu ($0,100\mu\text{g.g}^{-1}$), curimatã ($0,118\mu\text{g.g}^{-1}$), mandii ($0,263\mu\text{g.g}^{-1}$) e mapará ($0,516\mu\text{g.g}^{-1}$), cujos teores médios de mercúrio mostraram-se menores que o verificado no presente estudo, indicando que a disponibilidade do mercúrio no

ambiente para a biota aquática tem atravessado décadas na região, sendo importante o monitoramento da situação. Castro *et al.* (2016) avaliaram os níveis de Hg-T em peixes de vários níveis tróficos do rio Purus, nas proximidades de Manoel Urbano e verificou a mesma ordem decrescente de magnitude de Hg-T encontrada em nosso estudo (carnívoros > piscívoros > planctófagos > onívoros > detritívoros), enfatizando o comportamento migratório de algumas espécies entre bacias da região.

Um padrão de exposição semelhante foi observado em homens e mulheres em nosso estudo ($p > 0,05$), como relatado em comunidades próximas a áreas de mineração de ouro na Pan-Amazônia (BARBIERI; GARDON, 2009; FAIAL *et al.*, 2014), inclusive na bacia do rio Madre de Díos no Peru (LANGELAND *et al.*, 2017). Contudo, a distribuição por grupos etários evidenciou maiores concentrações de Hg-T e MeHg em pessoas adultas e idosas sugerindo um processo cumulativo de mercúrio no organismo, o que foi corroborado pelo tempo de residência no município e pelos níveis de mercúrio no grupo de aposentados. Esse tempo prolongado de deposição de mercúrio em sistemas orgânicos pode potencializar o risco para a ocorrência de efeitos adversos, sobretudo levando em conta que o estudo demonstrou que a exposição é de fato ao metilmercúrio, forma mais tóxica e cuja síndrome afeta principalmente o sistema nervoso central (EKINO *et al.*, 2007).

A concomitância de riscos de doenças degenerativas frequentes em idosos com os riscos da elevada exposição ao mercúrio é uma questão que necessita ser acompanhada nessa população. Estudos realizados com maiores de 60 anos na Coreia do Sul para avaliar os níveis de mercúrio em sangue mostrou relação inversamente proporcional entre Hg-T e idade, diferindo do nosso estudo (LEE *et al.*, 2017). Além dos aposentados, outros grupos ocupacionais apresentaram níveis de mercúrio que se destacaram tais como agricultores e operários. Fatores que podem contribuir para isto seriam um elevado consumo de peixe e a disponibilidade desse alimento para grupos como os agricultores que praticam a pesca de subsistência em Manoel Urbano. Em Beja essa prática foi também presente nesse grupo ocupacional (2,5%).

No perfil de exposição em Manoel Urbano, houve influência da escolaridade quando relacionada aos níveis em sangue, porém não em cabelo. Choi e Park (2017) também encontraram associação de Hg-T em sangue e educação, no entanto diferente de nosso estudo, os níveis de Hg-T eram mais altos nos indivíduos com maior escolaridade. Em relação a ocupação, uma limitação deste estudo decorreu da metodologia de busca ativa em domicílio

utilizada que encontrou maior disponibilidade de donas de casa e estudantes para participarem do estudo, porém a distribuição etária e de gênero da população se mostrou adequada.

Foi evidenciada a exposição de crianças menores de 6 anos em Manoel Urbano, com teores de mercúrio em sangue e cabelo acima do valor de referência para populações não expostas ($8 \mu\text{g.l}^{-1}$ e $2 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, WHO, 1990). Assim, ressalta-se uma situação de vulnerabilidade das crianças a efeitos adversos do metilmercúrio, devido a fatores relacionados a transferência materno-fetal, o acúmulo do agente tóxico nos primeiros anos de vida e suas consequências para o desenvolvimento infantil (GRANDJEAN; BUDTZ-JØRGENSEN, 2010; CUSACK *et al.*, 2017,). A exposição infantil demanda a vigilância em saúde da população mesmo em áreas onde a exposição é baixa. Em diversas partes mundo, estudos têm demonstrado os riscos da exposição crônica ao mercúrio e seus compostos e efeitos no desenvolvimento neuropsicomotor e déficit de aprendizado quando a exposição se dá intra-útero ou na infância e adolescência (KARAGAS *et al.*, 2012; GRANDJEAN *et al.*, 2014; MARQUES *et al.*, 2016).

Os resultados deste estudo apontam uma situação de exposição ao mercúrio que pode refletir a realidade de outras cidades da bacia do rio Purus e bacias vizinhas no Acre. Existe a necessidade de um enfoque regional contextualizado sobre a exposição e efeitos do mercúrio nas populações das bacias hidrográficas internacionais na Amazônia e de esforços para reduzir o uso de Hg em consonância com a Convenção de Minamata e visando a cooperação para a vigilância da saúde das populações expostas ao mercúrio região.

5 Conclusão

Este estudo demonstrou que a exposição ao mercúrio na cidade ribeirinha de Manoel Urbano, Estado do Acre, é de origem ambiental fortemente associada ao consumo de peixe do rio Purus dos quais espécies carnívoras, piscívoras e planctófagos apresentaram níveis de mercúrio acima do limite de referência para consumo (WHO, 2003). Espécies que apresentaram níveis de mercúrio abaixo desse limite como as onívoras também podem contribuir para aumentar a exposição devido o seu alto consumo. Além da ingestão de peixe, outros fatores epidemiológicos que se mostraram influentes na exposição foram a idade, o tempo de residência e ocupações como agricultores e operários. Possivelmente, múltiplos fatores ambientais podem contribuir para sustentar a carga de mercúrio que circula entre ambiente, biota e humanos na área de estudo, não podendo desprezar-se nenhum deles sejam de origem natural ou antropogênica, incluindo impactos da mineração em bacias vizinhas,

pois os compartimentos ambientais ultrapassam fronteiras. Entretanto, são necessários estudos locais e regionais que esclareçam a importância e o nível de contribuição desses fatores para o cenário de exposição em bacias ainda consideradas bem conservadas como a bacia do rio Purus.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do Instituto Evandro Chagas-SVS-MS e da Agência de Cooperação Internacional do Japão-JICA no desenvolvimento do estudo. Agradecem também aos participantes voluntários de Manoel Urbano e Beja e a equipe da Seção de Meio Ambiente e da Secretaria Municipal de Saúde de Manoel Urbano e Beja que apoiaram o trabalho de campo.

Referências

- ABELHA, M. C. F. A.; AGOSTINHO, A. A.; GOULART, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Maringá**, v. 23, n. 2, p. 425-434, 2001.
- ARAÚJO, A. S. “**O barco da educação**”: história, cotidiano e educação em Santa Rosa do Purus-Ac. 2009. 116 f. Dissertação (Mestrado em Educação). Faculdade de Educação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
- BARBIERI, F. L.; GARDON, J. Hair mercury levels in Amazonian populations: spatial distribution and trends. **Int. J. of Health Geographics**, v. 8, p. 71, 2009.
- BASTOS, W. R. *et al.* Annual flooding and fish-mercury bioaccumulation in the environmentally impacted Rio Madeira (Amazon). **Ecotoxicology** v. 16, p. 341–346, 2007.
- BASTOS, W. R. *et al.* A description of mercury in fishes from the Madeira river basin, Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**. vol. 38, n. 3, p. 421 – 430, 2008.
- BRABO, E. S. *et al.* Assessment of mercury levels in soils, waters, bottom sediments and fish of Acre in Brazilian Amazon. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 147, p. 61-77, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 30 ago. 2013. Disponível em: https://freitag.com.br/files/uploads/2018/01/portaria_norma_490.pdf. Acesso em: 20 fev. 2018.
- BRADLEY, M. A.; BARST, B. D.; BASU, N. A review of mercury bioavailability in humans and fish. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 2017, 14, 169, DOI:10.3390/ijerph14020169
- CASTRO, N. S. S. *et al.* Mercury in fish and sedimento of Purus river, Acre State, Amazon. **Cad. Saud. Colet.**, v. 24, n. 3, p. 294-300, 2016.

CASTELLO, L. *et al.* The vulnerability of Amazon freshwater ecosystems. **Conservation Letters**, v. 6, n. 4, p. 217–229, 2013.

CHOI, Y. H.; PARK, S. K. Environmental exposure to lead, mercury and cadmium and hearing loss in adults and adolescents: KNHANES2010-2012. **Environ. Health Perspect.**, v. 125, n. 6, p. 067003, 2017.

CHO, Y. M. Fish consumption, mercury exposure, and the risk of cholesterol profiles: findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011. **Environ. Health and Toxicology**, v. 32, p. e2017014, 2017.

COSTA, M. L. *et al.* O mercúrio em praias cultivadas da bacia do Juruá no Estado do Acre. **Geochimica Brasiliensis**, v. 20, n. 2, p. 148-157, 2006.

CUSACK, L. K. *et al.* Regional and temporal trends in blood mercury concentrations and fish consumption in women of child bearing Age in the united states using NHANES data from 1999–2010. **Environ. Health**, v. 16, n. 1, p. 10, 2017.

DEAN, A. G. *et al.* Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.

DIRINGER, S. E. *et al.* River transport of mercury from artisanal and small-scale gold mining and risks for dietary mercury exposure in Madre de Dios, Peru. **Environ. Sci.: Processes Impacts**, v. 17, n. 2, p. 478-87, 2014.

EKINO, S. *et al.* Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **J. Neurological Sciences**, v. 262, p. 131–144, 2007.

ESPINOZA, J. C. *et al.* The major flood in the Amazonas river and tributaries (Western Amazon Basin) during the 1970–2012 Period: A focus on the 2012 flood. **J. Hidrometeorology**, v. 14, p. 1000-8, 2013.

ESPINOZA, J. C. *et al.* The extreme 2014 flood in south-western Amazon basin: the role of tropical subtropical South Atlantic SST gradient. **Environ. Res. Lett.**, v. 9, p. 124007, 2014.

FAIAL, K. *et al.* Mercury levels assessment in hair of riverside inhabitants of the Tapajós River, Pará State, Amazon, Brazil: Fish consumption as a possible route of exposure. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, v. 30, p. 66-76, 2014.

GRANDJEAN, P. *et al.* Neurotoxicity from prenatal and postnatal exposure to Methylmercury. **Neurotoxicol Teratol.** v. 43, p. 39–44, 2014.

GRANDJEAN, P. BUDTZ-JØRGENSEN, E. An ignored risk factor in toxicology: the total imprecision of exposure assessment. **Pure Appl Chem.** v. 82, n. 2, p. 383–391, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sinopse do Censo Demográfico 2010-Manoel Urbano**. 2011. Disponível em <<https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=1&uf=12>>. Acesso em 01.10.2015.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E AMBIENTAL DO PARÁ (IDESP). **Estatística Municipal- Abaetetuba**. Governo do Estado do Pará, Belém, 48 p., 2011.

JESUS, I. M. *et al.* Mercúrio em populações de áreas sem impacto ambiental da garimpagem de ouro na Amazônia brasileira, Estado do Acre, Brasil. In: **IX Congresso Brasileiro de Geoquímica**, Belém. p. 44-45, 2003.

KARAGAS, M. R. *et al.* Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. **Environ. Health Perspectives**, v. 120, n. 6, p. 799-806, 2012.

LANGELAND, A. L.; HARDIN, R. D.; NEITZEL, R. L. Mercury levels in human hair and farmed fish near artisanal and small-scale gold mining communities in the Madre de Dios river basin, Peru. **Int. J. Environ. Res. Public Health** v. 14, n. 3, p.302, 2017.

LECHER, P. J. *et al.* Elevated mercury concentrations in soils, sediments, water, and fish of the Madeira river basin, Brazilian Amazon: a function of natural enrichments?. **The Sci. of the Tot. Environ.**, v. 260, p. 87-86, 2000.

LEE, M. R. *et al.* Blood mercury concentrations are associated with decline in liver function in an elderly population: a panel study. **Environ. Health**, v. 16, n. 1, p. 17, 2017.

MALM, O. *et al.* Sequential hair mercury in mothers and children from a traditional riverine population of the rio Tapajós, Amazônia: Seasonal changes. **Environ Res.**, v. 110, n. 7, p. 705-9, 2010.

MARENGO, J. A.; ESPINOZA, J. C. Extreme seasonal droughts and floods in Amazonia: Causes, trends and impacts. **Int. J. Climatol.**, v. 36, n. 3, p. 1033-50, 2015.

MARINHO, J. S. *et al.* Mercury speciation in hair of children in three communities of the Amazon, Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 945963, 2014.

MARQUES, R. C. *et al.* Impact of organic mercury exposure and home delivery on neurodevelopment of Amazonian children. 2016. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.002>

PASSOS, C. J. S. *et al.* Epidemiologic confirmation that fruit consumption influences mercury exposure in riparian communities in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 105, p. 183–193, 2007.

PINHEIRO, M. C. N. *et al.* Mercury pollution and childhood in Amazon riverside villages. **Environment International**, v. 33, p. 56-61, 2007.

OUÉDRAOGO, O; CHÉTELAT, J.; AMYOT, M. Bioaccumulation and trophic transfer of mercury and selenium in African sub-tropical fluvial reservoirs food webs (Burkina Faso). **PLoS ONE**, v.10, n. 4, p. e0123048, 2015.

RÍOS-VILLAMIZAR, E. A. *et al.* Surface water quality and deforestation of the Purus river basin, Brazilian Amazon. **Int. Aquat. Res**, v. 9, p. 81–88, 2017.

- RONCHAIL, J. *et al.* Impact of the Amazon tributaries on major floods at Óbidos. **Climate Variability and Change—Hydrological Impacts** (Proceedings of the Fifth FRIEND World Conference held at Havana, Cuba, November 2006), IAHS Publ. 308, p. 220-225, 2006.
- ROULET, M. *et al.* Spatio-temporal geochemistry of mercury in waters of the Tapajos and Amazon rivers, Brazil. **Limnol. Oceanogr.**, v. 46, n. 5, p. 1141–1157, 2001.
- SANTOS, E. C. O. *et al.* Mercury exposure in riverside Amazon communities in Pará, Brazil. **Environmental Research**. v. 84, p. 100-07, 2000.
- SANTOS, E. C. O. *et al.* Exposure to mercury in the urban population, of Rio Branco city, state of Acre, Brazil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 69, p. 314-319, 2002.
- SANTOS, E. C. O. *et al.* A contribution to the establishment of reference values for total mercury levels in hair and fish in Amazonia. **Environmental Research**. Section A, v. 90, p. 6-11, 2002.
- SANTOS, E. C. O. *et al.* Mercúrio no rio Negro, Amazonas, Brasil- estudo preliminar de indicadores de exposição no pescado e em populações humanas. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 13, n. 1, p. 225 - 236, 2005.
- SOUZA-ARAÚJO, J. *et al.* Mercury and methyl mercury in fishes from Bacajá river (Brazilian Amazon): evidence for bioaccumulation and biomagnifications. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 249-63, 2016.
- SUZUKI, T. *et al.* **Mercury analysis manual**. Ministry of the Environment, Japan, 2004. 105p.
- SWENSON, J. J. *et al.* Gold mining in the peruvian Amazon: global prices, deforestation, and mercury imports. **Plos One**, v. 6, n. 4, e18875, 2011.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAM (UNEP). **Global Review of Mercury Monitoring network**. Geneve. Switzerland. 2016. 48 p.
- _____. **Global mercury supply, trade and demand**. Chemicals and Health Branch. Geneva, Switzerland. 96 p. 2017.
- _____. **Minamata Convention on Mercury**. Geneve. Switzerland. 2013. 62 p.
- WYATT, L. *et al.* Spatial, Temporal, and Dietary Variables Associated with Elevated Mercury Exposure in Peruvian Riverine Communities Upstream and Downstream of Artisanal and Small-Scale Gold Mining. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1582, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Programme on Chemical Safety. **Methylmercury**. Geneva. (Environmental Health Criteria 101), 1990.
- _____. **Elemental mercury and inorganic mercury compounds**. Geneva. Concise International Chemical Assessment Document 50. 68p., 2003.

4.2 ARTIGO 2

Associação de biomarcadores do metabolismo energético e a exposição ao mercúrio na Amazônia ocidental brasileira

Resumo

Este estudo avaliou a associação de biomarcadores do metabolismo energético com a exposição ambiental ao mercúrio em uma cidade da bacia do rio Purus, estado do Acre, Brasil. Uma avaliação comparativa foi desenvolvida na vila de Beja, bacia do rio Pará, estado do Pará. Foi realizado inquérito epidemiológico com coleta de sangue e cabelo para análise de mercúrio total (Hg-T) e de sangue para análise de lipoproteínas séricas (colesterol total, LDL, HDL, Triglicerídeos), glicemia, insulina e leptina. As análises de Hg-T foram realizadas por CVAAS. As lipoproteínas e glicemia foram analisadas por método enzimático automatizado. Insulina e leptina foram analisadas pelo método ELISA. As médias geométricas de Hg-T na cidade de Manoel Urbano foram $16,12 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue (IC 95% 13,63 a 19,07) e $4,22 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo (IC 95% 3,57 a 4,99). Em Beja as médias geométricas foram $4,29 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue (IC 95% 3,66 a 5,03) e $0,82 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo (IC 95% 0,70 a 0,97). Em Manoel Urbano, os maiores níveis de Hg-T em sangue foram observados em participantes com idade a partir de 40 anos ($p=0,007$), gênero masculino ($p=0,027$), peso normal ($p=0,049$), tabagistas ($p=0,007$), e que consomem duas ou mais refeições com peixe por semana ($p<0,000$). Os níveis de mercúrio em cabelo mostraram-se associados com idade igual ou superior a 40 anos ($p=0,003$), sobrepeso ($p=0,031$), consumo de duas ou mais refeições de peixe por semana ($p=0,000$) e hipertensão ($p=0,024$). Na vila de Beja os níveis de Hg-T em sangue foram maiores no grupo de idade de 40 a 59 anos ($p=0,046$) e em tabagistas ($p=0,026$). Os teores de Hg-T em cabelo não se mostraram associados com as variáveis analisadas. Verificou-se em Manoel Urbano associação positiva entre os níveis de Hg-T e as concentrações de colesterol total ($p=0,009$ para Hg-T em sangue e $p=0,0132$ em cabelo), LDL ($p=0,0303$ para Hg-T em sangue e $p=0,0365$ em cabelo) colesterol não HDL ($p=0,0041$ para Hg-T em sangue e $p=0,0157$ em cabelo), triglicerídeos ($p=0,0175$ para Hg-T em sangue e $p=0,048$ em cabelo) e leptina ($p=0,0254$ para Hg-T em cabelo), sugerindo possível interação entre a exposição e o perfil desses biomarcadores.

Palavras-chave: Mercúrio; Exposição; Lipoproteínas; Insulina; Leptina

Association of energy metabolism biomarkers and mercury exposure in the Brazilian western Amazon

Abstract

This study evaluated the association of energy metabolism biomarkers with the environmental mercury exposure in a city of the Purus river basin, Acre State, Brazil. A comparative evaluation was carried out in Beja village, Pará river basin, Pará State. An epidemiological survey was performed with blood and hair samples collection for total mercury analysis (T-Hg) and blood for serum lipoproteins analysis (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides), glycemia, insulin, and leptin. T-Hg analyzes were performed by CVAAS. Lipoproteins and glycemia were analyzed by automated enzymatic method. Insulin and leptin were analyzed by enzyme immunoassay. Geometric mean of T-Hg in Manoel Urbano city was $16.12 \mu\text{g.l}^{-1}$ in blood (95% CI 13.63 to 19.07) and $4.22 \mu\text{g.g}^{-1}$ in hair (95% CI 3.57 to 4.99). In Beja village geometric mean was $4.29 \mu\text{g.l}^{-1}$ in blood (95% CI 3.66 to 5.03) and $0.82 \mu\text{g.g}^{-1}$ in hair (95% CI 0.70 to 0.97). In Manoel Urbano, the highest levels of T-Hg in blood were observed in participants aged 40 and older ($p=0.007$), male ($p=0.027$) with normal weight ($p=0.049$), smokers ($p=0.007$) and who consumes two or more fish meals per week ($p<0.000$). Mercury levels in hair was associated with age over 40 years ($p=0.003$), overweight ($p=0.031$), consumption of two or more fish meals per week ($p=0.000$) and hypertension ($p=0.024$). In Beja village T-Hg levels in blood were highest in the age group of 40 to 59 years old ($p=0.046$) and in smokers ($p=0.026$). T-Hg levels in hair were not associated with any analyzed variables. It was found a positive association between T-Hg levels and total cholesterol ($p=0.009$ for T-Hg in blood and $p=0.0132$ in hair), LDL ($p=0.0303$ for T-Hg in blood and $p=0.0365$ in hair), non-HDL cholesterol ($p=0.0041$ for T-Hg in blood and $p=0.0157$ in hair), triglycerides ($p=0.0175$ for T-Hg in blood and $p=0.048$ in hair) and leptin ($p=0.0254$ for T-Hg in hair), suggesting a possible interaction between the exposure and these biomarkers profile.

Keywords: Mercury; Exposure; Lipoprotein; Insulin; Leptin

1 Introdução

O mercúrio é um agente químico de alta toxicidade com efeitos adversos dependentes da forma química, tempo de exposição e concentrações presentes no organismo humano, possuindo capacidade de atravessar barreiras biológicas (CLARKSON, 2003). O metilmercúrio é a forma mais biodisponível do mercúrio sendo adquirido pela ingestão de alimentos contaminados como peixes e frutos do mar e causou as manifestações clínicas nos indivíduos intoxicados que apresentaram a doença de Minamata no Japão identificada na década de 1950 e relacionada a poluição industrial (HA *et al.*, 2016).

Essa síndrome se caracteriza principalmente por sintomas e sinais neurológicos e a exposição ao mercúrio na fase intra-uterina levou ao aparecimento da forma congênita da doença (EKINO *et al.*, 2007). Desde então, estudos em várias partes do mundo tem verificado que populações sob exposição ambiental ao metilmercúrio podem ou não manifestar alterações clínicas e sub-clínicas e não somente relacionadas ao sistema nervoso central, porém envolvendo também outros sistemas orgânicos (FILLION *et al.*, 2006; GROTTTO *et al.*, 2010; ETTINGER *et al.*, 2014; GRANDJEAN *et al.*, 2014; WAHLBERG *et al.*, 2018, HA *et al.*, 2016).

Nesse sentido, estudos recentes tem investigado a associação da exposição ao metilmercúrio com alterações metabólicas e cardiovasculares, sugerindo possíveis danos sobre esses sistemas, embora com resultados controversos (KARAGAS *et al.*, 2012). Um estudo caso-controle sobre prevenção com dieta mediterrânea em espanhóis adultos com alto risco de doença cardiovascular não encontrou associação entre exposição ao mercúrio pelo consumo de peixe e aumento do risco dessa morbidade (DOWNER *et al.*, 2017). Um estudo com profissionais de saúde americanos não encontrou associação da exposição ao mercúrio com efeitos adversos como doença coronariana, infarto e doença cardiovascular (MOZAFFARIAN *et al.*, 2011) e também não houve associação do mercúrio com o desenvolvimento de diabetes (MOZAFFARIAN *et al.*, 2013).

Outros estudos tem demonstrado associação do mercúrio com a esclerose das artérias coronárias (SALONEN *et al.*, 2000; HOUSTON, 2011) e aumento da exposição ao mercúrio relacionada com o aumento de eventos coronários agudos e aumento da mortalidade cardiovascular (VIRTANEN *et al.*, 2005; 2012). A ação do MeHg promovendo a doença cardiovascular estaria relacionada ao papel de indutor de estresse oxidativo produzindo dano celular no sistema cardiovascular, dentre outros sistemas (KARAGAS *et al.*, 2012, GROTTTO

et al., 2010). Alguns estudos de coorte tem demonstrado que níveis elevados de mercúrio em sangue aumentam o risco de hipertensão (BAUTISTA *et al.*, 2009; FILLION *et al.*, 2006).

Os efeitos de compostos de mercúrio na inflamação, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), estresse do retículo endoplasmático e impactos nos sistemas enzimáticos anti-oxidantes tem sido demonstrados por estudos experimentais e clinico-epidemiológicos (USUKI *et al.*, 2008; GUMP *et al.*, 2012; TINKOV *et al.*, 2015; GENCHI *et al.*, 2017). Por mecanismos relacionados a esses efeitos, o mercúrio (inclusive o metilmercúrio) pode afetar a patogênese da síndrome metabólica, levando a disfunção das células β do pâncreas e inibindo a secreção de insulina, comprometendo o controle da glicose e podendo levar a resistência a insulina, favorecendo o diabetes tipo 2, além de dislipidemia (CHEN *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2015; TINKOV *et al.*, 2015).

A complexidade do controle metabólico envolve outros hormônios além da insulina dentre os quais a leptina, que primariamente atua no controle central da saciedade. Este hormônio está relacionado ao metabolismo energético e de reservas lipídicas do organismo, possuindo receptores específicos nos núcleos hipotalâmicos moduladores da ingesta alimentar e controle do gasto energético, sinalizando o estado nutricional do indivíduo e a sensação de saciedade (SZKUDELSKI, 2007; CASTRO *et al.*, 2015). Além dos mecanismos de controle do metabolismo, a leptina atua também na inflamação e nos distúrbios imunológicos, participando na gênese dessas alterações. Níveis séricos de leptina elevados podem estar associados com hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia (HAQUE *et al.*, 2006).

Estudos experimentais com compostos mercuriais verificaram a diminuição dos fatores de regulação de energia nos adipócitos com diminuição dos níveis séricos de leptina, *down* regulação da expressão do mRNA da leptina em adipócitos e redução do tamanho dos mesmos, indicando que o mercúrio poderia contribuir para acelerar o desenvolvimento de doenças metabólicas (KAWAKAMI *et al.*, 2012). Segundo Yamamoto *et al.* (2014), as alterações metabólicas observadas no diabetes tipo 2 que levam a ganho de peso podem estar associadas com o aumento da toxicidade pelo metilmercúrio, o que representaria risco para populações expostas a essa forma orgânica do mercúrio. A associação da exposição ao mercúrio com alterações no perfil de lipoproteínas plasmáticas também tem sido evidenciada em alguns estudos que relataram teores de mercúrio aumentados em sangue de indivíduos com fatores de risco para síndrome metabólica tais como colesterol total e triglicerídeos aumentados e lipoproteína de alta densidade-HDL diminuída (ETTINGER *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2017).

Existe lacuna de estudos sobre a influência do mercúrio no metabolismo da glicose e dos lipídeos em populações da Amazônia e em vista disso, este estudo avaliou a associação do perfil secretório de biomarcadores do metabolismo energético com a exposição ambiental ao mercúrio em uma cidade da bacia do rio Purus, estado do Acre, Brasil.

2 Métodos

2.1 Área e descrição do estudo

Este estudo foi desenvolvido na cidade de Manoel Urbano localizada na região central do estado do Acre, Amazônia brasileira ocidental, na margem direita do rio Purus. O grupo comparativo procedeu do distrito de Beja, Município de Abaetetuba, estado do Pará, com sede situada às margens da baía do Capim, rio Pará. Ambas as localidades não possuem registros conhecidos de fontes antropogênicas de exposição ao mercúrio.

Foi desenvolvido estudo seccional e inquérito epidemiológico com amostragem de conveniência, calculada com base na população de cada localidade, por meio do *software* EPIINFO (DEAN *et al*, 2011). Dentre os indivíduos que participaram do inquérito inicial em Manoel Urbano (n=254) e vila de Beja (n=201) foi selecionada uma sub-amostra dos grupos que apresentavam diferentes graus de exposição de acordo com referências da OMS (WHO, 1990). Para mercúrio em sangue $8 \mu\text{g.l}^{-1}$, de 8 a $29 \mu\text{g.l}^{-1}$ e $\geq 30 \mu\text{g.l}^{-1}$ e para mercúrio em cabelo $< 2 \mu\text{g.g}^{-1}$, de $2\text{-}5 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $\geq 6 \mu\text{g.g}^{-1}$. Esta sub-amostra totalizou 130 participantes em Manoel Urbano e 122 em vila de Beja. Foi utilizado questionário semi-estruturado para obtenção de dados demográficos e epidemiológicos como idade, gênero, consumo de peixe, tabagismo, etilismo, hipertensão e diabetes.

O inquérito epidemiológico foi desenvolvido por busca ativa. As medidas de peso e altura foram realizadas no posto de vigilância em saúde em cada localidade. O peso foi medido utilizando-se balança portátil digital com capacidade de 200 Kg e variação de 50 gramas (modelo BK55, Black +Decker, Towson, Maryland, EUA). A altura foi medida utilizando-se antropômetro portátil com faixa de uso de 1 mm até 2,50m, da marca Nutri-Vida (Nutri-Vida, São Paulo, Brasil). O cálculo do índice de massa corpórea (IMC) foi realizado dividindo-se o peso pelo produto da altura.

2.2 Coleta de materiais biológicos

Foi realizada dos participantes em jejum a coleta de sangue venoso de veia periférica (mediana), em tubos com e sem anticoagulante EDTA 10%, para análise de mercúrio e para as dosagens bioquímicas e hormonais, respectivamente. As amostras foram mantidas congeladas a -70°C até o momento das análises laboratoriais. As amostras de sangue sem EDTA foram centrifugadas em 3000 rotações por minuto durante 10 minutos, para a obtenção do soro utilizado nas dosagens supracitadas.

2.3 Análise de mercúrio total em sangue e cabelo

As análises de mercúrio total foram realizadas por espectrometria de absorção atômica por geração de vapor frio - CVAAS (AKAGI *et al*, 1996; SUZUKI *et al*, 2004). Para a análise de mercúrio total 0,5 ml de hemácias foram medidos com pipeta automática e colocados em balões volumétricos de 50 ml aos quais foi adicionado 2ml de $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (1:1), 5ml de H_2SO_4 e 1ml de H_2O e levado à placa aquecedora a 250°C por 20 minutos.

Após o aquecimento, a solução da amostra digerida foi completada até 50 ml com H_2O e uma alíquota foi introduzida no Analisador de Mercúrio HG 201 (K.K. Sanso corp.). Para o controle de qualidade, foram utilizados materiais de referência para sangue Whole Blood 3 (SeronormTM Trace Elements). Para a análise de mercúrio total em cabelo foram coletadas amostras de cabelo com cerca de 100 fios, cortados próximo ao couro cabeludo na região occipital, com tesoura de aço inoxidável, sendo as amostras acondicionadas em envelope branco e conservadas à temperatura ambiente até o momento da análise. Após lavagem e recorte dos fios, massas de 20 mg foram pesadas em balões volumétricos de 50 ml e submetidos aos procedimento analíticos já descritos. As análises de mercúrio foram desenvolvidas no Laboratório de Toxicologia da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas em Ananindeua, Pará, Brasil.

2.4 Dosagem de lipoproteínas plasmáticas, glicemia, insulina e leptina

As lipoproteínas Colesterol total (CT), HDL, triglicerídeos (TGs) e glicose foram analisadas por ensaio bioquímico automatizado (Roche Diagnostics GmbH, D-68298; COBAS Integra 400 Mannheim, Alemanha). LDL foi calculado de acordo com a

fórmula de Friedewald. Colesterol não HDL (NHDL-C) foi calculado pela diferença entre o colesterol total e o HDL. Os ensaios bioquímicos foram realizados no laboratório da Seção de Patologia do Instituto Evandro Chagas em Ananindeua, Pará. A insulina foi determinada pelo método imunoenzimático de fase sólida (DRG Instruments GMBH, Marburg, Alemanha). A leptina foi analisada pelo método imunoenzimático tipo sanduíche (DBC, Diagnostics Biochem Canada Inc., Ontario, Canadá). As análises de leptina e insulina foram realizadas em duplicata. Devido a insuficiência de amostra para análise de leptina nas amostras de Beja, não existem resultados disponíveis desse biomarcador para essa localidade.

2.4 Análise estatística

Foram elaboradas estatísticas de tendência central e dispersão para as variáveis contínuas e cálculo proporcional para as variáveis categóricas. Foram realizados testes de associação de variáveis como testes paramétricos (t – Student, Anova) e não paramétricos (qui-quadrado, teste de Fisher). Para ajuste de normalidade foi realizada transformação logarítmica com variáveis contínuas, após o teste de Shapiro-Wilks. A análise de dados foi realizada por meio dos programas Microsoft Excel 2007, MINITAB 17 e GraphPad PRISMA 6, considerando-se nível de significância de $p < 0,05$.

3 Resultados

A tabela 1 apresenta as variáveis epidemiológicas e metabólicas dos participantes do estudo. Na população geral a média de idade foi semelhante nas duas localidades (43,35 em Manoel Urbano e 41,96 em Beja, $p > 0,05$), variando entre homens e mulheres em cada localidade ($p < 0,05$). A prática de atividade física e o IMC também foram equivalentes entre Manoel Urbano e Beja, porém proporcionalmente os homens de Manoel Urbano se exercitavam mais do que as mulheres ($p = 0,0226$). O tabagismo e o consumo de álcool divergiram entre homens e mulheres e entre as localidades. Em Manoel Urbano havia mais participantes tabagistas do que em Beja (20,8% e 9,0%, respectivamente, $p = 0,0002$), ao contrário dos consumidores de bebida alcoólica que prevaleceram em Beja (37,7% e 23,2%, respectivamente, $p = 0,0089$).

O padrão médio de consumo de peixe por semana foi o mesmo nas duas localidades (cerca de 2 refeições por semana) e divergiu em Beja com maior consumo pelos homens (média de 2,57; $p = 0,0471$). As médias geométricas de Hg-T em Manoel Urbano foram 16,12

$\mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue (IC 95% 13,63 a 19,07) e $4,22 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo (IC 95% 3,57 a 4,99). Em Beja as médias geométricas foram $4,29 \mu\text{g.l}^{-1}$ em sangue (IC 95% 3,66 a 5,03) e $0,82 \mu\text{g.g}^{-1}$ em cabelo (IC 95% 0,70 a 0,97). Manoel Urbano apresentou altos teores de Hg-T em sangue e cabelo em relação a Beja ($p<0,0001$) e os homens naquela cidade apresentaram maiores níveis de Hg-T em sangue do que as mulheres ($p=0,0274$).

A concentração de lipoproteínas em participantes de Manoel Urbano foi maior do que em Beja em relação ao colesterol total (185 mg/dl e 172,5 mg/dl, respectivamente, $p=0,0304$) e colesterol não HDL (154,10 mg/dl e 135,70 mg/dl, respectivamente, $p=0,0013$). As mulheres de Beja apresentaram níveis maiores de HDL-C do que os homens ($p=0,0214$), entretanto estes apresentaram triglicerídeos mais elevados ($p=0,0076$). Os níveis de glicemia não divergiram entre gênero e localidades. Os participantes de Manoel Urbano apresentaram maiores concentrações de insulina do que os residentes de Beja (15,75 uIU/ml e 9,05 uIU/ml, respectivamente, $p<0,0001$). Como esperado, os níveis de leptina em mulheres foi mais elevado do que nos homens (6,19 ng/ml e 2,33 ng/ml, respectivamente, $p<0,0001$). A frequência de diabetes e hipertensão não divergiu nos participantes das duas localidades.

Os parâmetros acima citados analisados em relação a média geométrica dos níveis de mercúrio estão apresentados na tabela 2 (intervalo de confiança de 95%). Em Manoel Urbano os níveis mais elevados de Hg-T em sangue foram observados em pessoas a partir de 40 anos, homens, com peso normal, tabagistas, indivíduos que consomem a partir de 2 refeições de peixe por semana e que apresentaram colesterol total igual ou acima de 200 mg/dl, LDL igual ou acima de 130 mg/dl, colesterol não HDL igual ou acima de 160 mg/dl e triglicerídeos igual ou acima de 150 mg/dl. Os teores em cabelo mostraram-se associados com a idade a partir de 40 anos, sobrepeso, consumo de peixe a partir de 2 refeições por semana, colesterol total igual ou acima de 200 mg/dl, LDL igual ou acima de 130 mg/dl, leptina fora dos níveis de referência e presença de hipertensão arterial. Em Beja os níveis de Hg-T em sangue foram mais elevados na faixa etária de 40 a 59 anos e em tabagistas. Os teores em cabelo não apresentaram associação com nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela1. Características epidemiológicas e metabólicas dos participantes do estudo

Características	Manoel Urbano n=130				Vila de Beja n=122				
	Total	Homens	Mulheres	p-valor	Total	Homem	Mulheres	p-valor	*p-valor
Idade (média e DP)	43,35 (16,34)	48,58 (17,35)	40,41 (15,08)	0,0068	41,93 (16,79)	46,78 (16,94)	39,1 (16,15)	0,0143	0,5020
IMC Kg/m2 (média e DP)	27,49 (5,17)	27,51 (4,28)	27,47 (5,62)	0,9798	26,05 (5,54)	26,51 (5,36)	25,77 (5,68)	0,5404	0,0723
Atividade física				0,0226				0,1210	0,3459
Sim (%)	54 (43,2)	26(57,7%)	28(35%)		60 (49,2)	18 (40,0)	42 (54,5)		
Não (%)	71 (56,8)	19(42,2%)	52(65%)		62 (50,8)	27 (60,0)	35 (45,5)		
Tabagismo				0,0441				0,0052	0,0002
Atual (%)	26 (20,8)	9 (20,0)	17 (21,3)		11 (9,0)	5 (11,1)	6 (7,8)		
Anterior (%)	39 (31,2)	20 (44,4)	19 (23,7)		21 (17,2)	14 (31,1)	7 (9,1)		
Não (%)	60 (48,0)	16 (35,6)	44 (55,0)		90 (73,8)	26 (57,8)	64 (83,1)		
Etilismo				<0,0001				<0,0001	0,0089
Atual	29 (23,2)	14 (31,1)	15 (18,8)		46 (37,7)	26 (57,8)	20 (26,0)		
Anterior	38 (30,4)	22 (48,9)	16 (20,0)		20 (16,4)	11 (24,4)	9 (11,7)		
Não	58 (46,4)	9 (20,0)	49 (61,2)		56 (45,9)	8 (17,8)	48 (62,3)		
Consumo semanal de peixe (média ±DP)	2,32 (1,73)	2,25 (1,81)	2,46 (1,60)	0,5051	2,23 (1,22)	2,57 (1,30)	2,03 (1,14)	0,0471	0,6380
Mercúrio total MG(IC) Sangue µg/L ⁻¹	16,12 (13,63-19,07)	19,98 (14,62-27,32)	14,28 (11,75-17,37)	0,0274	4,29 (3,66-5,03)	4,00 (2,91-5,49)	4,48 (3,76-5,33)	0,4947	<0,0001
Cabelo µg/g ⁻¹	4,22 (3,57-4,99)	4,56 (3,33-6,25)	4,04 (3,31-4,93)	0,1768	0,82 (0,70-0,97)	0,72 (0,54-0,97)	0,89 (0,73-1,08)	0,2339	<0,0001

*Entre localidades. DP= desvio padrão, MG=média geométrica, IC=intervalo de confiança. Para variáveis atividade física, tabagismo, etilismo, diabetes e hipertensão foi utilizado teste de Qui-quadrado com correção de Yates ou teste de Fisher; para as demais foi utilizado teste t-Student bicaudal com transformação logarítmica para normalidade, quando necessário.

Tabela1. Características epidemiológicas e metabólicas dos participantes do estudo (continuação)

Características	Manoel Urbano n=130				Vila de Beja n=122				*p-valor
	Total	Homens	Mulheres	p-valor	Total	Homem	Mulheres	p-valor	
Colesterol total MG(IC)	185 (176,9-193,5)	176,5 (163,4-190,8)	190 (179,9-200,8)	0,1169	172,5 (165,0-180,4)	168,5 (154,9-183,2)	175,0 (166,2-184,3)	0,4135	0,0304
LDL mg/dl MG(IC)	101,30 (95,87-107,1)	101,7 (94,06-109,9)	101,1 (93,76-109,1)	0,7784	105,9 (98,49-114,00)	103,4 (90,01-118,80)	107,5 (98,72-117,00)	0,6150	0,0764
HDL mg/dl MG(IC)	36,39 (34,39-38,52)	35,51 (31,96-39,46)	36,91 (34,51-39,49)	0,5173	36,52 (34,14-39,07)	32,88 (29,09-37,17)	38,69 (35,75-41,86)	0,0214	0,6319
CNHDL mg/dl MG(IC)	154,10 (145,7-162,9)	146,0 (132,6-160,8)	158,80 (148,8-170,4)	0,1583	135,70 (128,90-143,0)	136,6 (124,2-150,2)	135,2 (127,1-143,9)	0,6992	0,0013
Triglicerídeos mg/dl GM(IC)	135,9 (124,2-148,8)	137,5(118,3-159,8)	135,1 (120,4-151,6)	0,8562	126,10 (116,5-136,6)	144,0 (126,1-164,4)	116,8 (106,0-128,6)	0,0076	0,2173
Glicemia mg/dl MG(IC)	84,07 (79,61-88,78)	86,83 (78,62-95,89)	82,59 (77,33-88,21)	0,3870	87,6 (83,7-91,68)	87,69(81,14-94,78)	87,54 (82,66-92,71)	0,9711	0,2542
Insulina uIU/mL MG(IC)	15,75 (13,99-17,74)	14,58 (11,37-18,69)	16,45 (14,5-18,66)	0,3357	9,05 (7,92-10,35)	10,18 (8,91-11,62)	8,43 (6,91-10,30)	0,1766	<0,0001
Leptina ng/ml MG (IC)	4,35 (3,47-5,46)	2,33 (1,57-3,44)	6,19 (4,81-7,96)	<0,0001	-	-	-	-	-

*Entre localidades. DP= desvio padrão, MG=média geométrica, IC=intervalo de confiança. Para variáveis atividade física, tabagismo, etilismo, diabetes e hipertensão foi utilizado teste de Qui-quadrado com correção de Yates ou teste de Fisher; para as demais foi utilizado teste t-Student bicaudal com transformação logarítmica para normalidade quando necessário.

Tabela1. Características epidemiológicas e metabólicas dos participantes do estudo (continuação)

	Manoel Urbano n=130				Vila de Beja n=122				*p-valor
	Total	Homens	Mulheres	p-valor	Total	Homem	Mulheres	p-valor	
Diabetes				0,5229				0,9941	0,1334
Não (%)	114 (91,2)	40 (88,9)	74 (92,5)		117 (95,9)	43 (95,6)	74 (96,1)		
Sim (%)	11 (8,8)	5 (11,1)	6 (7,5)		5 (4,1)	2 (4,4)	3 (3,9)		
Hipertensão arterial				0,2897				0,5880	0,2660
Não (%)	93 (74,4)	31 (68,9)	62 (77,5)		98 (80,3)	63 (86,3)	35 (71,4)		
Sim(%)	32 (25,6)	14 (31,1)	18 (22,5)		24 (19,7)	10 (13,7)	14 (28,6)		

*Entre localidades. DP= desvio padrão, MG=média geométrica, IC=intervalo de confiança. Para variáveis atividade física, tabagismo, etilismo, diabetes e hipertensão foi utilizado teste de Qui-quadrado com correção de Yates ou teste de Fisher; para as demais foi utilizado teste t-Student bicaudal com transformação logarítmica para normalidade quando necessário.

Tabela 2. –Média geométrica e intervalo de confiança (IC 95%) dos níveis de mercúrio em relação aos parâmetros epidemiológicos e metabólicos dos participantes do estudo

Variáveis	Manoel Urbano n=130					Vila de Beja n=122				
	%	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	p	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	p	Total (%)	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	p	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	p
Idade (anos)			0,0079		0,0037			0,0465		0,6977
20-39	66(52,8)	13,24(10,78-16,27)		3,32(2,68-4,12)		68 (55,7)	3,92(3,22-4,76)		0,84(0,67-1,05)	
40-59	34 (27,2)	19,72(14,37-27,05)		5,47(4,24-7,06)		28 (22,9)	6,15(4,44-8,52)		0,96(0,67-1,37)	
60+	25 (5,5)	20,60(12,62-33,61)		5,57(3,36-9,23)		26 (21,3)	3,71(2,44-5,64)		0,67(0,48-0,93)	
Gênero			0,0274		0,1768			0,4947		0,2339
Feminino	80(64)	14,28 (11,75-17,37)		4,04(3,31-4,93)		77 (63,1)	4,48(3,76-5,33)		0,89(0,73-1,08)	
Masculino	45(36)	19,98 (14,62-27,32)		4,56(3,33-6,25)		45 (36,9)	4,00(2,91-5,49)		0,72(0,54-0,97)	
IMC (kg/m ²)			0,0496		0,0319	N=111		0,7834		0,7885
<25	24(33,80)	22,02(16,33-29,72)		2,76(1,77-4,29)		56 (50,5)	4,20(3,33-5,29)		0,91(0,72-1,15)	
≥25	47(66,20)	14,19(10,95-18,42)		4,67(3,55-6,16)		55 (49,5)	4,36(3,42-5,56)		0,81(0,63-1,06)	
Atividade física			0,1772		0,0762			0,1071		0,0542
Sim										
Não	44 (35,2)	18,84(14,74-24,07)		5,18(4,10-6,52)		60 (49,2)	4,99(3,98-6,26)		0,97(0,75-1,25)	
	81(64,8)	14,81(11,84-18,53)		3,78(3,01-4,74)		62 (50,8)	3,71(2,98-4,63)		0,70(0,57-0,87)	
Tabagismo			0,007		0,0791			0,0261		0,9984
Atual	26 (20,8)	25,49(17,16-37,85)		5,58(3,87-8,04)		11(9,0)	7,72(4,19-		0,80(0,42-1,53)	
Anterior	39 (31,2)	16,07(11,58-22,29)		4,24(3,01-6,00)		21 (17,2)	14,23)		0,94(0,66-1,33)	
Não	60 (48,0)	13,24(10,67-16,44)		3,73(2,97-4,67)		90 (73,8)	3,63(2,42-5,44)		0,80(0,66-0,98)	
							4,16(3,47-4,98)			

Para as variáveis idade, tabagismo, etilismo e consumo de peixe foi utilizado Anova um critério, para as demais utilizou-se teste t-Student bicaudal. Teores de Hg-T em sangue e cabelo com transformação logarítmica para normalização.

Tabela 2. Média geométrica e intervalo de confiança (IC 95%) dos níveis de mercúrio em relação aos parâmetros epidemiológicos e metabólicos dos participantes do estudo (continuação)

Variáveis	Manoel Urbano n=130					Vila de Beja n=122				
	%	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	p	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	p	Total (%)	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	p	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	p
Etilismo										
Atual	29(23,2)	18,31(13,01-25,78)	0,0989	4,25(3,07-5,88)	0,3819	46 (37,7)	4,96(3,79-6,48)	0,4395	0,86(0,65-1,15)	0,5540
Anterior	38(30,4)	18,64(12,92-26,90)		4,92(3,55-6,81)		20 (16,4)	3,91(2,54-6,00)		0,75(0,53-1,07)	
Não	58(46,4)	13,75(11,02-17,17)		3,80(2,95-4,91)		56 (45,9)	3,95(3,14-4,97)		0,82(0,63-1,05)	
Consumo de peixe por semana (no. de refeições)			P<0,0001		0,0002			0,2055		0,7174
≤1	47 (37,6)	9,63(7,63-12,17)		2,80(2,14-3,68)		40 (32,8)	3,52(2,64-4,69)		0,84(0,64-1,11)	
2	39 (31,2)	16,95(13,15-21,86)		4,54(3,57-5,7)		40 (32,8)	4,93(3,68-6,61)		0,89(0,68-1,16)	
≥3	39 (31,2)	28,49(20,94-38,75)		6,42(4,67-8,82)		42 (34,4)	4,55(3,51-5,89)		0,75(0,54-1,04)	
Colesterol total	N=124		0,009		0,0132			0,3781		0,5096
<200 mg/dl	76 (61,3)	13,65(10,88-17,11)		3,62(2,87-4,55)		79 (64,7)	4,00(3,26-4,89)		0,81(0,66-0,99)	
≥200 mg/dl	48 (38,7)	21,38(16,84-27,13)		5,55(4,43-6,96)		43 (35,2)	4,90(3,78-6,35)		0,86(0,64-1,15)	
LDL			0,0303		0,0365	N=119		0,1062		0,3114
<130 mg/dl	98 (78,4)	14,64(12,08-17,75)		3,85(3,19-4,63)		84 (74,8)	4,00(3,30-4,84)		0,86(0,72-1,04)	
≥130 mg/dl	27 (21,6)	22,86(16,39-31,87)		5,91(4,02-8,69)		35 (29,4)	5,31(3,99-7,05)		0,72(0,50-1,03)	
HDL			0,6238		0,4489	N=110		0,3192		0,8399
<40 mg/dl	71 (56,8)	15,54(12,42-19,45)		3,99(3,17-5,03)		72 (65,5)	4,59(3,73-5,65)		0,84(0,67-1,06)	
≥40 mg/dl	54 (43,2)	16,91(13,02-21,97)		4,54(3,54-5,83)		38 (34,5)	3,84(2,83-5,19)		0,81(0,62-1,06)	

Para as variáveis idade, tabagismo, etilismo e consumo de peixe foi utilizado Anova um critério, para as demais utilizou-se teste t-Student bicaudal. Teores de Hg-T em sangue e cabelo com transformação logarítmica para normalização.

Tabela 2. Média geométrica e intervalo de confiança (IC 95%) dos níveis de mercúrio em relação aos parâmetros epidemiológicos e metabólicos dos participantes do estudo (continuação)

Variáveis	Manoel Urbano n=130					Vila de Beja n=122				
	%	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	<i>p</i>	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	<i>p</i>	Total (%)	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	<i>p</i>	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	<i>p</i>
Colesterol não-HDL	N=124		0,0041		0,0157	N=120		0,3202		0,3811
<160 mg/dl	64 (51,6)	12,84(9,95-16,58)		3,51(2,73-4,50)		84 (70,0)	4,07(3,35-4,94)		0,86(0,71-1,04)	
≥ 160 mg/dl	60 (48,4)	20,84(16,95-25,64)		5,27(4,24-6,54)		36 (30,0)	4,84(3,65-6,43)		0,73(0,52-1,01)	
Triglicerídeos	N=119		0,0175		0,0481			0,6741		0,1867
<150 mg/dl	65 (54,6)	13,50(10,39-17,53)		3,59(2,79-4,62)		81 (66,4)	4,40(3,63-5,33)		0,89(0,73-1,09)	
≥150 mg/dl	54 (45,4)	20,53(16,53-25,48)		5,08(4,04-6,39)		41 (33,6)	4,09(3,05-5,49)		0,71(0,53-0,94)	
Insulina uIU/mL			0,6560		0,5672	N=85		0,5718		0,7207
2-25	92 (73,6)	16,49(13,56-20,06)		4,35(3,61-5,24)		82 (96,5)	4,10 (3,36-5,01)		0,81 (0,66-0,99)	
<2≥25	33 (26,4)	15,13(10,72-21,36)		3,89(2,65-5,71)		3 (3,5)	3,89 (1,35-11,15)		0,89 (0,30-2,56)	
Leptina ng/ml			0,0652		0,0254					
Mulher 3,7-11,1; homem 2-5,6	59 (47,2)	14,69(11,88-18,15)		3,68(2,97-4,57)		-	-	-	-	-
Mulher ,<3,7≥11,1; homem<2≥5,6	66 (52,8)	17,52(13,51-22,72)		4,77(3,69-6,15)						
Glicemia			0,7112		0,3032			0,3780		0,2662
<100 mg/dl	103 (82,4)	15,97(13,31-19,16)		4,18(3,49-4,99)		103 (84,4)	4,17(3,51-4,94)		0,86(0,72-1,02)	
≥100 mg/dl	22 (17,6)	16,85(10,57-26,86)		4,43(2,70-7,28)		19 (15,6)	5,07(3,19-8,04)		0,66(0,42-1,04)	

Para as variáveis idade, tabagismo, etilismo e consumo de peixe foi utilizado Anova um critério, para as demais utilizou-se teste t-Student bicaudal. Teores de Hg-T em sangue e cabelo com transformação logarítmica para normalização.

Tabela 2. Média geométrica e intervalo de confiança (IC 95%) dos níveis de mercúrio em relação aos parâmetros epidemiológicos e metabólicos dos participantes do estudo (continuação)

Variáveis	Manoel Urbano n=130					Vila de Beja n=122				
	%	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	<i>p</i>	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	<i>p</i>	Total (%)	Média geométrica (IC) Hg em sangue µg/L	<i>p</i>	Média geométrica (IC) Hg em cabelo µg/L	<i>p</i>
Diabetes			0,8730		0,3058			0,8517		0,5012
Sim	11 (8,8)	15,43(8,27-28,75)		5,59(3,05-10,23)		5 (4,1)	4,62 (1,10-19,30)		0,63(0,15-2,60)	
Não	114 (91,2)	16,19(13,56-19,33)		4,11(3,44-4,90)		117 (95,9)	4,28(3,65-5,03)		0,83(0,70-0,98)	
Hipertensão arterial			0,2052		0,0244			0,9607		0,3868
Sim	32 (25,6)	19,72(13,56-28,68)		5,33(3,59-7,92)		24 (19,7)	4,33(2,76-6,79)		0,71(0,49-1,03)	
Não	93 (74,4)	15,04(12,46-18,15)		3,89(3,24-4,67)		98 (80,3)	4,29(3,62-5,07)		0,85(0,71-1,03)	

Para as variáveis idade, tabagismo, etilismo e consumo de peixe foi utilizado Anova um critério, para as demais utilizou-se teste t-Student bicaudal. Teores de Hg-T em sangue e cabelo com transformação logarítmica para normalização.

3 Discussão

Até onde temos conhecimento, este é o primeiro estudo que avalia a associação do mercúrio com o metabolismo energético nessa parte da Amazônia relacionada a bacia do rio Purus e sugere que os padrões séricos de lipoproteínas como LDL e colesterol não HDL e de hormônios como a leptina sejam sensíveis a níveis elevados de mercúrio. Os resultados demonstram que os residentes de Manoel Urbano estão mais expostos ao mercúrio do que os residentes de Beja. Os teores médios de Hg-T em cabelo encontrados em Manoel Urbano ($4,22 \mu\text{g.g}^{-1}$) são maiores que os níveis presentes em algumas áreas de mineração como Madre de Dios no Peru ($1,90 \mu\text{g.g}^{-1}$ na cidade de Porto Maldonado e $2,67 \mu\text{g.g}^{-1}$ em áreas mineiras próximas) (ASHE, 2012), porém são menores que aqueles encontrados na bacia do Tapajós em comunidades do município de Itaituba ($9,15 \mu\text{g.g}^{-1}$) (COSTA JUNIOR *et al.*, 2017) e em inquéritos populacionais na Ásia ($3,58 \mu\text{g.l}^{-1}$) (CHOI; PARK, 2017). Os níveis de Hg-T em sangue ($16,12 \mu\text{g.l}^{-1}$) são maiores que o encontrado por YOU *et al.* (2011) em coreanos adultos residentes de áreas costeiras ($7,99 \mu\text{g.l}^{-1}$) e menores que os teores de comunidades da bacia do rio Tapajós ($47,8 \mu\text{g.l}^{-1}$) (GROTTO *et al.*, 2010).

Alguns parâmetros foram semelhantes entre as localidades Manoel Urbano e Beja, favorecendo a comparação sobre a influência ou não do mercúrio (idade, IMC, consumo de peixe, LDL, HDL, triglicerídeos, diabetes e hipertensão). Destes, a idade estava associada com a elevação dos níveis de mercúrio em sangue e cabelo de Manoel Urbano, sugerindo um padrão de acumulação do mercúrio no organismo. Mesmo em Beja que apresentou níveis bem mais baixos de mercúrio, houve associação com a idade no caso de mercúrio em sangue. Estes resultados concordam com inquéritos nacionais realizados em países como os Estados Unidos e a República da Coreia que verificaram a maior exposição de adultos e idosos (LIU *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2017).

Os homens em Manoel Urbano estão mais expostos ao mercúrio do que as mulheres, possivelmente devido consumirem maior quantidade de peixe por refeição, entre outros fatores, já que a frequência de consumo foi semelhante entre eles. Park *et al.* (2017), em um estudo seccional inserido em uma coorte na Republica da Coréia avaliando a associação da obesidade com os níveis de mercúrio em indivíduos saudáveis evidenciou associação de altos níveis de Hg-T em sangue em homens, tabagistas, etilistas, alto IMC, maior nível glicêmico em jejum, com maior gordura visceral e que consumiam mais peixe (PARK *et al.*, 2017). Vários desses fatores também foram observados em nosso estudo com resultados semelhantes.

O IMC também mostrou associação com os níveis de Hg-T em Manoel Urbano porém, em sentido inversamente proporcional aos teores em sangue e diretamente proporcional aos teores em cabelo. A atividade física não se mostrou associada com os níveis de mercúrio em ambas as localidades, como também foi visto em outros estudos (PARK *et al.*, 2017). O tabagismo é frequentemente associado positivamente a níveis de mercúrio em sangue por representar um fator risco de exposição a agentes químicos e atuar contra as defesas orgânicas (LEE *et al.*, 2017; CHOI *et al.*, 2017). Esta associação também foi encontrada em ambas as localidades em nosso estudo sugerindo que esta condição não ocorreria somente com níveis elevados de Hg-T. O consumo de álcool não se mostrou associado aos níveis de mercúrio em nosso estudo, divergindo de outros autores (LEE *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2017).

O consumo de peixe é o indicador que costuma ser mais associado aos níveis de mercúrio mesmo em populações pouco consumidoras e expostas a baixos níveis e isto tem sido evidenciado em estudos locais e inquéritos nacionais (SANTOS *et al.*, 2000; 2002; PASSOS; MERGLER, 2008; DONG *et al.*, 2015; CHO, 2017). Neste estudo, esta variável foi fortemente associada a exposição ao mercúrio em Manoel Urbano, porém não em Beja. Possivelmente isto pode ser explicado por outros fatores como a possível diferença nos níveis de Hg-T nos peixes nas duas localidades, porém estes dados comparativos não estão disponíveis neste estudo, representando uma de suas limitações. Os níveis de mercúrio geralmente aumentam com o consumo de peixe dependendo do hábito alimentar da espécie (BASTOS *et al.*, 2008) e já é conhecida a existência de níveis elevados de mercúrio em peixes de várias bacias do Estado do Acre (BRABO *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2016).

Em Manoel Urbano, os parâmetros colesterol total, LDL, Colesterol não HDL e triglicerídeos mostraram associação com os níveis de mercúrio em sangue e cabelo (tabela 2). Nenhum dos parâmetros bioquímicos deste estudo se mostrou associado aos níveis de Hg-T em Beja. As evidências positivas da relação da exposição ao mercúrio com fatores relacionados a dislipidemia e síndrome metabólica tem sido apontada em diversos estudos (CHO, 2017; ETTINGER *et al.*, 2014; PARK *et al.*, 2017). Eom *et al.* (2013) encontrou associação desses fatores com os níveis de mercúrio em sangue, incluindo colesterol total e triglicerídeos em um estudo com 2114 coreanos saudáveis, sendo que a média geométrica vista naquele estudo ($3,90 \mu\text{g.l}^{-1}$) foi menor que a média encontrada em Manoel Urbano ($16,12 \mu\text{g.l}^{-1}$).

Cho (2017), comparando os níveis de mercúrio em sangue de indivíduos com níveis de colesterol alto, HDL baixo e triglicerídeo alto encontrou forte associação positiva entre a exposição ao mercúrio e a presença desses fatores de dislipidemia e síndrome metabólica,

resultados também encontrados por outros autores para várias lipoproteínas (ETTINGER *et al.*, 2014; KIM *et al.*; 2015). Estudos sobre a exposição ao mercúrio e a associação com o padrão secretório da insulina e indicadores de resistência a insulina como o HOMA-IR (Avaliação do Modelo de Homeostase para Resistência a Insulina) tem sido alvo de pesquisas recentes. Nessa avaliação, é possível que mesmo com níveis de insulina normais (como visto em nosso estudo) ocorra o aparecimento de resistência a insulina na população (KIM *et al.*, 2015; ROY; TREMBLAY; AYOTTE, 2017; LEE *et al.*, 2017).

A interação do mercúrio com o metabolismo energético das gorduras e açúcares pode estar relacionado a capacidade do agente tóxico de promover desregulação endócrina, disfunção das células β pancreáticas, alterações imunológicas, aumentar o estresse oxidativo, peroxidação lipídica e contribuir para processos inflamatórios, o que pode favorecer a aterosclerose, doença cardiovascular, diabetes e doenças degenerativas, dentre outras morbidades (KIM *et al.*, 2015, PARK *et al.*, 2017). Este estudo não encontrou associação entre os níveis glicêmicos e os teores de mercúrio nos participantes, concordando com outros estudos (ETTINGER *et al.*, 2014).

Embora a insulina interaja com outros hormônios como a leptina no metabolismo energético de várias maneiras, não tem sido dada atenção ao comportamento da leptina em populações expostas ao mercúrio. Além de atuar no controle da saciedade, este hormônio está envolvido no metabolismo basal, sistema imune e regula a secreção da insulina, dentre outros processos (ABELLA *et al.*, 2017) e também atua na doença cardiovascular e hipertensão arterial, especialmente em mulheres (DUANDUAN *et al.*, 2009). Estudos experimentais mostraram que a administração de compostos mercuriais promove diminuição dos níveis de leptina em adipócitos e no plasma (KAWAKAMI *et al.*, 2012).

Em um estudo sobre a exposição materno-fetal a metais houve associação dos níveis de chumbo e cádmio no sangue materno-fetal, porém não houve em relação ao mercúrio (ASHLEY-MARTIN *et al.*, 2015). Até o momento, nosso estudo é um dos raros trabalhos sobre avaliação da associação dos níveis de leptina em populações expostas ao mercúrio e verificamos em Manoel Urbano que os níveis de Hg-T em cabelo estavam associados com a concentração sérica de leptina ($p=0,0254$), havendo tendência de associação com os níveis de Hg-T em sangue ($p=0,0652$).

A ocorrência de hipertensão arterial em Manoel Urbano também mostrou associação com os teores de Hg-T em cabelo. Segundo Hong *et al* (2013), a contínua exposição ao mercúrio (que pode ser avaliada pelo indicador de longo tempo de exposição como é o cabelo) pode levar ao aumento da pressão arterial e contribuir para o desenvolvimento de

doença cardiovascular (HONG *et al.*, 2013). Nosso estudo não demonstrou associação entre os níveis de mercúrio e a presença de diabetes, semelhantemente a outros estudos (PARK *et al.*, 2017; MOZAFFARIAN *et al.*, 2011). No entanto, em um estudo de coorte com 3875 adultos jovens americanos foi evidenciada a associação com diabetes tipo 2 nos indivíduos mais expostos ao mercúrio (HE *et al.*, 2013).

Este estudo apresentou algumas limitações além daquelas já mencionadas. O modelo de corte transversal utilizado é uma delas, pois não permite avaliar causa e efeito como os estudos de coorte o fazem, além disso o número de participantes foi pequeno comparado a outros estudos. Apesar disso, foi possível evidenciar diferenças no comportamento de biomarcadores como colesterol total, o colesterol não HDL, triglicerídeos e leptina associadas positivamente a maior exposição ao mercúrio.

Embora os estudos populacionais sobre efeitos do mercúrio em sistemas complexos como o metabolismo lipídico e glicêmico apresentem resultados algumas vezes controversos, a toxicidade dos compostos mercuriais para esse sistema vem sendo esclarecida cada vez mais em estudos experimentais (HOUSTON *et al.*, 2011; HA *et al.*, 2016; GHIZONI *et al.*, 2017). Assim, estudos clínicos e epidemiológicos sobre biomarcadores desse sistema e outros fatores associados são necessários para avaliar a resposta do organismo em condições potencialmente danosas para a saúde como é o caso da alta exposição ambiental ao mercúrio na Amazônia.

4 Conclusão

Este estudo verificou pela primeira vez na Amazônia ocidental brasileira a associação entre biomarcadores do sistema energético e os níveis de exposição ao mercúrio em uma área sem mineração de ouro na bacia do rio Purus, Estado do Acre. A exposição apresentou magnitude intermediária em relação a outras bacias hidrográficas da Amazônia, com grande impacto ambiental e antropogênico como a bacia do rio Tapajós e bacia do rio Madre Dios (Peru). O estudo encontrou associação positiva entre os níveis de Hg-T e as concentrações séricas de colesterol total, LDL, colesterol não HDL, triglicerídeos e leptina sugerindo possível interação entre a exposição ao mercúrio e o perfil desses biomarcadores.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Instituto Evandro Chagas-SVS-MS e da Agência de Cooperação Internacional do Japão - JICA no desenvolvimento do estudo. Agradecem também aos participantes voluntários de Manoel Urbano e Beja e a equipe da Seção de Meio Ambiente e da Secretaria Municipal de Saúde de Manoel Urbano e de Abaetetuba que apoiaram o trabalho de campo.

Referências

- ABELLA, V. *et al.* Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v.13, n. 2, p. 100-109, 2017.
- AKAGI, H.; MALM, O.; BRANCHES, F. .J. P. Human exposure to mercury due to mining in the Amazon, Brazil - A Review. **Environmental Science** v. 4, p. 199-211, 1996.
- ASHE, K. Elevated mercury concentrations in humans of Madre de Dios, Peru. 2012. PLoS ONE 7(3): e33305. doi:10.1371/journal.pone.0033305
- ASHLEY-MARTIN, J. *et al.* Maternal blood metal levels and fetal markers of metabolic function. **Environmental Research**, v. 136, p. 27–34, 2015.
- BASTOS, W. R. *et al.* A description of mercury in fishes from the Madeira river basin, Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**. v. 38, n. 3, p. 421-430, 2008.
- BAUTISTA, L. E. *et al.* Association of blood and hair mercury with blood pressure and vascular reactivity. **WMJ**, v. 108, n. 5, p. 250–252, 2009.
- BRABO, E. S. *et al.* Assessment of mercury levels in soils, waters, bottom sediments and fish of Acre in Brazilian Amazon. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 147, n. 1-4, p. 61-77, 2003.
- CASTRO, N. S. S. *et al.* Mercury in fish and sediment of Purus river, Acre State, Amazon. **Cad. Saud. Colet.**, v. 24, n. 3, p. 294-300, 2016.
- CASTRO, M. A. *et al.* Sex differences in serum leptin and its relation to markers of cardiometabolic risk in middle-aged adults: Evidence from a population-based study. **Nutrition**, v.31, p. 491–497, 2015.
- CHEN, Y. W. *et al.* Methylmercury induces pancreatic β cell apoptosis and dysfunction. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 19, p. 1080-1085, 2006.
- CHO, Y. M. Fish consumption, mercury exposure, and the risk of cholesterol profiles: findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011. **Environmental Health and Toxicology**, v. 32, p. e2017014, 2017.

CHOI, Y. H.; PARK, S. K. Environmental exposure to lead, mercury, and cadmium and hearing loss in adults and adolescents: KNHANES2010–2012. **Environmental Health Perspectives**, v 125, n. 6, p. 067003, 2017.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L.; MYERS, G. J. The toxicology of mercury — current exposures and clinical manifestations. **N Engl J Med.**, v. 349, p. 1731-7, 2003.

COSTA-JUNIOR, J. M. F. *et al.* Emotional and motor symptoms in riverside dwellers exposed to mercury in the Amazon. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 20, n. 2, p. 212-224, 2017.

DEAN, A. G. *et al.* Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.

DONG, Z. *et al.* A longitudinal study of mercury exposure associated with consumption of freshwater fish from a reservoir in rural south central USA. **Environ Res.**, v. 136, p. 155–162, 2015.

DOWNER, M. K. *et al.* Mercury exposure and risk of cardiovascular disease: a nested casecontrol study in the PREDIMED (PREvention with MEDiterranean Diet) study. **BMC Cardiovascular Disorders** v. 17, n. 1, p. 9, 2017.

DUANDUAN, M. *et al.* Leptin is associated with blood pressure and hypertension in women from the national heart, lung, and blood. **Hypertension**, v. 53, p.473-479, 2009.

EKINO, S. *et al.* Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, p. 131–144, 2007.

EOM, S. Y. *et al.* Reference levels of blood mercury and association with metabolic syndrome in Korean adults. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 87, n. 5, p. 501-13, 2013.

ETTINGER, A. S. *et al.* Distribution of metals exposure and associations with cardiometabolic risk factors in the “Modeling the Epidemiologic Transition Study”. **Environmental Health**, v. 13, p. 90, 2014.

FILLION, M. *et al.* A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. **Environmental Health: A Global Access Science Source**, v. 5, p. 29, 2006.

GENCHI, G. *et al.* Mercury exposure and heart diseases. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 14, n. 1, p. 74, 2017.

GHIZONI, H. *et al.* Superoxide anion generation and oxidative stress in methylmercury-induced endothelial toxicity in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 38, p. 19–26. 2017.

GRANDJEAN, P. *et al.* Neurotoxicity from prenatal and postnatal exposure to Methylmercury. **Neurotoxicol Teratol.**, v. 43, p. 39–44, 2014.

- GROTTO, D. *et al.* Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 806-811, 2010.
- GUMP, B. B. *et al.* Fish consumption, low-level mercury, lipids, and inflammatory markers in children. **Environ Res.** 2012 January ; v. 112, p. 204–211, 2012.
- HA, E. *et al.* Current progress on understanding the impact of mercury on human health. **Environ. Res.**, v. 152, p. 419-433, 2016.
- HAQUE, Z. *et al.* Serum leptin levels correlation with high blood pressure in adult females. **J. Coll. Physicians Surg. Pak.**, v. 16, n. 7, p.:450-4, 2006.
- HE, K. A. *et al.* Mercury exposure in young adulthood and incidence of diabetes later in life, **Diabetes Care**, v. 36, n. 6, p. 1584-9, 2013.
- HONG, D. *et al.* Hair mercury level in smokers and its influence on blood pressure and lipid metabolism. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 36, p. 103-107, 2013.
- HOUSTON, M. C. Role of mercury toxicity in hypertension, cardiovascular disease, and stroke. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 13, p. 621-627, 2011.
- KARAGAS, M. R. *et al.* Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 6, p. 799-806, 2012.
- KAWAKAMI, T. *et al.* Differential effects of cobalt and mercury on lipid metabolism in the white adipose tissue on high-fat diet-induced obesity mice. **Toxicol Appl Pharmacol.**, v. 258, p. 32-42, 2012.
- KIM, T., JEONG, J. H., HONG, S.-C.. The impact of sleep and circadian disturbance on hormones and metabolism. **International Journal of Endocrinology**, v. 2015, p. 591729, 2015.
- LEE, M. R. *et al.* Blood mercury concentrations are associated with decline in liver function in an elderly population: a panel study. **Environ. Health.** v. 16, n. 1, p. 17, 2017.
- LEE, S. H. *et al.* The cut-off value of blood mercury concentration in relation to insulin resistance. **Journal of Obesity & Metabolic Syndrome**, v. 26, p. 197-203, 2017.
- LIU, Y. *et al.* Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. **Environmental Research**, v. 160, p. 212–222, 2018.
- MOZZAFARIAN, D. *et al.* Mercury exposure and risk of cardiovascular disease in two U.S. cohorts. **N Engl J Med.**, v. 364, n. 12, p. 1116–1125, 2011.
- MOZZAFARIAN, D. *et al.* Methylmercury exposure and incident diabetes in U.S. men and women in two prospective cohorts. **Diabetes Care**, v. 36, p. 3578–3584, 2013.

NEGRÃO, A.B.; LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 205-14, 2000.

PASSOS, C. J. S.; MERGLER, D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, Sup. 4, p. S503-S520, 2008.

PARK, J. S. *et al.* Association between blood mercury level and visceral adiposity in adults. **Diabetes Metab J.**, v. 41, p. 113-120, 2017.

ROY, C.; TREMBLAY, P. Y.; AYOTTE, P. Is mercury exposure causing diabetes, metabolic syndrome and insulin resistance? A systematic review of the literature. **Environmental Research**, v. 156, p. 747–760, 2017.

SALONEN, J. T. *et al.* Mercury accumulation and accelerated progression of carotid atherosclerosis: a population-based prospective 4-year follow-up study in men in eastern Finland. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 148, n. 2, p. 265-73, 2000.

SANTOS, E. C. O. *et al.* Mercury exposure in riverside Amazon communities in Pará, Brazil. **Environmental Research**. v. 84, p. 100-07, 2000.

SANTOS, E. C. O. *et al.* Exposure to mercury in the urban population, of Rio Branco city, state of Acre, Brazil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 69, p. 314-319, 2002.

TINKOV, A. A. *et al.* Mercury and metabolic syndrome: a review of experimental and clinical observations. **Biometals**, v. 28, n. 2, p. 231-54, 2015.

SUZUKI, T. *et al.* Mercury analysis manual. Ministry of the Environment, Japan, 2004. 105p.

SZKUDELSKI, T. Intracellular mediators in regulation of leptin secretion from adipocytes. **Physiol. Res.**, v. 56, p. 503-512, 2007.

USUKI, F.; FUJITA, E.; SASAGAWA, N. Methylmercury activates ASK1/JNK signaling pathways, leading to apoptosis due to both mitochondria- and endoplasmic reticulum (ER)-generated processes in myogenic cell lines. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 22–30, 2008.

VIRTANEN, J. K. *et al.* Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 25, p. 228-233, 2005.

VIRTANEN, J.K. Serum long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids, mercury, and risk of sudden cardiac death in men: a prospective population-based study. **Plos One**, v. 7, n. 7, p. e41046, 2012.

WAHLBERG, K. *et al.* Maternal polymorphisms in glutathione-related genes are associated with maternal mercury concentrations and early child neurodevelopment in a population with a fish-rich diet. **Environment International**, v. 115, p. 142–149. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Programme on Chemical Safety. **Methylmercury**. Geneva. (Environmental Health Criteria 101), 1990.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou a associação do mercúrio com o metabolismo energético na Amazônia ocidental, bacia do rio Purus e seus achados sugerem que os padrões séricos de lipoproteínas como LDL e colesterol não HDL e de hormônios como a leptina sejam sensíveis a níveis elevados de mercúrio. Os resultados demonstram que os residentes de Manoel Urbano estão mais expostos ao mercúrio do que os residentes de Beja. Os teores médios de Hg-T encontrados em Manoel Urbano são de magnitude intermediária entre níveis de bacias com mineração de ouro como a bacia do rio Tapajós e a bacia do rio Madre de Dios (Peru).

A exposição ao mercúrio em Manoel Urbano, Estado do Acre, é de origem ambiental fortemente associada ao consumo de peixe do rio Purus dos quais espécies carnívoras, piscívoras e planctófagos apresentaram níveis de mercúrio acima do limite de referência para consumo. Espécies que apresentaram níveis de mercúrio abaixo desse limite como as onívoras também podem contribuir para aumentar a exposição devido o seu alto consumo. Além da ingestão de peixe, outros fatores epidemiológicos que se mostraram influentes na exposição foram a idade, o tempo de residência e ocupações como agricultores e operários.

Possivelmente, múltiplos fatores ambientais podem contribuir para sustentar a carga de mercúrio que circula entre ambiente, biota e humanos na área do estudo, não podendo desprezar-se nenhum deles sejam de origem natural ou antropogênica, contudo, são necessários estudos locais e regionais que esclareçam a importância e o nível de contribuição desses fatores para o cenário de exposição em bacias ainda consideradas bem conservadas como a bacia do rio Purus.

O consumo de peixe é o indicador mais fortemente associado a exposição ao mercúrio em Manoel Urbano, porém não em Beja. Provavelmente isto poderia se relacionar com outros fatores como a possível diferença nos níveis de Hg-T nos peixes nas duas localidades. A idade estava associada com a elevação dos níveis de mercúrio em sangue e cabelo de Manoel Urbano, sugerindo um padrão de acumulação do mercúrio no organismo. Mesmo em Beja que apresentou níveis bem mais baixos de mercúrio, houve associação com a idade no caso de mercúrio em sangue. Os homens em Manoel Urbano estão mais expostos ao mercúrio do que as mulheres, possivelmente devido consumirem maior quantidade de peixe por refeição, entre outros fatores, já que a frequência de consumo foi semelhante entre eles.

O IMC também mostrou associação com os níveis de Hg-T em Manoel Urbano porém, em sentido inversamente proporcional aos teores em sangue e diretamente proporcional aos teores em cabelo. A atividade física não se mostrou associada com os níveis de mercúrio em

ambas as localidades. O tabagismo foi outro fator associado aos níveis de Hg-T em ambas as localidades sugerindo que esta condição não ocorreria somente com níveis elevados de Hg-T.

Em Manoel Urbano, os parâmetros colesterol total, LDL, Colesterol não HDL e triglicerídeos mostraram associação com os níveis de mercúrio em sangue e cabelo. A interação do mercúrio com o metabolismo energético das gorduras e açúcares pode estar relacionado a capacidade do agente tóxico de promover desregulação endócrina, disfunção das células β pancreáticas, alterações imunológicas, aumentar o estresse oxidativo, peroxidação lipídica e contribuir para processos inflamatórios, o que pode favorecer a aterosclerose, doença cardiovascular, diabetes e doenças degenerativas, dentre outras morbidades (GUMP *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2015; TINKOV *et al.*, 2015).

Embora a insulina interaja com outros hormônios como a leptina no metabolismo energético de várias maneiras, não tem sido dada atenção ao comportamento da leptina em populações expostas ao mercúrio. Até o momento, nosso estudo é um dos raros trabalhos sobre avaliação da associação dos níveis de leptina em populações expostas ao mercúrio e verificamos em Manoel Urbano que os níveis de Hg-T em cabelo estavam associados com a concentração sérica de leptina ($p=0,0254$), havendo tendência de associação com os níveis de Hg-T em sangue ($p= 0,0652$).

A ocorrência de hipertensão arterial em Manoel Urbano também mostrou associação com os teores de Hg-T em cabelo. A contínua exposição ao mercúrio (que pode ser avaliada pelo indicador de longo tempo de exposição como é o cabelo) pode levar ao aumento da pressão arterial e contribuir para o desenvolvimento de doença cardiovascular. Nosso estudo não demonstrou associação entre os níveis de mercúrio e a presença de diabetes.

Este estudo apresentou algumas limitações como o modelo de corte transversal utilizado, pois não permite avaliar causa e efeito. Além disso, o número de participantes foi pequeno comparado a outros estudos. Apesar dessas limitações, foi possível evidenciar diferenças no comportamento de biomarcadores como colesterol total, HDL, colesterol não HDL, triglicerídeos e leptina associadas positivamente a uma maior exposição ao mercúrio.

Embora os estudos populacionais sobre efeitos do mercúrio em sistemas complexos como o metabolismo lipídico e glicêmico apresentem resultados algumas vezes controversos, a toxicidade dos compostos mercuriais para esse sistema vem sendo evidenciada cada vez mais em estudos experimentais. Assim, estudos sobre biomarcadores e outros fatores associados em populações são necessários para avaliar a resposta do organismo em condições potencialmente danosas para a saúde como é o caso da alta exposição ambiental ao mercúrio

na Amazônia. Estes estudos são necessários para entender o potencial preditivo desses biomarcadores na avaliação de efeitos sub-clínicos e clínicos da exposição.

REFERÊNCIAS

ABDULFATAI B. *et al.* Type 2 Diabetes Mellitus: a review of current trends. **Oman Medical Journal**, v. 27, n. 4, p. 269-273, 2012.

ABELHA, M. C. F. A.; AGOSTINHO, A. A.; GOULART, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 425-434, 2001.

ABELLA, V. *et al.* Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. **Nature Reviews Rheumatology**, v.13, n. 2, p. 100-109, 2017.

AHLQVIST, E. *et al.* Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. **The Lancet Diabetes-Endocrinology**, v. 6, n. 5, p. 361-369, 2018.

AKAGI, H.; MALM, O.; BRANCHES, F. J. P. Human exposure to mercury due to mining in the amazon, Brazil: a review. **Environmental Science**, v. 4, p.199-211, 1996.

ARAÚJO, A. S. “**O barco da educação**”: história, cotidiano e educação em Santa Rosa do Purus-AC. 2009. 116 f. Dissertação (Mestrado em Educação) – Faculdade de Educação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

ASHE, K. Elevated mercury concentrations in humans of Madre de Dios, Peru. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. e33305, 2012. DOI10.1371/journal.pone.0033305.

ASHLEY-MARTIN, J. *et al.* Maternal blood metal levels and fetal markers of metabolic function. **Environmental Research**, v. 136, p. 27-34, 2015.

BAKIR, F. *et al.* Clinical and epidemiological aspects of methylmercury poisoning. **Postgraduate Medical Journal**, v. 56, p. 1-10, 1980.

BARBIERI, F. L.; GARDON J. Hair mercury levels in Amazonian populations: spatial distribution and trends. **International Journal of Health Geographics**, v. 8, 2009. DOI10.1186/1476-072X-8-71

BASTOS, W. R. *et al.* Annual flooding and fish-mercury bioaccumulation in the environmentally impacted Rio Madeira (Amazon). **Ecotoxicology**, v. 16, p. 341-346, 2007.

BASTOS, W. R. *et al.* A description of mercury in fishes from the Madeira river basin, Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 421-430, 2008.

BAUTISTA, L. E. *et al.* Association of blood and hair mercury with blood pressure and vascular reactivity. **WMJ**, v. 108, n. 5, p. 250-252, 2009.

BJØRKLUND, G. *et al.* The toxicology of mercury. **Environmental Research**, v. 159, p. 545-554, 2017.

BOISCHIO, A. A.; CERNICHIARI, E. Longitudinal hair mercury concentration in riverside mother along the upper Madeira river (Brasil). **Environmental Research**, v. 77, n. 2, p. 79-83, 1998.

BOSE-O'REILY, S. *et al.* Mercury exposure and children's health. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 40, n. 8, p. 186-215, 2010.

BRABO, E. S. *et al.* Assessment of mercury levels in soils, waters, bottom sediments and fish of Acre in Brazilian Amazon. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 147, p. 61-77, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 30 ago. 2013. Disponível em: https://freitag.com.br/files/uploads/2018/01/portaria_norma_490.pdf. Acesso em: 20 fev. 2018.

BRADLEY, M. A.; BARST, B. D.; BASU, N. A review of mercury bioavailability in humans and fish. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 2, 2017. DOI 10.3390/ijerph14020169.

BRATANOVA-TOCHKOVA, T. K. *et al.* Triggering and augmentation mechanisms, granule pools, and biphasic insulin secretion. **Diabetes**, v. 51, suppl. 1, p. S83-S90, 2002.

CÂMARA, V. M.; SILVA, A. P. **Mercury exposure and health effects among urban residents due to gold commercialization in Poconé, MT, Brazil**. [Rio de Janeiro]: CETEM: CNPq, 1997. (Série Tecnologia Mineral, 19).

CASTRO, N. S. S. *et al.* Mercury in fish and sediment of Purus river, Acre State, Amazon. **Cadernos Saúde Coletiva**, v.,24, n. 3, p. 294-300, 2016.

CASTRO, M. A. *et al.* Sex differences in serum leptin and its relation to markers of cardiometabolic risk in middle-aged adults: Evidence from a population-based study. **Nutrition**, v. 31, p. 491-497, 2015.

CASTELLO, L. *et al.* The vulnerability of Amazon freshwater ecosystems. **Conservation Letters**, v. 6, p. 217-229, 2013.

CASTILHOS, Z. Human exposure and risk assessment associated with mercury contamination in artisanal gold mining areas in the Brazilian Amazon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11255-64, 2015.

CHEN, Y. W. *et al.* Methylmercury induces pancreatic β cell apoptosis and dysfunction. **Chemical Research in Toxicology**, v. 19, p. 1080-1085, 2006.

CHO, Y. M.. Fish consumption, mercury exposure, and the risk of cholesterol profiles: findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011. **Environmental Health and Toxicology**, v. 32, p. e2017014, 2017.

CHOI, Y. H.; PARK, S. K. Environmental exposure to lead, mercury, and cadmium and hearing loss in adults and adolescents: knhanes2010–2012. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 6, p. 067003, 2017.

CLARKSON, T. W. The three modern faces of mercury. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, supp.1, p. 11-23, 2002.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L.; MYERS, G. J. The toxicology of mercury: current exposures and clinical manifestations. **New England Journal of Medicine**, v. 349, p. 1731-1737, 2003.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L. The Toxicology of mercury and its chemical compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 36, p. 609-662, 2006.

CLARKSON, T. W.; VYAS, J. B.; BALLATORI, N. Mechanisms of mercury disposition in the body. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 50, p. 757-764, 2007.

COSTA, M. L. *et al.* O mercúrio em praias cultivadas da bacia do Juruá no Estado do Acre. **Geochimica Brasiliensis**, v. 20, n. 2, p. 148-157, 2006.

COSTA-JUNIOR, J. M. F. *et al.* Emotional and motor symptoms in riverside dwellers exposed to mercury in the Amazon. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 2, p. 212-224, 2017.

CROWE, W. *et al.* Mercury as an environmental stimulus in the development of autoimmunity: a systematic review. **Autoimmunity Reviews**, v. 16, n. 1, p. 72-80, 2016.

CUSACK, L. K. *et al.* Regional and temporal trends in blood mercury concentrations and fish consumption in women of child bearing Age in the united states using NHANES data from 1999–2010. **Environmental Health**, v. 16, n. 1, p. 10, 2017.

DARDENO, T. A. *et al.* Leptin in human physiology and therapeutics. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 31, n. 3, p. 377-393, 2010.

DASHTY, M. A quick look at biochemistry: lipid metabolism. **Journal of Diabetes and Metabolism**, v. 46, n. 15, p. 1339-1352, 2014.

DEAN, A. G. *et al.* **Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals**. Atlanta, GA: CDC, 2011.

JESUS, I. M. *et al.* Exposure to elemental mercury in urban workers and gold miners from the Tapajos region, Pará, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 67, p. 317-323, 2001.

DESSI, M. *et al.* Atherosclerosis, dyslipidemia, and inflammation: the significant role of polyunsaturated fatty acids. **Inflammation**, v. 2013, p. 191823, 2013.

DIRINGER, S. E. *et al.* River transport of mercury from artisanal and small-scale gold mining and risks for dietary mercury exposure in Madre de Dios, Peru. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 17, n. 2, p. 478-487, 2014.

DONG, Z. *et al.* A longitudinal study of mercury exposure associated with consumption of freshwater fish from a reservoir in rural South Central USA. **Environmental Research**, v. 136, p. 155-162, 2015.

DOWNER, M. K. *et al.* Mercury exposure and risk of cardiovascular disease: a nested casecontrol study in the PREDIMED (PREvention with MEDiterranean Diet) study. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 17, n. 1, p. 9, 2017.

DUANDUAN M.*et al.* Leptin is associated with blood pressure and hypertension in women from the national heart, lung, and blood. **Hypertension**, v. 53, p. 473-479, 2009.

EKINO, S. *et al.* Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, p. 131-144, 2007.

EOM, S. Y. *et al.* Reference levels of blood mercury and association with metabolic syndrome in Korean adults. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 87, n. 5, p. 501-513, 2013.

ESPINOZA, J. C. *et al.* The major flood in the Amazonas river and tributaries (Western Amazon Basin) during the 1970–2012 Period: A Focus on the 2012 flood. **Journal of Hidrometeorology**, v. 14, p. 1000-1008, 2013.

ESPINOZA, J. C. *et al.* The extreme 2014 flood in south-western Amazon basin: the role of tropical subtropical South Atlantic SST gradient. **Environmental Research Letters**, v. 9, p. 124007, 2014.

ETTINGER, A. S. *et al.* Distribution of metals exposure and associations with cardiometabolic risk factors in the “Modeling the Epidemiologic Transition Study”. **Environmental Health**, v. 13, p. 90, 2014.

ETO, K.; MARUMOTO, M.; TAKEYA, M. The pathology of methylmercury poisoning (Minamata disease). **Neuropathology**, v. 30, p. 471-479, 2010.

FALUDI, A. A. *et al.* Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, suppl. 2, p. 1-76, 2017.

FAIAL, K. R. F. *et al.* Níveis de mercúrio em peixes do rio Trombetas no baixo Amazonas: uma área sem influência da garimpagem. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 13, p. 237-248, 2005.

FAIAL, K. *et al.* Mercury levels assessment in hair of riverside inhabitants of the Tapajós River, Pará State, Amazon, Brazil: Fish consumption as a possible route of exposure. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 30, p. 66-76, 2014.

FEINGOLD, K. R.; GRUNFELD, C. Introduction to lipids and lipoproteins. In: FEINGOLD, K. R. *et al.* (ed.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. (updated 2018 feb. 2). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>. Acesso em: 05.03.2018

FILLION, M. *et al.* A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. **Environmental Health**, v. 5, p. 29, 2006.

FUJIKAWA, T.; COPPARI, R. Living without insulin: the role of leptin signaling in the hypothalamus. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 108, 2015.

GARDNER, R. *et al.* Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: a cross-sectional study. **Environmental Research**, v. 110, p. 345-354, 2010.

GENCHI, G. *et al.* Mercury exposure and heart diseases. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 1, p. 74, 2017.

GHIZONI, H. *et al.* Superoxide anion generation and oxidative stress in methylmercury-induced endothelial toxicity in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 38, p. 19-26, 2017.

GONZALEZ-RAYMAT, H. *et al.* Elemental mercury: Its unique properties affect its behavior and fate in the environment. **Environmental Pollution**, v. 229, p. 69-86, 2017.

GRAEME, A. K.; POLLOCK, C. V. Heavy metal toxicity, part I: arsenic and mercury. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 16, n. 1, p. 45-56, 1998.

GRANDJEAN, P.; BUDTZ-JØRGENSEN, E. An ignored risk factor in toxicology: the total imprecision of exposure assessment. **Pure and Applied Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 383-391, 2010.

GRANDJEAN, P. *et al.* Neurotoxicity from prenatal and postnatal exposure to methylmercury. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 43, p. 39-44, 2014.

GROTTO, D. *et al.* Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 806-811, 2010.

GUMP, B. B. *et al.* Fish consumption, low-level mercury, lipids, and inflammatory markers in children. **Environmental Research**, v. 112, p. 204-211, 2012.

HA, E. *et al.* Current progress on understanding the impact of mercury on human health. **Environmental Research**, v. 152, p. 419-433, 2016.

HAQUE, Z. *et al.* Serum leptin levels correlation with high blood pressure in adult females. **Journal of College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 16, n. 7, p. 450-454, 2006.

HE, K. A. *et al.* Mercury exposure in young adulthood and incidence of diabetes later in life, **Diabetes Care**, v. 36, n. 6, p. 1584-1589, 2013.

HEO, Y.; LEE, W. T.; LAWRENCE, D. A. In vivo the environmental pollutants lead and mercury induce oligoclonal T cell responses skewed toward type-2 reactivities. **Cell Immunology**, v. 179, p. 185-195, 1997.

HONG, D. *et al.* Hair mercury level in smokers and its influence on blood pressure and lipid metabolism. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, p. 103-107, 2013.

HONG, Y. S.; KIM, Y. M.; LEE, K. E. Methylmercury exposure and health effects. **Journal of Preventive Medicine & Public Health**, v. 45, p. 353-363, 2012.

HOUSTON, M. C. Role of mercury toxicity in hypertension, cardiovascular disease, and stroke. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 13, n. 8, aug. 2011.

HUNTER, S. J.; GARVEY, W. T. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. **The American Journal of Medicine**, v. 105, p. 331-345, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sinopse do Censo Demográfico 2010-Manoel Urbano**. [S. l.]: IBGE, 2011. Disponível em: <https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=1&uf=12>. Acesso em: 01 out. 2015.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E AMBIENTAL DO PARÁ (IDESP). **Estatística municipal: Abaetetuba**. Belém: IDESP, 2011. 48 p.

JESUS, I. M. *et al.* Mercúrio em populações de áreas sem impacto ambiental da garimpagem de ouro na Amazônia brasileira, Estado do Acre, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GEOQUÍMICA, 9., 2003, Belém. **Anais [...]**. [S. l.: s. n.], 2003. p. 44-45.

KARAGAS, M. R. *et al.* Evidence on the human health Effects of low-level methylmercury exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 6, p. 799-806. 2012.

KAWAKAMI, T. *et al.* Differential effects of cobalt and mercury on lipid metabolism in the white adipose tissue on high-fat diet-induced obesity mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 258, n. 1, p. 32-42, 2012.

KELESIDIS, K. *et al.* Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. **Annals of Internal Medicine**, v. 152, n. 2, p. 93-100, 2010.

KIM, T.; JEONG, J. H.; HONG, S. C. The impact of sleep and circadian disturbance on hormones and metabolism. **International Journal of Endocrinology**, v. 2015, p. 591729, 2015.

LACERDA, L.D.; SALOMONS, W. Mercúrio na Amazônia: uma bomba relógio química?. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1992. 78 p.

LANGELAND, A. L.; HARDIN, R. D.; NEITZEL, R. L. Mercury levels in human hair and farmed fish near artisanal and small-scale gold mining communities in the Madre de Dios river basin, Peru. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 3, p. 302, 2017.

LECHER, P. J. *et al.* Elevated mercury concentrations in soils, sediments, water, and fish of the Madeira river basin, Brazilian Amazon: a function of natural enrichments? **The Science of the Total Environment**, v. 260, p. 87-86, 2000.

LEE, M. R. *et al.* Blood mercury concentrations are associated with decline in liver function in an elderly population: a panel study. **Environmental Health**, v. 16, n. 1, p. 17, 2017.

LEE, S. H. *et al.* The cut-off value of blood mercury concentration in relation to insulin resistance. **Journal of Obesity & Metabolic Syndrome**, v. 26, p. 197-203, 2017.

LIU, Y. *et al.* Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. **Environmental Research**, v. 160, p. 212-222, 2018.

LODENIUS, M; MALM, O. Mercury in the Amazon. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.157, p. 25-52, 1998.

MAFFEI, M. *et al.* Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight: reduced subjects. **Nature Medicine**, v. 1, p. 1155-1161, 1995.

MAİGA, S. F.; KALOPISSIS, A. D.; CHABERT, M. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animals and clinical outcomes. **Biochimie**, v. 96, p. 56-66. 2014.

MALM, O. *et al.* Sequential hair mercury in mothers and children from a traditional riverine population of the RioTapajós, Amazonia: seasonal changes. **Environmental Research**, v. 110, n. 7, p. 705-709, 2010.

MARENGO, J. A.; ESPINOZA, J. C. Extreme seasonal droughts and floods in Amazonia: Causes, trends and impacts. **International Journal of Climatology**, v. 36, n. 3, p. 1033-1050, 2015.

MARINHO, J. S. *et al.* Mercury speciation in hair of children in three communities of the Amazon, Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 945963, 2014.

MARQUES, R. C. *et al.* Impact of organic mercury exposure and home delivery on neurodevelopment of Amazonian children. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 219, n. 6, p. 498-502, 2016.

MARTINEZ-FINLEY, E. J.; ASCHNER, M. Recent advances in mercury research. **Current Environmental Health Reports**, v. 1, n. 2, p. 163-171, 2014.

- MASCARENHAS, A. F. S. *et al.* Avaliação da concentração de mercúrio em sedimentos e material particulado no rio Acre, estado do Acre, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 1, p. 61-68, 2004.
- MILLER, M. *et al.* Triglycerides and cardiovascular disease a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 123, p. 2292-2333, 2011.
- MOZZAFARIAN, D. *et al.* Mercury exposure and risk of cardiovascular disease in two U.S. cohorts. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 12, p. 1116-1125, 2011.
- MOZZAFARIAN, D. *et al.* Methylmercury exposure and incident diabetes in U.S. men and women in two prospective cohorts. **Diabetes Care**, v. 36, p. 3578-3584, 2013.
- NEGRÃO, A. B.; LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.
- NYLAND, J. F. *et al.* Fetal and maternal immune responses to methylmercury exposure: a cross-sectional study. **Environmental Research**, v. 111, p. 584-589, 2011.
- OLOKOBA, A. B.; OBATERU, O. A.; OLOKOBA, L. B. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. **Oman Medical Journal**, v. 27, n. 4, p. 269-273, 2012.
- PASSOS, C. J. S. *et al.* Epidemiologic confirmation that fruit consumption influences mercury exposure in riparian communities in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 105, p. 183-193, 2007.
- PASSOS, C. J. S.; MERGLER, D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, supl. 4, p. 503-520, 2008.
- PFEIFFER, W. C.; LACERDA, D. Mercury inputs into the Amazon region, Brazil. **Environmental Technology Letters**, v. 9, p. 325-330, 1988.
- PARK, J. S. *et al.* Association between blood mercury level and visceral adiposity in adults. **Diabetes & Metabolism**, v. 41, p. 113-120, 2017.
- PARK, J. D.; ZHENG, W. Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury; **Journal of Preventive Medicine & Public Health**, v. 45, p. 344-352, 2012.
- PINHEIRO, M. C. N. *et al.* Mercury pollution and childhood in Amazon riverside villages. **Environment International**, v. 33, p. 56-61, 2007.
- POULIN, J.; GIBB, H. **Mercury**: assessing the environmental burden of disease at national and local levels. Geneva: WHO, 2008. 60 p. (WHO Environmental Burden of Disease Series, n. 16).
- OUÉDRAOGO, O.; CHÉTELAT, J.; AMYOT, M. Bioaccumulation and trophic transfer of mercury and selenium in African sub-tropical fluvial reservoirs food webs (Burkina Faso). **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0123048, 2015.

RAMASAMY, I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 52, n. 12, p. 1695-1727, 2014.

RICE, K. M. *et al.* Environmental mercury and its toxic effects. **Journal of Preventive Medicine & Public Health**, v. 47, p. 74-83, 2014.

RÍOS-VILLAMIZAR, E. A. *et al.* Surface water quality and deforestation of the Purus river basin, Brazilian Amazon. **International Aquatic Research**, v. 9, p. 81-88, 2017.

RONCHAIL, J. *et al.* Impact of the Amazon tributaries on major floods at Óbidos. In: (of the FRIEND WORLD CONFERENCE, 50., 2006, Havana. **Proceedings** [...]. [S. l.: s. n.], 2006. p. 220-225. (IAHS Publ., 308).

ROULET, M. *et al.* Spatio-temporal geochemistry of mercury in waters of the Tapajos and Amazon rivers, Brazil. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 5, p. 1141-1157, 2001.

ROY, C.; TREMBLAY, P. Y.; AYOTTE, P. Is mercury exposure causing diabetes, metabolic syndrome and insulin resistance? A systematic review of the literature. **Environmental Research**, v. 156, p. 747-760, 2017.

RYE, K. A.; BARTER, P. J.; Regulation of high-density lipoprotein metabolism. **Circulation Research**, v. 114, p. 124-142, 2014.

SAKAMOTO, M. *et al.* Implications of mercury concentrations in umbilical cord tissue in relation to maternal hair segments as biomarkers for prenatal exposure to methylmercury. **Environmental Research**, v. 149, p. 282-287, 2016.

SALONEN, J. T. *et al.* Mercury accumulation and accelerated progression of carotid atherosclerosis: a population-based prospective 4-year follow-up study in men in eastern Finland. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 148, n. 2, p. 265-273, 2000.

SANTOS, E. C. O. *et al.* Mercury exposure in riverside Amazon communities in Pará, Brazil. **Environmental Research**, v. 84, p. 100-107, 2000.

SANTOS, E. C. O. *et al.* Exposure to mercury in the urban population, of Rio Branco city, state of Acre, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 314-319, 2002.

SANTOS, E. C. O. *et al.* A contribution to the establishment of reference values for total mercury levels in hair and fish in Amazonia. **Environmental Research**, v. 90, p. 6-11, 2002.

SANTOS, E. C. O. *et al.* Mercúrio no rio Negro, Amazonas, Brasil- estudo preliminar de indicadores de exposição no pescado e em populações humanas. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 13, n. 1, p. 225-236, 2005.

SANTOS, E. O. *et al.* Correlation between blood mercury levels in mothers and newborns in Itaituba, Pará State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, supl. 4, p. 622-629, 2007.

SCHERER, T.; BUETTNER, C. Yin and Yang of hypothalamic insulin and leptin signaling in regulating white adipose tissue metabolism. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorder**, v. 12, n. 3, p. 235-243, 2011.

SELIN, H. *et al.* Linking science and policy to support the implementation of the Minamata Convention on Mercury. **Ambio**, v. 47, n. 2, p. 198-215, 2018

SILBERGELD, E. *et al.* Mercury and autoimmunity: implications for occupational and environmental health. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 207, n. 2, p. 282-92, 2005.

SILVA, A. P. **Emissões de mercúrio na queima de amálgama: estudo da contaminação de ar, solos e poeira em domicílios de Poconé, MT**. Rio de Janeiro: CETEM: CNPq, 1996. p. 40. (Série Tecnologia Mineral, 13).

SOUZA-ARAÚJO, J. *et al.* Mercury and methyl mercury in fishes from Bacajá River (Brazilian Amazon): evidence for bioaccumulation and biomagnifications. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 249-263, 2016.

SWENSON, J. J. *et al.* Gold mining in the peruvian Amazon: global prices, deforestation, and mercury imports. **Plos One**, v. 6, n. 4, e18875, 2011.

SZKUDELSKI, T. Intracellular mediators in regulation of leptin secretion from adipocytes. 2007. **Physiology Research**, v. 56, p. 503-512, 2007.

SUZUKI, T. *et al.* **Mercury analysis manual**. Japan: Ministry of the Environment, 2004. 105 p.

TOUW, I. P. *et al.* Signaling mechanisms of cytokine receptors and their perturbances in disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 160, p. 1-9, 2000.

TINKOV, A. A. *et al.* Mercury and metabolic syndrome: a review of experimental and clinical observations. **Biometals**, v. 28, n. 2, p. 231-54, 2015.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Reducing mercury use in artisanal and small-scale gold mining**: a practical guide. Nairobi: UNEP, 2012. 76 p.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Minamata Convention on Mercury**. Geneve: UNEP, 2013. 62 p.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Global mercury assessment 2013**: sources, emissions, releases and environmental transport. Geneva: UNEP, 2013. 44 p.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Global review of mercury monitoring network**. Geneve: UNEP, 2016. 48 p.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Minamata Convention on Mercury-texts and annexes**. Nairobi: UNEP, 2017, 71 p.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Global mercury supply, trade and demand**. Geneva: UNEP, 2017. 96 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Health effects of mercury and mercury compounds**. Washington, DC: USEPA, 1997. p. 452.

USUKI, F.; FUJITA, E.; SASAGAWA, N. Methylmercury activates ASK1/JNK signaling pathways, leading to apoptosis due to both mitochondria- and endoplasmic reticulum (ER)-generated processes in myogenic cell lines. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 22-30, 2008.

VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. **Physiological Reviews**, v. 91, p. 79-118, 2011.

VIRTANEN, J. K. *et al.* Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, p. 228-233, 2005.

VIRTANEN, J. K. Serum long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids, mercury, and risk of sudden cardiac death in men: a prospective population-based study. **Plos One**, v. 7, n. 7, p. e41046, 2012.

WAHLBERG, K. *et al.* Maternal polymorphisms in glutathione-related genes are associated with maternal mercury concentrations and early child neurodevelopment in a population with a fish-rich diet. **Environment International**, v. 115, p. 142-149, 2018.

WANG, M. Y. *et al.* Leptin therapy in insulin-deficient type 1 diabetes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 107, p. 4813-4819, 2010.

WELLS, E. M. *et al.* Methyl mercury, but not inorganic mercury, associated with higher blood pressure during pregnancy. **Environmental Research**, v. 154, p. 247-252, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Programme on Chemical Safety. **Methylmercury**. Geneva: WHO, 1990. (Environmental Health Criteria, 101).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Programme on Chemical Safety. **Inorganic mercury**. Geneva: WHO, 1991. 168 p. (Environmental Health Criteria, 118).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Programme on Chemical Safety. **Elemental mercury and inorganic mercury compounds**. Geneva: WHO, 2003. 68 p. (Concise International Chemical Assessment Document, 50).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Public Health and Environment. **Children's exposure to mercury compounds**. Geneva: WHO, 2010. 112 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Environmental and occupational health hazards associated with artisanal and small-scale gold mining**. Geneva: WHO, 2016. 168 p.

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 26, p.19-39, 2005.

WYATT, L. *et al.* Spatial, temporal, and dietary variables associated with elevated mercury exposure in Peruvian Riverine communities upstream and downstream of artisanal and small-scale gold mining. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1582, 2017.

YAMAMOTO, M. *et al.* Increased methylmercury toxicity related to obesity in diabetic KK-Ay mice. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, p. 914-923, 2014.

YU, X. *et al.* Making insulin-deficient type 1 diabetic rodents thrive without insulin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 105, p. 14070-14075, 2008.