



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL DE MERCÚRIO
TOTAL EM GESTANTES DE SANTARÉM – PARÁ.**

NANELKA DOS ANJOS FERNANDES

**Santarém - PA
2017**

NAELKA DOS ANJOS FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL DE MERCÚRIO
TOTAL EM GESTANTES DE SANTARÉM – PARÁ.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências junto ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biociências. Área de concentração: Fisiologia Geral

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira

Santarém - PA
2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

F363a Fernandes, Naelka dos Anjos

Avaliação da exposição pré-natal de mercúrio total em gestantes de Santarém – Pará. / Naelka dos Anjos Fernandes. – Santarém, Pa, 2017.

90 fls.: il.

Inclui bibliografias.

Orientador Ricardo Bezerra de Oliveira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação em Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação em Biociências.

1. Mercúrio. 2. Cabelo. 3. Cordão umbilical. 4. Gravidez. 5. Placenta. I. Oliveira, Ricardo Bezerra de, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 363.7384098115

NANELKA DOS ANJOS FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL DE MERCÚRIO
TOTAL EM GESTANTES DE SANTARÉM – PARÁ.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biociências do Programa de Pós-Graduação em Biociências, julgado pela comissão formada pelos seguintes professores:

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira
Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

Avaliadora: Profa. Dra. Ynglea Georgina Goch
Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

Avaliador: Prof. Dr. Hougelle Simplício
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Santarém, 10 de abril de 2017

Dedicatória

Ao meu filho Luiz Felipe,
motivo maior da minha dedicação,
obrigada por tolerar as minhas horas de
ausência.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade recebida.

Ao meu amado filho e minha incansável vó por ter cuidado do meu filho enquanto estive ausente de casa. Ao meu avô, minha mãe, enfim a todos os meus familiares pelo apoio e incentivo a esta conquista.

À Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), por proporcionar a oportunidade da realização desta pesquisa.

Ao meu orientador Prof^o Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira pelo aprendizado, dedicação, empenho, paciência e principalmente confiança em mim depositada durante as várias fases de realização deste trabalho. Agradeço o precioso conhecimento repassado a mim no Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LABBEX, ressalto minha admiração pela simplicidade deste importante pesquisador.

Aos meus colegas de classe que apesar das dificuldades sempre se mostraram prontos para ajudar no que estivesse ao alcance.

Ao professor Dr. Mineshi Sakamoto que me confiou valioso treinamento no National Institute for Minamata Disease – NIMD - Japão, o qual foi de total e fundamental importância para o bom desenvolvimento da presente pesquisa, meu muito obrigada.

À administração do Hospital Municipal de Santarém pela autorização da minha presença em sala de parto e enfermarias.

Às enfermeiras obstétricas do Hospital Municipal de Santarém: Rubídia Lima, Adalgisa Lima, Alzerina Silva, Marta Santos, Francineide Amaral, Taiane Rebelo, Kátia Regina e Nádia Martins por me acolherem com todo respeito em seu ambiente de trabalho e me ensinarem pormenores da assistência ao parto, além de me proporcionarem uma das experiências mais marcantes da minha vida pessoal e profissional.

Às técnicas de enfermagem pela troca de conhecimento e experiência durante minha estada na sala de parto.

À todas as minhas “mamães voluntárias” agradeço profundamente e com muito respeito a participação na referida pesquisa.

Enfim, a todos que me acompanharam e incentivaram para a realização desta pesquisa, o meu muito obrigada.

FERNANDES, Naelka dos A. **Avaliação da exposição pré-natal de mercúrio total em gestantes de Santarém - Pará. 2017.** 90f. Dissertação de Mestrado em Biociências. Área de concentração: Fisiologia Geral - Programa de Pós-Graduação em Biociências. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2017.

RESUMO

Introdução: A forma mais tóxica de mercúrio (Hg), conhecida como metilmercúrio (MeHg) atravessa facilmente a barreira placentária, concentrando-se especialmente no cérebro, inibindo o desenvolvimento cerebral do feto e retardando o crescimento intrauterino. Por essas razões, uma grande preocupação é a exposição de mulheres em idade fértil a este elemento químico. **Objetivo:** Avaliar a presença de mercúrio total em gestantes de Santarém - Pará. **Metodologia:** As concentrações de mercúrio total (HgT) foram analisadas em amostras de cabelos maternos, tecido placentário fetal e cordão umbilical juntamente com aplicação de questionário aberto/fechado sobre hábitos alimentares. **Resultados:** As médias das concentrações de HgT encontradas no cabelo materno, cordão umbilical e tecido placentário fetal foram, respectivamente, $1,92 \pm 1,85$; $0,0077 \pm 0,006$ e $0,021 \pm 0,018$. A média das concentrações de HgT nos cabelos maternos não mostrou correlação com o peso, altura e pressão arterial das participantes. As concentrações de HgT no tecido do cordão umbilical e tecido placentário mostraram uma forte correlação com o cabelo materno ($r_s=0,6335$; $p<0,0001$; $r_s = 0,8604$; $p<0,0001$, respectivamente). A concentração de HgT no tecido placentário mostrou uma forte correlação com o tecido do cordão umbilical ($r_s = 0,6718$; $p<0,0001$). Houve correlação positiva entre as concentrações de HgT do cabelo materno com o consumo de peixe semanal. **Conclusões:** As médias das concentrações de HgT encontradas no cabelo materno estão condizentes com os limites estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS), as concentrações de HgT obtidas nos tecidos do cordão umbilical e placenta mostram que houve transmissão vertical de HgT, logo, os resultados obtidos sugerem que o cordão umbilical e a placenta podem ser utilizados como biomarcadores de exposição fetal.

Palavras-Chave: mercúrio; cabelo; cordão umbilical; gravidez; placenta.

FERNANDES, Naelka dos A. **Avaliação da exposição pré-natal de mercúrio total em gestantes de Santarém - Pará. 2017.** 90f. Dissertação de Mestrado em Biociências. Área de concentração: Fisiologia Geral - Programa de Pós-Graduação em Biociências. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2017.

ABSTRACT

Introduction: The most toxic form of mercury (Hg), known as methylmercury (MeHg), easily crosses the placental barrier, concentrating especially on the brain, inhibiting brain development of the fetus and slowing intrauterine growth. For these reasons, a major concern is the exposure of women of childbearing age to this chemical element. The objective of this study was to evaluate the concentration of total mercury in pregnant women in Santarém - Pará. **Methodology:** The total mercury (HgT) concentrations were analyzed in samples of maternal hair, fetal placental tissue and umbilical cord along with open / closed questionnaire eating habits. **Results:** The mean concentrations of HgT found in maternal hair, umbilical cord and fetal placental tissue were, respectively, 1.94 ± 1.85 ; 0.0077 ± 0.006 and 0.021 ± 0.018 . The mean concentration of HgT in maternal hair did not correlate with the participants weight, height and blood pressure. Concentrations of HgT in umbilical cord tissue and placental tissue showed a strong correlation with maternal hair ($r_s = 0.6335$; $p < 0.0001$; $r_s = 0.8604$; $p < 0.0001$, respectively). The concentration of HgT in the placental tissue showed a strong correlation with the umbilical cord tissue ($r_s = 0.6718$; $p < 0.0001$). There was a positive correlation between maternal hair HgT concentrations and weekly fish consumption. **Conclusions:** The mean concentrations of HgT found in maternal hair are consistent with the limits established by the World Healthy Organization (WHO), the concentrations of HgT obtained in umbilical cord and placenta tissues show that there was vertical transmission of HgT, so the results obtained suggest that the umbilical cord and placenta can be used as biomarkers of fetal exposure.

Keywords: mercury; hair; umbilical cord; pregnancy; placenta.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo do Hg.....	16
Figura 2 – Esquema da cadeia alimentar aquática.....	22
Figura 3 – Criança com doença de Minamata.....	24
Figura 4 – Barreira Placentária.....	29
Figura 5 – Complexo Metilmercúrio-Cisteína.....	29
Figura 6 – Comparação entre a distribuição de lesões na Doença de Minamata no adulto (a) e no feto (b).....	31
Figura 7 – Postas de peixe confeccionadas em silicone.....	44
Figura 8 – Coleta de cabelo.....	45
Figura 9 – Identificação do segmento.....	45
Figura 10 – Medida do segmento capilar.....	45
Figura 11 – Lavagem do cabelo.....	45
Figura 12 – Fracionamento da amostra.....	46
Figura 13 – Microtubos Eppendorf.....	46
Figura 14 – Pesagem das alíquotas.....	46
Figura 15 – Analisador DMA 80.....	46
Figura 16 – Face fetal da placenta e local de retirada do tecido coriônico.....	47
Figura 17 – Local de secção do cordão umbilical.....	47
Figura 18 – Tecido Placentário.....	48
Figura 19 – Cordão umbilical.....	48
Figura 20 – Lavagem do tecido placentário fetal (a) e cordão umbilical (b).....	48
Figura 21 – Analisador DMA 80.....	49
Figura 22 – Tela de comandos DMA 80.....	49
Figura 23: Médias das concentrações de HgT em cabelos maternos, cordão umbilical e tecido placentário (mg/kg).....	53

Figura 24 – Porcentagem das voluntárias que apresentaram concentrações de HgT dentro e acima do limite recomendado pela OMS.....	55
Figura 25 – Correlação entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com as concentrações médias de HgT no cordão umbilical – peso úmido - (mg/kg).....	56
Figura 26 – Correlação entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com as concentrações médias de HgT no tecido placentário – peso úmido - (mg/kg).....	58
Figura 27 – Correlação entre as concentrações médias de HgT da placenta com as concentrações médias de HgT no tecido do cordão umbilical (mg/kg).....	59
Figura 28 – Correlação entre o peso e a concentração de HgT materno.....	60
Figura 29 – Correlação entre a estatura e a concentração de HgT maternos.....	61
Figura 30 – Correlação entre a PAS e a concentração de HgT maternos.....	61
Figura 31 – Correlação entre a PAD e a concentração de HgT maternos.....	62
Figura 32 – Correlação entre as concentrações de HgT do cabelo com porção de peixe por refeição.....	68
Figura 33 – Correlação entre as concentrações de HgT do cabelo com o consumo de peixe semanal.....	68

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Características sociodemográficas das gestantes.....	50
Tabela 2 - Distribuição dos valores médios das variáveis antropométricas de acordo com a faixa etária das gestantes.....	51
Tabela 3 - Valores médios das pressões arteriais de acordo com a faixa etária.....	52
Tabela 4 - Peixes mais consumidos pelas voluntárias da pesquisa.....	62
Tabela 5 - Características nutricionais das voluntárias.....	64
Tabela 6 - Valores médios das concentrações de HgT (mg/kg) de acordo com a frequência semanal de consumo de peixe.....	66
Tabela 7 - Valores médios das concentrações de HgT (mg/kg) de acordo com a frequência de consumo de peixe por refeição.....	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1.	FONTES NATURAIS DE MERCÚRIO (Hg)	17
2.2.	CICLO BIOGEOQUÍMICO DO Hg EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS TROPICAIS	18
2.3.	BREVE HISTÓRICO DA DOENÇA DE MINAMATA	23
2.4	INGESTÃO, ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, EFEITOS E ELIMINAÇÃO DO Hg	24
2.4.1	Ingestão	24
2.4.2	Absorção	24
2.4.3	Distribuição	25
2.4.4	Efeitos	26
2.4.5	Eliminação	30
2.5.	MARCADORES BIOLÓGICOS	31
2.5.1	Cabelo	31
2.5.2	Cordão Umbilical	33
2.5.3	Placenta	34
2.6.	MERCÚRIO E CONSUMO DE PEIXE NA REGIÃO AMAZÔNICA	34
2.7.	NÍVEIS DE TOLERÂNCIA AO Hg	37
3	OBJETIVOS	39
3.1.	OBJETIVO GERAL	39
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4	MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1.	SUBMISSÃO AO CONSELHO DE ÉTICA	40
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	40

4.3	CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO ESTUDO.....	41
4.3.1.	Cidade de Santarém.....	41
4.4	UNIVERSO E AMOSTRA (CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO).....	41
4.5	PERÍODO DA PESQUISA.....	42
4.6	MÉTODO DE COLETA DE DADOS	42
4.6.1	Aplicação de questionário	43
4.6.2.	Coleta de cabelos.....	43
4.6.2.1	Preparação das amostras de cabelo materno.....	44
4.6.2.2	Coleta de tecido placentário fetal e cordão umbilical.....	46
4.6.3	Análises de Mercúrio Total (HgT).....	48
4.7	MÉTODOS DE ANÁLISE DOS DADOS.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1	Concentrações de Hg em cabelos maternos e outros biomarcadores.....	52
5.2	Correlações de HgT em cabelos maternos e outros biomarcadores.....	55
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
	ANEXOS	
	APÊNDICES	

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a atividade industrial por meio do despejo de resíduos ricos em metais pesados, expõe o meio ambiente e a sociedade de forma gradativa. O efeito dos metais pesados sobre a saúde pública tem sido motivo de crescente preocupação e, em particular, os seus efeitos sobre o crescimento e o desenvolvimento humano. Durante a gravidez, os metais pesados podem contribuir para desfechos adversos incluindo pré-eclâmpsia, parto prematuro e bebês de baixo peso para a idade gestacional. O feto é particularmente vulnerável aos efeitos dos metais pesados devido à sua alta taxa de divisão e diferenciação celular, assim, níveis relativamente baixos de exposição que não prejudiquem a mãe podem ter efeito profundo sobre o desenvolvimento e crescimento fetal (TAYLOR et al, 2014).

No meio ambiente e em sistemas biológicos, o mercúrio (Hg) pode existir em três estados de oxidação: Hg (elementar), Hg inorgânico (HgI) e Hg orgânico. Em geral, a forma dominante de Hg na água, solo e sedimentos é a forma inorgânica, enquanto que a forma mais tóxica de Hg, a qual é denominada de metilmercúrio (MeHg) pode ser encontrada predominantemente na biota aquática, biota terrestre e na atmosfera (KEHRIG et al., 2013). De todos os metais contaminantes, o Hg é o único metal capaz de biomagnificação na cadeia alimentar, ou seja, as suas concentrações são crescentes de acordo com os níveis tróficos das espécies, incluindo o homem. Portanto, o MeHg está presente na maioria das espécies aquáticas e sua bioacumulação na cadeia alimentar pode levar a concentrações deste elemento nos peixes predadores, crustáceos e mamíferos marinhos (ASK et al., 2002; XUE et al., 2007).

O HgI, principalmente na forma de sais mercúricos (HgCl_2 , HgS) e mercurosos (Hg_2Cl_2), o qual é liberado ao meio ambiente por meio de fontes naturais ou antropogênicas, é transformado em Hg orgânico (ligado a radicais de carbono, por exemplo MeHg e etilmercúrio), por meio de um processo denominado metilação, o qual é conduzido pela ação de bactérias sulforredutoras, sendo o MeHg a sua forma mais tóxica para os organismos, o qual é então, acumulado em animais tróficos superiores através da cadeia alimentar (figura 1) (SALEHI e SARI, 2010).

À medida que o tamanho do corpo dos organismos aquáticos aumenta, a transferência trófica torna-se a rota dominante para a absorção e acumulação de MeHg. Em todos os ecossistemas, incluindo as regiões tropicais e subtropicais, a

biomagnificação do MeHg na cadeia alimentar dos consumidores determina fortemente o seu nível de exposição (MUNTHE et al., 2007).

Figura 1 - Ciclo do Hg

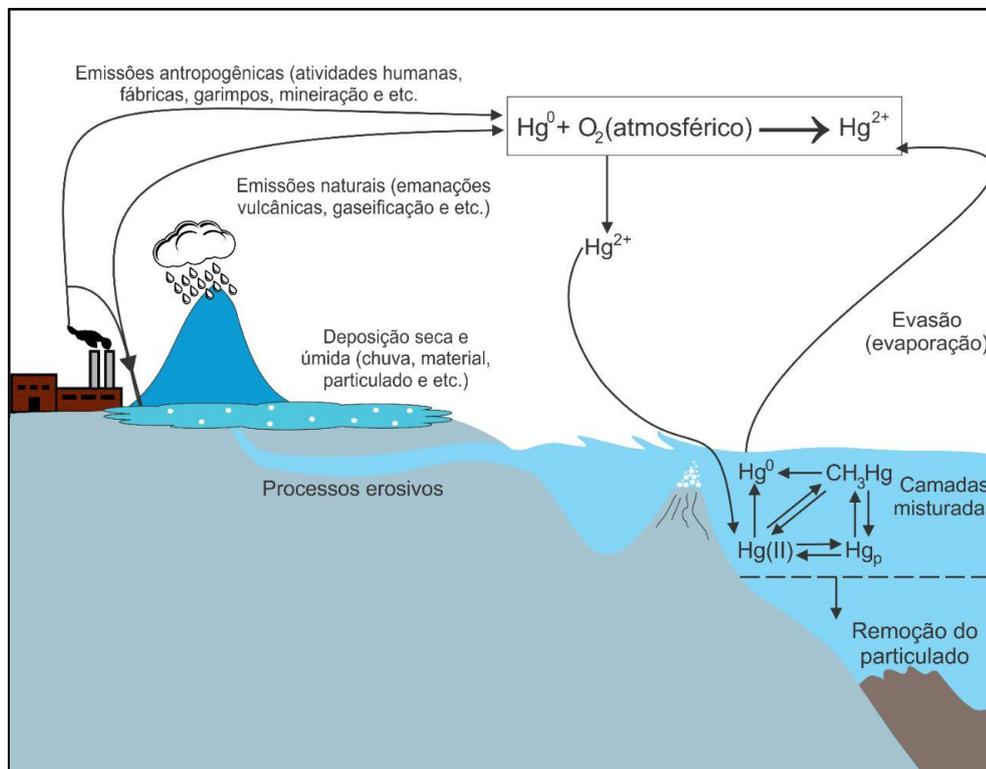


Ilustração: Denis Silva, 2017.

Vale ressaltar que, o Hg é um metal pesado não essencial, e tanto a sua forma orgânica quanto inorgânica são bioacumuláveis. Os determinantes potenciais de acumulação de Hg em peixes incluem o nível trófico, os hábitos alimentares, alguns fatores ambientais tais como pH e temperatura, bem como parâmetros biológicos, tais como comprimento, peso e idade (KASPER et al., 2009). A biomagnificação do Hg através das cadeias alimentares é amplamente reconhecida (COSTA et al., 2012; KEHRIG et al., 2013; LODENIUS e MALM, 1998).

Uma vez no organismo humano, o MeHg atravessa facilmente a barreira placentária, concentrando-se especialmente no cérebro, inibindo o desenvolvimento cerebral do feto e retardando o crescimento intrauterino. Por essas razões, uma grande preocupação é a exposição de mulheres em idade fértil e de crianças a este elemento químico (BJORNBERG et al., 2005; GUNDAKER et al., 2010; OSKARSSON et al., 1994; SAKAMOTO et al., 2015).

O feto é extremamente vulnerável aos efeitos do Hg devido à alta taxa de divisão e diferenciação celular. Assim, os níveis de exposição que não prejudicam a mãe podem ter um efeito profundo sobre o desenvolvimento do feto, bem como seu crescimento e desenvolvimento durante a infância (TAYLOR et al, 2012). Não existem limites seguros para os níveis de Hg durante a gravidez e a exposição ambiental deve ser reduzida. Segundo Sakamoto et al (2012), a exposição contínua de Hg em crianças não causa sintomas clínicos evidentes, mas tem efeitos permanentes sobre a cognição, comportamento e desempenho escolar, outros desfechos adversos podem incluir efeitos sobre o crescimento, quociente de inteligência (QI) e neurodesenvolvimento infantil.

O Hg tem sido reconhecido primariamente por seus efeitos no sistema nervoso central, os quais puderam ser observados em eventos trágicos ocorridos no Japão e Iraque, por meio do consumo de peixes e grãos contaminados, respectivamente (CLARCKSON, 2002; GARDNER et al., 2010; GIBB E O`LEARY, 2014). De acordo com RICE e BARONE (2000), o órgão alvo de exposição ao MeHg durante a gestação é o cérebro fetal, especialmente o cérebro em desenvolvimento durante o terceiro trimestre. Por esta razão, os biomarcadores que frequentemente são utilizados nos mais diversos estudos da área, como por exemplo, cabelo, sangue, unhas das mãos, cordão umbilical entre outros, terminam por refletir o nível de exposição ao MeHg no feto durante o terceiro trimestre de gestação e são muito importantes para prever os efeitos de MeHg sobre o desenvolvimento infantil (PAN et al., 2005; SAKAMOTO et al., 2013).

Trata-se portanto, de uma investigação pertinente no que tange ao fornecimento de maiores esclarecimentos sobre os efeitos que a contaminação mercurial pode proporcionar, especialmente durante a vida intrauterina, uma vez que, no incidente grave que ocasionou na poluição de MeHg em Minamata, no Japão, mais de 20 crianças que foram expostas ao MeHg através de suas mães apresentaram paralisia cerebral grave, enquanto suas mães tiveram leve ou nenhuma manifestação de intoxicação (SAKAMOTO et al., 2013).

Diante deste panorama, a presente pesquisa tem o seguinte problema de investigação: Qual a ocorrência de mercúrio total em biomarcadores de exposição pré-natal em gestantes atendidas na cidade de Santarém – Pará? Deste modo, justifica-se o presente estudo, o qual tem seu interesse voltado para a avaliação da presença de mercúrio total em cabelos, cordão umbilical e tecido placentário de gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde – SUS- na cidade de Santarém – Pará. Logo, o objetivo deste estudo é avaliar a concentração de Hg total em matrizes humanas-

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FONTES NATURAIS E ANTROPOGÊNICAS DE Hg

Há uma série de processos naturais que podem emitir Hg para a atmosfera. Esses processos podem incluir atividades geológicas (atividades vulcânicas e emissões geotérmicas), volatilização de Hg em ambientes marinhos, e emissão de Hg a partir de ambientes terrestres – erosão e evaporação de solos mineralizados (GUSTIN et al., 2000; GUSTIN, 2003; NRIAGU e BECKER, 2003). Tais processos naturais são chamados também de emissões primárias, as quais consistem de emissões a partir de áreas naturalmente enriquecidas em Hg. A compreensão entre os ciclos primário (natural) e secundário (industrial) é crítica para a compreensão da magnitude da perturbação do ciclo natural (SALIN, 2009).

As emissões primárias de Hg vêm, principalmente, dos chamados “cintos mercuríferos globais”, os quais são áreas do planeta terra situadas ao longo das fronteiras entre placas tectônicas. Estas regiões são geologicamente enriquecidas em Hg, como por exemplo, o Oeste da América do Norte, Europa Central e no Sul da China (SALIN, 2009).

Apesar da importante redução de emissões antropogênicas de Hg nas últimas três décadas, os processos antropogênicos são ainda responsáveis por uma proporção significativa de entrada global de Hg para o ambiente. Cerca de 5000-6000t de Hg é estimada para ser lançado na atmosfera a cada ano, e deste total cerca de 50% pode ser proveniente de fontes antropogênicas (LAMBORG et al., 2002).

As emissões antropogênicas de Hg podem ser pontuais (incineradoras de carvão em usinas de energia, por exemplo), bem como podem ser difusas (por exemplo, aterros sanitários e resíduos de minas). Fontes antropogênicas de Hg especialmente em algumas áreas subdesenvolvidas, utilizaram-se de compostos de Hg em muitos processos industriais, tais como mineração de ouro, produção de cloro e álcalis, e fabricação de papel e celulose (MALM, 1998; GUSTIN, 2003; NELSON, 2007; PACYNA, et al., 2010). A característica mais marcante na variabilidade geológica de emissão de Hg por origem antrópica é a contribuição dominante da mineração de ouro para as emissões globais de Hg na América do Sul, já em escala global, a queima de combustíveis fósseis é a principal fonte de emissão de Hg, porém, na América do Sul, a mineração de ouro contribui com mais de 60% da emissão total de Hg.

2.2 CICLO BIOGEOQUÍMICO E METILAÇÃO DO Hg EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS TROPICAIS

É grande a preocupação com os perigos de contaminação pelo Hg, especialmente sua forma mais tóxica, MeHg, o qual apresenta como caminho dominante de exposição a ingestão de peixe. Por isso, a compreensão da ciclagem de mercúrio em sistemas aquáticos é crítica para análise de risco ambiental. Os ambientes de água doce e sistemas marinhos são fontes de grande inquietação aos estudiosos da área, embora o ciclismo do Hg seja diferente nesses dois ambientes (SALIN, 2009).

Do ponto de vista do seu ciclo global, o Hg é emitido para atmosfera de várias fontes pontuais e difusas, é então disperso, transportado e transformado na atmosfera, depositando-se no solo ou na água onde é armazenado ou redistribuído para os diferentes compartimentos. O Hg atinge os ecossistemas de água doce por deposição direta nas superfícies dos lagos e através do escoamento das bacias hidrográficas e nos sedimentos aquáticos, os micróbios convertem uma pequena fração de HgI em MeHg, porém, a produção de MeHg pode ser alterada devido a estrutura e composição do sedimento em questão, alterando dessa forma a quantidade de HgI biodisponível e estimulando a atividade microbiana (SALIN, 2009).

Em sedimentos costeiros, as bactérias redutoras de sulfato são os principais agentes responsáveis pela produção de MeHg e o processo-chave que facilita a entrada de Hg em cadeias alimentares costeiras é a metilação. Tal comunidade microbiana desempenha um papel crítico no ciclo biogeoquímico do Hg, influenciando a sua especiação química, reatividade e a biodisponibilidade, tudo isso através da mediação de processos, tais como a metilação, desmetilação, oxidação e redução (BARKAY et al., 2003; MERRIT e AMIRBAHMAN, 2009; BARROCAS et al., 2010).

O Hg presente na coluna d'água é metilado através de processos biológicos e não-biológicos, e o primeiro parece desempenhar o papel mais importante. As bactérias sulfato-redutoras (SRB), as quais são micróbios anaeróbios, mostram alta afinidade para o Hg em condição anaeróbia e são consideradas como as principais bactérias que promovem a metilação de Hg em água doce (FLEMING, et al, 2006; AVRAMESCU et al., 2011; ACHÁ, et al, 2011). No entanto, alguns pesquisadores (ZENG, et al, 2016; AVRAMESCU et al, 2011) mostraram que outros micróbios anaeróbios, como as bactérias redutoras de ferro (DIRB) e as metanogênicas também têm a capacidade de

metilação de Hg. Até agora, a maioria dos estudos anteriores foram realizados sob condições experimentais totalmente artificiais e controladas, a importância relativa do SRB e outros micróbios para a metilação do Hg no ambiente natural permanece incerto (ZENG, et al, 2016).

Segundo Fleming, et al (2006), a conversão de Hg em MeHg ocorre em sedimentos anóxicos por meio de mecanismos não totalmente caracterizados. Esta conclusão baseia-se principalmente na observação de que os sedimentos estuarinos conhecidos por metilação de Hg exógeno não o fizeram quando incubados em condições óxicas ou na presença de molibdato, um inibidor que perturba o metabolismo energético central de bactérias redutoras de sulfato. De acordo com o autor supracitado, as bactérias sulfato-redutoras têm sido consideradas como os principais metiladores nos sedimentos marinhos e de água doce, sem contribuição consistentemente atribuída a outros grupos metabólicos de bactérias.

Organismos autotróficos e heterotróficos do circuito microbiano desempenham papéis fundamentais na transferência de Hg em cadeias alimentares marinhas, influenciando o ciclo biogeoquímico do ecossistema aquático, bem como, sendo os principais contribuintes para o ciclismo elementar e os fluxos verticais. O MeHg dissolvido pode ser bioacumulado em até um milhão de vezes em partículas microscópicas, incluindo fitoplâncton e bactérias, através da adsorção a superfícies de células na coluna de água (GUILHERME et al., 2005). Estas partículas de MeHg enriquecidas são então consumidas por zooplânctons, que por sua vez são uma fonte primária de alimento para larvas e alguns peixes adultos (SALIN, 2009).

A acumulação de MeHg em procariontes (bactérias/plânctons) ocasiona forte impacto sobre a transferência de Hg nas cadeias alimentares aquáticas, devido ao fato de que bactérias e plânctons podem servir de alimento aos zooplânctons e pequenos peixes. A natureza da ligação entre plânctons e metal pode afetar significativamente a transferência trófica. Devido aos seus curtos ciclos de vida, os plânctons e fitoplânctons podem responder rapidamente às mudanças ambientais na estrutura da coluna de água, como também às alterações na qualidade da água em sistemas aquáticos (LINTON e WARNER, 2003).

No ecossistema aquático tropical brasileiro, as cianobactérias, as quais são importantes produtoras primárias em muitas áreas do oceano, estão associadas com a produção de MeHg, no entanto, mostrando baixos potenciais de metilação (COELHO-SOUZA et al., 2006). O zooplâncton tem a capacidade de acumular ambas as formas de

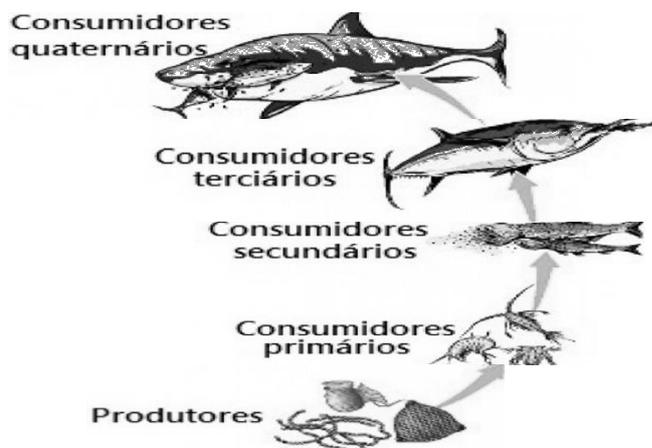
Hg (orgânicas e inorgânicas) a partir de alimentos ingeridos e/ou diretamente, a partir do Hg dissolvido, as variações na concentração de MeHg em zooplânctons podem ser melhores previstas assumindo uma dieta bacteriana, em vez de uma dieta de fitoplânctons (GUILHERME et al., 2005; KEHRIG e MALM, 2011; COSTA et al, 2012).

Algumas variações na estrutura da comunidade de plânctons, principalmente zooplânctons, têm sido associados a variações nas concentrações de Hg nos tecidos dos peixes, assim, as características físicas e biogeoquímicas do meio aquático que afetam a dinâmica de crescimento dos fitoplânctons e zooplânctons também pode afetar a cadeia alimentar que depende deles (COSTA et al., 2012).

À medida que o tamanho do corpo dos organismos aquáticos aumenta, a captação direta de MeHg dissolvido torna-se menos importante e a transferência trófica torna-se a rota dominante para a absorção e acumulação de MeHg (MUNTHE et al., 2007). Em todos os ecossistemas, incluindo as regiões tropicais e subtropicais, a biomagnificação do MeHg na cadeia alimentar dos consumidores determina fortemente o seu nível de exposição. Em vertebrados tropicais, baixas concentrações de Hg são encontradas em consumidores primários, como o peixe-boi. As concentrações de Hg em tartarugas marinhas e muitos peixes, são de baixa a moderada e as mais altas concentrações de mercúrio são encontradas em espécies de nível trófico superior ou predadores (DAY et al., 2010).

A maioria do Hg (> 90%) presente nos peixes é obtido por meio de sua alimentação, portanto, o mercúrio total (HgT) em peixes é fortemente influenciada por concentrações na dieta de predadores de topo porque eles tendem a alimentar-se de presas com altas concentrações de Hg. Os peixes normalmente têm as maiores concentrações de Hg em cadeias alimentares aquáticas quando em comparação com os produtores e consumidores primários (figura 2). Além disso, a maioria deste Hg (em torno de 90%) é encontrado na sua forma metilada, ou seja, do HgT acumulado no músculo branco do peixe, aproximadamente 95% dele está na forma de MeHg (CHEN et al., 2005; MAHAFFEY et al., 2004; KIDD et al., 2012).

Figura 2 - Esquema da cadeia alimentar aquática.



Fonte: Adaptado de www.brainly.com

O MeHg é normalmente encontrado em associação com tecidos protéicos, tendo uma afinidade com proteínas portadoras de enxofre e aminoácidos tais como a cisteína (SAKAMOTO et al., 2015). Por este motivo, as concentrações de Hg, particularmente as formas metiladas, são normalmente mais elevadas em tecidos musculares. O particionamento de Hg nos tecidos de organismos de níveis tróficos mais baixos não é bem entendido. O músculo branco é o tecido mais frequentemente amostrado para Hg em peixes, porque apresenta altíssimo teor em proteínas, mas também porque é a porção de peixe mais consumida, tornando-o mais pertinente na tentativa de compreender exposição humana devido ao consumo (PRADO-LIMA e VAL, 2016).

A biomagnificação de Hg através de cadeias alimentares aquáticas tem sido estudada desde o final dos anos 1960, quando se tornou evidente que o peixe era a principal fonte de Hg na dieta de seres humanos e pelo envenenamento que ocorreu em áreas onde a exposição de peixes foi evidente (por exemplo, Minamata Bay, Japão). A proporção de Hg aumenta de acordo com o nível trófico da teia alimentar aquática. Os estudos de campo mostram que essa proporção é normalmente $< 20\%$ nos produtores primários, aumentando para quase 100% em predadores de topo, tais como peixes carnívoros (OGRINC et al., 2007; MUNTHER et al., 2007).

Alguns dos desafios para a pesquisa do ciclo biogeoquímico de Hg em ambientes tropicais costeiros são as condições climáticas e ambientais extremas nos trópicos (por exemplo, a alta temperatura; grandes flutuações de salinidade e turbidez entre estações chuvosa e seca) e condições socioeconômicas diferentes, mesmo dentro do mesmo

território nacional. Estas condições conduzem a elevada variabilidade em muitos aspectos do ciclo de Hg. A pesca excessiva e excesso de poluição são graves ameaças à biodiversidade marinha, além de espécies invasoras, alteração da temperatura da água, acidificação dos oceanos (fato que aumenta a frequência de eventos de hipóxia), expansão das operações da aquicultura e o tráfego marítimo (LACERDA e MALM, 2008).

Estes são fenômenos mundiais e estão ameaçando espécies marinhas de importância ecológica e econômica. As ações antropogênicas de entrada de Hg direto e indireto nos trópicos precisa sofrer processo mais confiável de identificação, quantificação e monitorização. As alterações climáticas irão inevitavelmente alterar regimes de chuva e padrões de fluxo dos rios. O desmatamento e uso da terra intensa para o desenvolvimento econômico também vai alterar as características e serviços ecológicos das bacias hidrográficas (LACERDA e MALM, 2008).

Em conjunto, tais fatores irão provavelmente alterar os processos de ciclo e biodisponibilidade do Hg em áreas costeiras. Cada uma dessas áreas tem diferentes sensibilidades a estas várias ameaças, no entanto, a poluição da água é classificada como alta na maioria dos casos. Compreender os impactos sinérgicos e cumulativos de Hg e outros poluentes no âmbito da mudança ambiental devido a estes múltiplos estressores é reconhecido como um desafio para o futuro (LACERDA e MALM, 2008).

Os fatores discutidos acima são de grande relevância quando se trata de alimentação da população amazônica, pois ainda que a alimentação desta população seja composta por feijão, arroz, farinha, milharia e, às vezes, carne de boi ou galinha, o pescado, ainda, representa a principal fonte protéica da referida população (SÁ et al, 2006). As preferências alimentares são expressas pelos alimentos mais abundantes no ambiente local, uma vez que, entre os peixes citados como mais comuns e consumidos estão os tucunarés e carás (ciclídeos), aracus (anastomídeos), piranhas e pacus (serrasalmídeos), assim como os peixes lisos, incluindo o filhote, surubim e pirarara (pimelodídeos) (SILVA, 2007).

Portanto, diante desta realidade, é necessária uma avaliação da saúde pública em diferentes regiões da Amazônia para que seja possível entender padrões de exposição e dessa forma determinar os riscos de intoxicação por Hg através do consumo de peixe, incluindo a diferenciação desses efeitos com outras condições de saúde que possam estar presentes nessas populações expostas (SANTOS et al, 2000).

2.3 BREVE HISTÓRICO DA DOENÇA DE MINAMATA

No início de 1950, o acidente na baía de Minamata (localizada na província de Kumamoto, Japão) foi o maior desastre da história envolvendo Hg, o que causou centenas de mortes. Ainda hoje, sequelas decorrentes da exposição ao Hg afetam as novas gerações da população daquela região, o qual resultou em uma doença neurológica grave nomeada como Doença de Minamata (Figura 3). A principal via de exposição ao MeHg neste incidente foi o consumo de peixes, crustáceos e moluscos contaminados com MeHg (EKINO et al., 2007).

Figura 3 - Criança com Doença de Minamata



Fonte: TAKEUCHI et al., 1962

Na época do acidente a concentração média de Hg no cabelo de pacientes chegou a surpreendentes 338,4 ppm (intervalo: 96,8-705 ppm). Os principais sintomas verificados na época foram distúrbios neurológicos e, após o primeiro caso, o número de pacientes aumentou rapidamente. Mais de 2200 pessoas nos distritos de Minamata (1780 na Prefeitura de Kumamoto e 491 na província de Kagoshima a partir de junho de 2011) foram certificadas como portadoras da doença de Minamata. No distrito de Minamata, muitos neonatos expostos ao MeHg através da placenta exibiram grave paralisia cerebral, enquanto suas mães tiveram leve ou nenhuma manifestação de envenenamento (TAKEUCHI et al., 1962).

Este acidente foi o primeiro marco a chamar a atenção em todo o mundo sobre o risco de exposição fetal ao MeHg. A epidemia mostrou que os fetos compreendem um grupo de alto risco devido à elevada susceptibilidade do cérebro em desenvolvimento para exposição ao MeHg, pois o MeHg atravessa facilmente a barreira placentária, acumulando-se mais no feto do que na mãe (SAKAMOTO et al., 1993; SAKAMOTO et al., 2002). Os sintomas típicos da doença de Minamata foram perturbações sensoriais, constrição dos campos visuais, tremores, perda auditiva e ataxia cerebelar (TAKEUCHI et al., 1962).

2.4 INGESTÃO, ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, EFEITOS E ELIMINAÇÃO DO Hg ORGÂNICO

2.4.1 Ingestão de MeHg

A ingestão alimentar de peixes e frutos do mar é a principal fonte de exposição humana ao MeHg, um tóxico que pode ter sérios efeitos adversos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso e pode provocar doenças cardíacas. A exposição não depende apenas da frequência da ingestão de peixe e o tamanho de cada refeição, mas também das espécies consumidas. Segundo KHERIG et al (2006), maior acúmulo de MeHg podem ser encontradas em peixes predadores e mamíferos marinhos nos mais altos níveis tróficos por meio da biomagnificação do MeHg nas cadeias alimentares aquáticas.

No pescado, o Hg é fixado preferencialmente no grupamento sulfidrila da proteína, sendo acumulado principalmente como MeHg (que constitui, em média, 85% do HgT), considerada a forma química mais deletéria ao homem (BISIONOTI e JARDIM, 2004; KITAHARA et al, 2000). Mesmo em regiões com níveis normais de Hg na água, podem ser observados níveis importantes de Hg em peixes, uma vez que incorporado à cadeia trófica o Hg é biomagnificado.

2.4.2 Absorção de MeHg

Os compostos orgânicos de Hg são bem absorvidos pelo trato gastrointestinal. O MeHg, por exemplo, pode atingir taxas de 80 a 95% de absorção em adultos, quando misturado à alimentação, independente de se tratar de cloreto, sulfato ou outros sais. Estudos em animais mostram que a absorção independe da idade do animal (SALGADO, 2003). O MeHg unido a sulfidrilas de proteínas de peixes sofre, após ingestão, a ação do suco gástrico, originando o cloreto de MeHg. Em seres humanos expostos diariamente a grandes quantidades de MeHg por via oral, os percentuais de HgT encontrados como HgI no sangue total, plasma, leite materno, fígado e urina foram de 7, 22, 39, 16-40 e 73%, respectivamente (AZEVEDO, 2003).

2.4.3 Distribuição de MeHg

Após a absorção do Hg, o mesmo cairá na corrente sanguínea e será distribuído ao organismo. Essa distribuição poderá chegar a um estado de equilíbrio, dependendo de fatores como: grau de oxidação do Hg; duração da exposição; dose; concentração dos compostos de Hg nos distintos compartimentos sanguíneos; afinidade do Hg com compostos celulares e velocidade de associação e dissociação do complexo mercúrio-proteína. No sangue, o Hg derivado dos compostos organomercuriais fixa-se, sobretudo, à hemoglobina numa taxa significativa que pode atingir até 90%. A relação entre as concentrações eritrócito/plasma para o MeHg é de cerca de 10 até 20. Mais de 90% do Hg presente nos glóbulos vermelhos estão na forma metilada, enquanto que no plasma, 25% do total estão na forma inorgânica (AZEVEDO, 2003).

Os compostos organomercuriais se distribuem amplamente por todo o organismo, devido apresentarem a característica de lipossolubilidade, dessa forma, são facilmente carregados pela membrana plasmática celular (STRAKA et al, 2016). De acordo com Langford e Ferner (1999), cerca de 90% de uma dose oral de MeHg é absorvida pelo organismo, porém, a distribuição deste elemento dentro do corpo é incerta.

A maior parte dos organomercuriais vai para o cérebro, fígado e rins, embora também seja detectado no epitélio da tireóide, células medulares das glândulas adrenais, espermatozoides, epitélio pancreático, epiderme e cristalino. A distribuição do MeHg no organismo leva cerca de cinco dias para atingir um equilíbrio, então atravessa a barreira hematoencefálica, concentrando-se no cérebro. O transporte pelos tecidos parece ser mediado pela formação de um complexo cisteína-metilmercúrio (ESPANOL CANO, 2001).

De todas as formas do Hg, a forma orgânica é a de maior deposição cerebral, podendo atingir neste órgão até 98% do total absorvido. Por essa razão, o sistema nervoso central é o ponto crítico do organismo na exposição ao MeHg. No cérebro, o MeHg deposita-se preferencialmente nas células da substância cinzenta, residindo principalmente na fração protéica do citoplasma e em pequenas quantidades no núcleo ligado ao ácido nucléico (AZEVEDO, 2003)

O MeHg também se une às proteínas dos gânglios espinhais e a remoção por quelantes do Hg depositado no sistema nervoso central é mais lenta do que aquele depositado em outros órgãos. No músculo, o Hg apresenta-se quase inteiramente sob a forma metilada, enquanto que no fígado e nos rins proporção considerável mostra-se sob

a forma inorgânica. Nas células hepáticas o MeHg forma complexos solúveis com a cisteína e o glutatona, os quais são então secretados na bile e reabsorvidos no trato gastrointestinal (AZEVEDO, 2003).

2.4.4 Efeitos do Hg

O sistema nervoso central é o alvo principal do MeHg e a intoxicação por MeHg se caracteriza por ataxia (perda da coordenação dos movimentos voluntários), a disartria (problemas nas articulações das palavras), a parestesia (perda da sensibilidade nas extremidades das mãos e pés e em torno da boca), visão de túnel (constricção do campo visual) e perda da audição. Uma contaminação severa pode causar cegueira, coma e morte (BAKIR et al., 1973).

Apesar dos distúrbios neurológicos estarem mais relacionados à contaminação por Hg orgânico (principalmente MeHg), alguns estudos têm demonstrado uma relação do Hg inorgânico com sintomas neurológicos, como a insônia. A insônia é reconhecida entre um dos sintomas de contaminação crônica do Hg há vários anos e desde os primeiros estudos ela vem sendo relacionada à irritabilidade, dificuldade na concentração, perda de memória, apatia e baixa estima acentuada. Acredita-se que estas alterações no ciclo de sono possam ser explicadas por um severo prejuízo neuropatológico, incluindo múltiplos circuitos neurais, associados com a absorção e a ação do Hg pelo sistema nervoso central (ROSSINI et al., 2000).

Evidências em um número grande de fontes indicam que a exposição crônica às concentrações de metais pesados, incluindo o Hg, resulta em disfunções imunológicas (ROSSINI et al., 2000). Tais disfunções podem gerar deficiências imunoregulatórias, portanto, o Hg pode ser capaz de desencadear doenças imunológicas (como doenças autoimunes) ou promover infecção crônica, além disso, existe a possibilidade de que a disfunção imune possa influenciar no desenvolvimento e progressão do câncer.

O mecanismo pelo qual os compostos de Hg atuam no sistema imune não está bem esclarecido e as sequelas clínicas decorrentes da exposição são, frequentemente, consideradas paradoxais. No entanto, estudos recentes apontam a apoptose de linfócitos e monócitos induzida por Hg, como tendo um papel importante na disfunção imune causada por este metal (BEN-OZER et al., 2000; SHENKER et al., 2000).

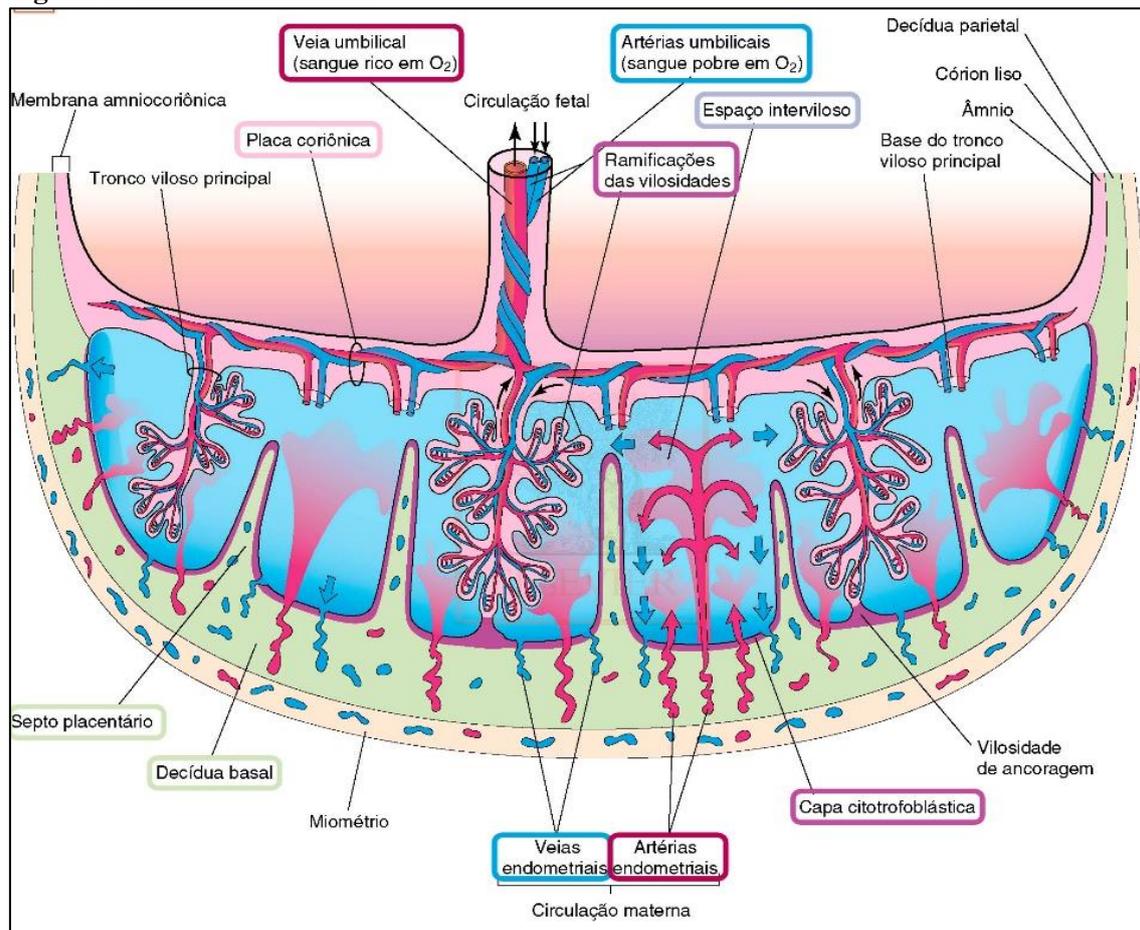
Os neonatos dependem de suas mães para nutrição, a qual é mediada pelo fluxo sanguíneo materno e fetal da placenta, incluindo elementos essenciais, tais como selênio

(Se), zinco (Zn), e cobre (Cu). Contudo, os neonatos também estão expostos através de suas mães a elementos tóxicos, como MeHg, Hg-I, chumbo e cádmio. As transferências de metais tóxicos de mãe para feto são principalmente estudadas comparando-se as concentrações destes elementos no sangue materno, sangue do cordão umbilical ou células vermelhas do sangue – hemácias. Independentemente da forma química, o Hg ultrapassa rapidamente a barreira placentária e atinge o feto com concentrações, no mínimo, iguais às maternas, o metal tende a se acumular no tecido cerebral do feto (NEEDHAM, et al, 2011).

A placenta é um anexo embrionário através do qual todos os nutrientes necessários são transferidos de mãe para bebê. A placenta também funciona como uma barreira desintoxicante para a passagem de substâncias tóxicas do feto para a mãe, bem como, também permite a passagem de elementos não-essenciais ao feto durante seu desenvolvimento intrauterino (YOSHIDA, 2002; SAKAMOTO, 2013).

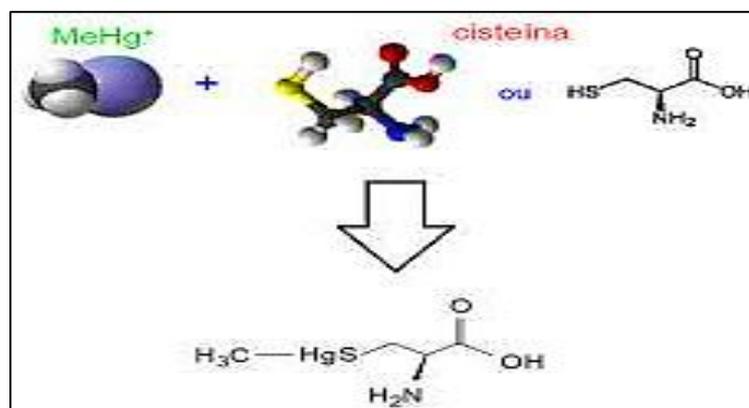
A transferência de todas as substâncias do feto para a mãe e da mãe para o feto depende principalmente dos processos que facilitam o transporte destas substâncias, os quais ocorrem em uma região placentária denominada de sinciotrofoblasto, também conhecida como barreira placentária (figura 4). A transferência de elementos ocorre da placenta coriônica intacta até o sinciotrofoblasto por meio da interação com o espaço interviloso. Este processo de transferência fornece ao feto oxigênio, nutrientes e prevê a eliminação de resíduos metabólicos (RUDGE, et al, 2009).

O MeHg ultrapassa facilmente a barreira placentária e atinge a circulação fetal, concentrando-se principalmente no sangue e no cérebro, alguns níveis fetais de Hg podem atingir o dobro dos encontrados em tecidos maternos, pois de acordo com Sakamoto (2013), os eritrócitos fetais apresentam taxas de Hg até 30% superiores quando comparadas aos eritrócitos maternos. Este gradiente de concentração que se estabelece para o Hg “a favor” do feto aumenta bastante o risco de intoxicação fetal (YOSHIDA, 2002).

Figura 4 - Barreira Placentária

Fonte: Moore, 2012.

O transporte de MeHg para os tecidos corporais parece ser mediado pela formação de um conjugado de metilmercúrio-cisteína (figura 5), que é transportada para as células através de uma proteína transportadora de aminoácido neutro (SAKAMOTO, 2015).

Figura 5 - Complexo metilmercúrio-cisteína.

Fonte: Adaptado de Mercury and health, 2013.

Além disso, a concentração de MeHg no sangue fetal pode chegar até cerca de 1.6 vezes maior do que a concentração de MeHg da mãe devido o transporte ativo deste metal através da placenta, deste modo, os fetos são reconhecidos como o grupo de maior risco para intoxicação ao MeHg. Outros fatores que influenciam na transferência placentária de MeHg são a relação entre a contagem de eritrócitos, as concentrações de hemoglobina e a afinidade de ligação da hemoglobina com o MeHg (SAKAMOTO, 2015).

Jin et al., (2016) relataram em sua recente pesquisa que a exposição pré-natal ao MeHg pode induzir a defeitos no tubo neural (DFTN), malformações vertebrais ou até mesmo promover a diminuição da proliferação de células no interior dos tubos neurais embrionários em modelos animais. Em altas concentrações, o MeHg pode atravessar a placenta e inibir o desenvolvimento placentário e a diferenciação dos vasos sanguíneos, evidenciando o fato de que os níveis de exposição mais elevado de MeHg estão associados a um risco elevado de DFTN na província de Shanxi, na China.

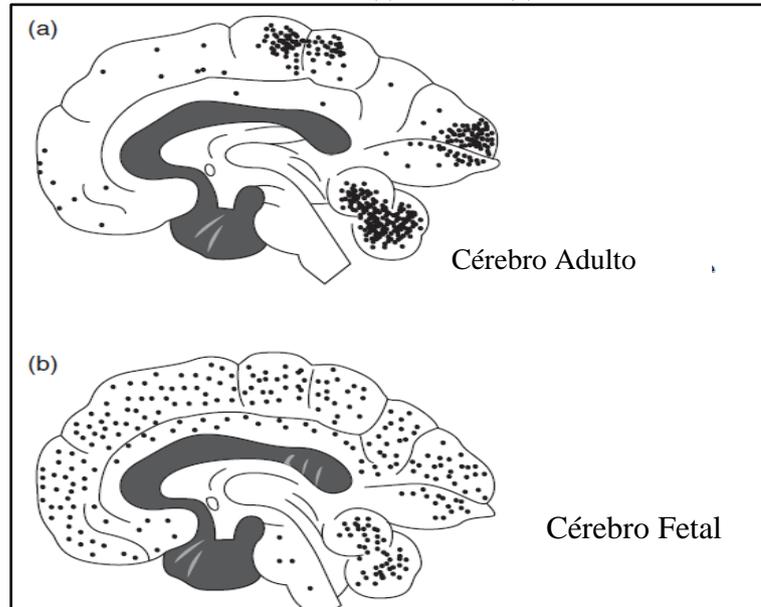
A concentração de Hg no tecido do cordão umbilical foi usada como um indicador dos efeitos da exposição fetal ao MeHg (GRANDJEAN et al., 2005). O HgT encontrado no tecido do cordão umbilical têm fortes correlações com os níveis de HgT encontrados no sangue fetal (SAKAMOTO et al., 2007). Graças ao tradicional costume japonês de preservação do tecido do cordão umbilical no momento do nascimento, este tecido do cordão preservado é útil para estimar a exposição ao MeHg passado. Praticamente, a concentração de MeHg preservado em cordões umbilicais tem sido utilizada como um biomarcador para a exposição a este metal no distrito de Minamata (SAKAMOTO, 2010).

O risco de exposição do feto ao MeHg é muito alto, no entanto, os níveis de Hg no sangue de crianças diminuiu drasticamente durante a amamentação, tanto em animais quanto em humanos. Pacientes fetais nascidos com a Doença de Minamata durante a grave poluição de MeHg entre os anos de 1955-1959, exibiram retardo mental, permanência de reflexos primitivos, ataxia cerebelar, distúrbios no crescimento físico, disartria, e deformidades nos membros semelhantes aos sintomas de paralisia cerebral (TAKEUCHI, 1962).

Diferentemente dos pacientes adultos com a doença de Minamata, os pacientes que apresentaram o tipo fetal da doença revelaram degeneração neuronal grave generalizada no sistema nervoso central, como mostrado na figura 6, além de sintomas semelhantes aos da paralisia cerebral. Nos casos em adultos, a degeneração neuronal foi observada principalmente no córtex cerebral (lobos parietal, occipital e temporal),

cerebelo e nervos periféricos e mostrou como principais sintomas perturbações sensoriais, ataxia cerebelar, constrição dos campos visuais e deficiência auditiva, refletindo o lugar onde os nervos foram danificados (TAKEUCHI, 1962).

Figura 6 - Comparação entre a distribuição de lesões na Doença de Minamata no adulto (a) e no feto (b).



Fonte: Adaptado de Liu et al, 2012.

2.4.5 Eliminação de Hg

O Hg é eliminado do organismo humano pelos rins, fígado (via bile), mucosa intestinal, glândulas sudoríparas e salivares, pele e leite. As vias urinária e fecal são as mais importantes vias de eliminação, pois do total absorvido, cerca de 90% é eliminado na forma inorgânica pelas fezes e o restante pela urina. Dois processos estão envolvidos na eliminação: a excreção biliar do MeHg e a excreção pela esfoliação das células epiteliais intestinais, movendo o Hg pelo lúmen intestinal. Parte do MeHg eliminado pela bile no intestino é reabsorvido para a corrente sanguínea, este processo é determinante para a sua lenta eliminação, dando lugar à acumulação elevada, e parte serve de substrato à microflora intestinal que o converte em HgI. A maior parte do Hg absorvido é eliminada de 60 a 70 dias, contudo, traços podem ser detectados no organismo por meses ou anos (AZEVEDO, 2003).

2.5 MARCADORES BIOLÓGICOS

As exposições ao Hg podem ser estimadas através de sua medição em vários tecidos corporais, entre eles cabelo, sangue, cordão umbilical, urina, leite humano e unhas das mãos e dos pés (WHO/UNEP, 2008). Esses tecidos, também conhecidos como marcadores biológicos ou biomarcadores, são instrumentos úteis para a avaliação da exposição humana. São considerados como índices sensíveis da exposição do indivíduo ao Hg, fornecendo uma medida da dose interna, que pode ser usada para avaliar a probabilidade de efeitos adversos à saúde e melhorar os diagnósticos clínicos. Estes biomarcadores são úteis como ferramentas de vigilância para monitorar a exposição ao Hg (WHO/UNEP, 2008).

Na atualidade, as seguintes matrizes podem ser utilizadas como biomarcadores para a exposição ao Hg em seres humanos: sangue; tecido do cordão umbilical; cabelo; urina; leite humano e unhas das mãos e/ou dos pés. A maioria destes podem ser recolhidos de forma não invasiva (exceto sangue), e as amostras podem ser armazenadas facilmente. Na presente pesquisa foram utilizados como biomarcadores cabelos, tecido do cordão umbilical e tecido placentário.

2.5.1 Cabelo

Para avaliações de exposição, o cabelo possui grande potencial para a identificação da contaminação e intoxicação de populações expostas ao MeHg via ingestão de pescado. Uma vez absorvido, o MeHg acessa o folículo capilar por meio do sangue que irriga a raiz do cabelo, concluindo-se, portanto, que a concentração de Hg no cabelo apresente uma razão direta com a concentração de Hg no sangue, refletindo sua carga corporal. Desta forma não é só possível estimar a carga corporal de um indivíduo, mas também conhecendo a taxa de crescimento do cabelo, é possível por meio de análise longitudinal do mesmo, estimar a carga corporal de Hg nos meses passados (ZAREBA et al., 2008).

O cabelo tem afinidade ao MeHg durante a sua formação e mostra uma relação direta com os níveis de Hg no sangue, proporcionando um método preciso e confiável para medir os níveis de MeHg no corpo. O sangue pode ser usado para documentar a exposição a curto prazo do MeHg e fornece informações diferentes quando comparado ao cabelo. O cabelo é a escolha preferida para muitos estudos, uma vez que fornece uma

amostra simples, integradora e não invasiva para estimar a exposição média de longo prazo. Uma vez incorporado no cabelo, o Hg não retorna ao sangue, portanto, fornece um bom marcador de longo prazo de exposição ao MeHg (WHO/UNEP, 2008).

Os mecanismos de transporte de MeHg e incorporação do mesmo no cabelo não foram estudados extensivamente, os estudos de transporte de MeHg e acumulação nas células endoteliais da barreira sangue-cérebro e a secreção a partir de células do fígado, demonstraram que a captação do Hg é realizada através das membranas celulares por meio de um complexo de pequena massa molecular que contém moléculas de tiol endógeno. Especificamente, o MeHg entra nas células por meio de um complexo de aminoácido L-cisteína e sai das células por meio de um complexo com glutatona reduzida (ZAREBA et al., 2008).

A estrutura do complexo MeHg-cisteína é suficientemente semelhante à do aminoácido neutro, metionina. Embora este mecanismo de transporte não tenha sido demonstrado especificamente para absorção de MeHg nos queratinócitos do folículo piloso, é provável que seja o principal caminho, se não o único, pois tal mecanismo é universalmente presente em todas as células de mamíferos que realizam a síntese de proteínas, uma atividade que é particularmente alta no folículo piloso (ZAREBA et al., 2008). A estrutura do cabelo depende da etnia e idade, e isso pode afetar a incorporação de Hg, bem como a cor do cabelo também parece desempenhar um papel importante. O Hg total no cabelo é cerca de 250 a 300 vezes maior do que a concentração de Hg no sangue no momento em que o cabelo é formado (SAKAMOTO et al, 2004).

O nível normal de Hg no cabelo é de 1-2 $\mu\text{g/g}$ (WHO/UNEP, 2008), mas os indivíduos que consomem peixe uma ou mais vezes por dia podem ter níveis de Hg no cabelo superior a 10 $\mu\text{g/g}$ (WHO/UNEP, 2008). O MeHg geralmente constitui pelo menos 80% do HgT analisado no cabelo entre os consumidores de peixe. Portanto, o Hg do cabelo é um biomarcador muito bom para o MeHg e é frequentemente usado para caracterizar as exposições ao MeHg. O cabelo cresce aproximadamente 1 cm por mês e pode ser avaliado ao longo do eixo para fornecer um perfil de exposição ao longo do tempo, as exposições anteriores permanecem inalteradas por até 11 anos (McDOWELL et al., 2004).

2.5.2 Cordão Umbilical

O cordão umbilical é um componente importante da placenta que começa a se desenvolver na quinta semana pós-menstrual, quando uma ponte de tecido mesenquimal condensa entre a superfície ventral do embrião e do córion, formando a haste de conexão entre ambos (PROCTOR et al., 2013). Por se tratar de uma ligação entre a placenta e o feto, o cordão umbilical é responsável pelo fluxo sanguíneo materno-fetal, fornecendo ao feto oxigênio e nutrientes que garantem seu crescimento e desenvolvimento durante a gestação (BARBIERI et al., 2011).

O cordão umbilical possui uma estrutura helicoidal, composto por duas artérias e uma veia, que são rodeadas pela geleia de Wharton, por um tecido poroso conjuntivo e por uma camada externa de célula única de âmnio. Os vasos umbilicais diferem na estrutura e na função, em comparação com os vasos principais do corpo, as duas artérias umbilicais se encontram em volta da veia numa forma helicoidal e o sangue flui de um modo pulsátil do feto para placenta através das artérias e da placenta para o feto através da veia umbilical (WANG et al., 2004; FILIZ et al., 2011).

O tecido do cordão pode ser considerado como uma amostra de biomarcador e foi utilizado nos estudos originais em Minamata e atualmente tem sido citados em vários estudos da área (GRANDJEAN et al, 2005; SAKAMOTO et al, 2007; SAKAMOTO et al, 2010; SAKAMOTO et al, 2013; KIM et al, 2015; SAKAMOTO et al, 2016) . Em particular, quando expresso em relação ao peso seco do tecido, a concentração de Hg do cordão correlacionou-se muito bem com a do sangue do cordão umbilical, é possível dizer que a concentração de Hg de cordão umbilical foi quase tão boa preditora de déficits neuropsicológicos associados ao MeHg aos 7 anos de idade quanto a concentração de Hg no cordão umbilical (SAKAMOTO et al, 2013).

Uma análise recente de estudos utilizando o cordão umbilical como biomarcador para avaliação da exposição revelou que a concentração de Hg no cordão umbilical parece ser um biomarcador direto do feto (NEEDHAM, et al, 2011; SAKAMOTO et al, 2016), a análise do Hg do cordão umbilical pode, portanto, ser usada como uma medida válida da exposição pré-natal ao MeHg, mas deve ser considerado um ajuste apropriado para a imprecisão (WHO/UNEP, 2008).

2.5.3 Placenta

No estudo de Sakamoto et al. (2013), foi feita a comparação entre a transferência de alguns elementos de mãe para feto durante a gestação comparando os perfis dos elementos entre o tecido coriônico placentário e do tecido do cordão umbilical. Os níveis de MeHg encontrados no tecido placentário e também no tecido do cordão umbilical revelam que a transferência de MeHg via vertical é presente e o tecido placentário também pode ser usado como biomarcador para análise de Hg. Tanto a placenta quanto o tecido do cordão umbilical foram ótimos biomarcadores para avaliar concentrações de MeHg em recém-nascidos. Sobre o estudo de Sakamoto et al (2013), as concentrações de MeHg na placenta apresentaram fortes correlações com aquelas de Hg Total (HgT) no cordão umbilical.

Esses resultados mostram que, ao contrário dos outros elementos, o HgT é distribuído igualmente entre os tecidos, implicando que tanto a placenta quanto o tecido do cordão podem ser utilizados como biomarcadores para exposição pré-natal de MeHg em mães e recém-nascidos. Alguns estudos mostram que o tecido coriônico placentário pode ser utilizado como potente biomarcador para exposição pré-natal de Hg (IYENGA e RAPP, 2001; GRANDJEAN et al, 2005; KOZIKOWSKA, 2013; GILMAN, et.al,2015).

2.6 MERCÚRIO E CONSUMO DE PEIXE NA REGIÃO AMAZÔNICA

Os primeiros registros da garimpagem de ouro na Amazônia remontam ao século XVIII. Essa atividade intensificou-se na década de 70 do século XX, com a construção das rodovias Transamazônica e Cuiabá- Santarém. Até a segunda metade desta década, a lavra garimpeira na Amazônia era apoiada em equipamentos rudimentares como pás e picaretas. A Bacia do Rio Tapajós, principal tributário do Amazonas, foi responsável na década de 80 por cerca de 50% do ouro produzido no Brasil, com a maior concentração de garimpos localizados nos municípios de Itaituba e Jacareacanga (SÁ et al, 2006).

As emissões de Hg por meio de operações informais de mineração de ouro representam um sério problema ambiental nos países em desenvolvimento. Na Amazônia, cerca de 70 a 170 t de Hg são descarregados anualmente e a extensão da contaminação da biota é ainda mais difundida. Durante séculos, a capacidade exibida pelo Hg para formar amálgama com ouro levou as pessoas a usar Hg para extrair o metal precioso por

meio da prática artesanal de mineração em pequena escala onde o Hg foi e ainda hoje é usado para formação de amálgamas. Este processo de mineração envolve as seguintes etapas: o minério molhado (ou lama ou concentrado de minério) é misturado com Hg metálico (líquido - Hg^0), o Hg^0 , por sua vez, se liga quimicamente com o ouro ou a prata presente na lama, a lama restante é lavada deixando um “Hg-ouro” ou “Hg-prata” em forma de amálgama e rejeitos contaminados. O amálgama é então aquecido em várias fases para liberar o Hg, com níveis crescentes de pureza do ouro ou da prata (WHO/UNEP, 2008).

Diante desta realidade, os mineiros artesanais são geralmente os mais diretamente expostos, seja por manipulação direta ou por respirar os vapores de Hg gerados durante a queima do amálgama de “Hg-ouro”. No entanto, em muitos casos, a separação de calor do ouro é realizada em casas, ou em outros locais perto de membros da família e outras pessoas, expondo esses e outros indivíduos a níveis elevados de Hg gasoso (WHO/UNEP, 2008).

Vale ressaltar que nos últimos anos, houve retração da atividade causada pela exaustão dos depósitos aluvionares e por dificuldades tecnológicas na exploração dos depósitos primários de ouro (SÁ, et al, 2006). Porém, apesar desta diminuição, ainda hoje são despejadas cerca de 100 toneladas de Hg utilizados nos garimpos de ouro da Amazônia (dos quais muitos ainda são clandestinos). Entretanto, outras atividades humanas que são capazes de liberar o metal no meio ambiente foram aumentando, gradualmente, nos últimos anos, como o desmatamento, as queimadas, as barragens e a construção de hidrelétrica. Tais fenômenos podem ter contribuído para a exposição ocupacional e ambiental ao Hg na região amazônica (PINHEIRO, et al, 2000).

Em associação com estas atividades de mineração, tem havido um importante desmatamento realizado pela população amazônica para o desenvolvimento da agricultura. O Hg lançado no ecossistema aquático, proveniente das atividades minerais e a lixiviação dos solos após o desmatamento, são considerados os principais fatores para a contaminação deste ecossistema. Estudos conduzidos na região do rio Tapajós (PINHEIRO et al, 2000; WASSERMAN et al, 2001; BRABO et al, 2003; SÁ et al, 2006; FONSECA et al, 2007), considerado o maior afluente do rio Amazonas, mostram que o Hg está presente em todos os compartimentos do meio ambiente. O processo de biotransformação do Hg inorgânico em MeHg nos ambientes aquáticos é bem conhecido o que torna viável a exposição e contaminação humana pelo consumo de peixes contaminados (ROULET et al., 1998).

Logo, os impactos do desmatamento em grande escala nos ecossistemas são numerosos. Em ambientes tropicais, a camada de solo orgânica-rica naturalmente mantida em lugar por raízes de árvore, é frequentemente erodida durante chuvas sazonais. O Hg acumulado nestes solos devido à deposição atmosférica também é lavado para rios e lagos. Segundo alguns autores (ROULET et al., 2000; CARMOUZE et al., 2001), essa fonte de carga de Hg para os ecossistemas aquáticos pode ser de maior importância em algumas regiões, uma vez que, populações que consomem peixes de água impactadas pelo desmatamento podem estar em risco de exposição ao Hg. Portanto, essas populações podem ser uma prioridade para avaliações locais aprofundadas (WHO/UNEP, 2008).

O Estado do Pará tem uma área de 10 milhões de hectares e, está entre os estados que mais extraem ouro na região amazônica, possuindo a maior área e maior número de locais de garimpo (LIMA et al., 2000) e a região do Tapajós é formada por muitos povoados típicos da Amazônia, na forma de vilas e aglomerados rurais, localizados às margens do rio. Essas comunidades ribeirinhas possuem características semelhantes, quanto aos aspectos demográficos, de saúde, saneamento e hábitos culturais. A alimentação é composta por feijão, arroz, farinha, milharia e, às vezes, carne de boi ou galinha, mas o pescado, ainda, representa a principal fonte protéica dessas populações (SÁ et al, 2006).

O município de Santarém é o segundo mais importante no Estado do Pará e está localizado na região oeste do Estado, com uma área de 26.522 km² e uma população estimada de 292.520 habitantes (IBGE, 2015). Este município é atravessado por seis rios importantes: Amazonas, Tapajós, Arapiuns, Curuá- una, Moju e Mojuí e o clima dominante na área é quente e úmido, típico de áreas com florestas tropicais, sem grandes variações de temperatura (LIMA et al., 2000).

Os principais peixes que influenciam grandemente o rendimento ictiológico de Santarém são o Pirarucu, Tambaqui, Curimatã, Acarí, Dourada, Tucunaré e Surubim. A produção é parcialmente consumida no município; o restante é exportado para várias outras localidades, tais como Belém, Abaetetuba e outros, assim como as cidades de Fortaleza, Manaus, Brasília e São Paulo (LIMA et al., 2000).

Na maioria dos estudos sobre exposição humana ao Hg na região Amazônica, um dos aspectos mais importantes evidenciados é o consumo de peixe pela população, visto que este representa a principal fonte de entrada do elemento no organismo. A ingestão contínua de peixe em taxas maiores que a capacidade do organismo em excretar o Hg

pode causar seu acúmulo no organismo, provocando efeitos nocivos (HIGHTOWER e MOORE, 2003).

Considerando apenas a entrada de Hg e mantendo a saída fixa, a concentração de Hg no organismo vai depender da concentração no peixe e da taxa de ingestão. O MeHg possui uma meia vida de aproximadamente 70 dias no organismo humano, o que significa que o organismo se auto depura do Hg ingerido. Portanto, as concentrações de mercúrio no organismo vão depender do balanço entre a entrada e a saída desse elemento (HIGHTOWER e MOORE, 2003).

O peixe pode acumular MeHg em seus tecidos, onde torna-se fortemente ligado devido sua alta afinidade às proteínas presentes no músculo branco do peixe, tal acumulação é variável de acordo com a espécie e o MeHg não é removido dos tecidos do peixe por qualquer método prático de cocção, podendo ser absorvido pelo sangue corrente em média de 95% quando consumido. O MeHg é absorvido por todos os tecidos do corpo, com uma fase inicial de distribuição de 1-2 dias após uma dose única, é predominantemente excretado nas fezes, mas também na urina e suor (HIGHTOWER e MOORE, 2003; MERGLER et al., 2007).

2.7 NÍVEIS DE TOLERÂNCIA AO Hg

No Brasil, o limite de tolerância de Hg em pescado foi fixado em 0,5mg/kg para espécie não-predadora e 1,0 mg/kg para espécie predadora. Em alguns países da Europa (como Alemanha, Finlândia, Suécia), na Nova Zelândia e nos Estados Unidos, o valor limite permitido é de 1,0mg/kg. No Japão o limite é de 0,4mg/kg, na Austrália, Israel, Noruega, Suíça e Tailândia é de 0,5 mg/kg e na Itália de 0,7mg/kg. Mesmo que os alimentos sejam submetidos a salga, defumação ou tratamentos com ácidos fracos, não apresentam alteração na quantidade de HgT. Por outro lado, alguns estudos mostraram perda de aproximadamente 30% do teor de Hg após fritura ou cocção (JHONSTON e SAVAGE, 1991; BISINOTI e JARDIM, 2004).

O nível normal de Hg para o cabelo é de 1-2 ppm – partes por milhão - (ou 1-2 µg/g), mas as pessoas que consomem peixe uma ou mais vezes por dia podem ter níveis de Hg no cabelo superior a 10ppm. O nível normal de referência da Organização Mundial de Saúde – OMS, corresponde a 1-2ppm de Hg nos cabelos para pessoas com baixo consumo de peixe. O MeHg geralmente constitui pelo menos 80% do HgT analisado no cabelo entre os consumidores de peixe. Segundo relatórios da OMS os níveis de

exposição de Hg correspondentes a 50µg/g do cabelo estavam associados a um risco de 5% de alterações neurológicas em adultos (WHO/UNEP, 2008).

Os níveis de ingestão toleráveis de MeHg para as mulheres grávidas são decididos por autoridades competentes tendo em conta fatores de segurança fetais. A autoridade europeia de segurança em alimentos – EFSA (2012), assegura que o período pré-natal é a fase mais sensível do ciclo de vida para os efeitos de desenvolvimento neurológico do feto. Com isso, a exposição alimentar foi calculada separadamente para mulheres em idade fértil, os dados de consumo para as mulheres com idade entre 18 - 45 anos disponíveis foram combinados com níveis de concentração de MeHg e não houve diferenças significativas nesta subpopulação em comparação com os adultos em geral.

Indivíduos com doenças do fígado, rins, nervos, pulmões, insuficiência dietética de zinco, glutathione, antioxidantes ou selênio e aqueles que estão desnutridos podem ser mais sensíveis aos efeitos tóxicos do envenenamento por Hg devido à diminuição da capacidade dessas substâncias para proteger contra a toxicidade do Hg, logo, tais populações estão mais expostas a esta contaminação (NRC, 2000).

Outras subpopulações podem estar em maior risco de toxicidade por Hg devido estarem expostas a maiores níveis de MeHg por meio do consumo de peixes e mariscos (como os cidadãos asiáticos que consomem grandes quantidades de peixe e mamíferos marinhos em quando comparados com outras regiões). Assim como as populações indígenas que consomem grandes quantidades de peixes também podem estar expostas a níveis elevados de MeHg (NRC, 2000).

Os pescadores recreativos e os pescadores de subsistência que consomem com frequência peixes capturados localmente a partir de corpos de água expostos ao Hg ou que consomem espécies oceânicas predadoras de longa vida (como tubarão) podem ser expostos ao MeHg a níveis mais elevados do que indivíduos que consomem quantidades semelhantes ou menores de peixes. No geral, a exposição ao MeHg será maior entre as pessoas que comem regularmente peixe e outros produtos do mar em comparação com aqueles que apenas ocasionalmente ou nunca comer peixe ou outros produtos do mar (NRC, 2000; WHO/UNEP, 2008)

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a presença de mercúrio total (HgT) em gestantes de Santarém - Pará.

3.2 Objetivos Específicos

Analisar as concentrações de HgT em cabelos maternos, cordões umbilicais e tecidos placentários fetais;

Correlacionar as concentrações de HgT do cordão umbilical com as concentrações de HgT dos cabelos maternos;

Correlacionar as concentrações de HgT do tecido placentário fetal com as concentrações de HgT dos cabelos maternos;

Correlacionar as concentrações de HgT de tecido placentário fetal com o HgT no cordão umbilical;

Correlacionar as concentrações de HgT das voluntárias com peso, altura e pressão arterial.

Correlacionar as concentrações de HgT das voluntárias com a frequência de consumo de peixe;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Submissão ao Conselho de Ética

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Estado do Pará (UEPA-CAMPUS XII) sob protocolo de autorização nº 1.358.319. Somente após a aprovação do CEP/UEPA (ANEXO 3), obtenção da autorização da Secretaria Municipal de Saúde de Santarém (ANEXO 4), autorização formal do Programa de Pós-Graduação em Biociências (ANEXO 5) e aceite do orientador da pesquisa (ANEXO 6) o método de coleta de dados foi iniciado.

O presente estudo foi desenvolvido seguindo as emendas da declaração de Helsinque (1964) revisada em 1996, Código de Nuremberg (1947) e respeitando as Normas do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos (Res. CNS 466/12). Os princípios de autonomia, beneficência, não maledicência, justiça e equidade foram respeitados.

As voluntárias foram selecionadas respeitando-se os critérios de inclusão e exclusão deste estudo e foram explicados todos os procedimentos da pesquisa (duração, objetivos, método, riscos e benefícios), aquelas que aceitaram participar do estudo assinaram o TCLE. Após as devidas orientações foram coletadas as amostras necessárias (cabelos maternos, unhas maternas, cordão umbilical e parte fetal do tecido placentário) e aplicado os questionários, sendo esta metodologia executada somente naquelas que assinaram o TCLE.

Foi assegurada a liberdade de retirar o consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalização ou prejuízo. Bem como a não divulgação das identidades e o uso restrito dos dados para fins de pesquisa. Os questionários aplicados serão arquivados pela pesquisadora e serão incinerados e apagados de seus bancos de dados pela mesma após 05 anos de finalizada a pesquisa.

4.2 Caracterização do Estudo

A pesquisa desenvolvida caracteriza-se como uma investigação observacional, qualitativa/quantitativa de caráter analítico e exploratório. Quanto aos seus procedimentos técnicos, pode ser classificada como uma pesquisa bibliográfica e laboratorial. Quanto ao seu desenvolvimento no tempo, trata-se de um estudo transversal, uma vez que será realizado em um espaço de tempo pontual (FONTELES, 2012).

4.3 Caracterização do local do estudo

4.3.1 Cidade de Santarém

O município de Santarém-PA pertence à mesorregião do Baixo Amazonas e microrregião Santarém, localizado no estado do Pará, região norte do Brasil. Apresenta como coordenadas geográficas: latitude - 02° 26' 35" S; longitude - 54° 42' 30" W e altitude de 51m. Tem uma população de 292.520 mil habitantes, com área geográfica de 24.422,5 Km² banhada pelos rios Tapajós e Amazonas (IBGE, 2015). O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de Santarém no ano de 2013 foi 0,691, estando a frente de cidades como Altamira, Castanhal, Itaituba e Marabá.

4.4 Universo e Amostra (Critérios de Inclusão e Exclusão)

As voluntárias desta pesquisa foram 45 gestantes com idade entre 18 e 43 anos atendidas pelo Sistema Único de Saúde na cidade de Santarém-Pará. Na primeira etapa do projeto foi realizada a sensibilização da direção do Hospital Municipal de Santarém (HMS), para a obtenção de autorização formal para a realização das coletas das amostras de cabelo materno, placenta e cordão umbilical (ANEXO 1). A seleção das amostras ocorreu por conveniência, as voluntárias que tinham interesse de participar e aceitaram assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) puderam compor a amostra (APÊNDICE 1). Além disso, estas deveriam corresponder aos critérios de inclusão e não apresentar os de exclusão que estão descritos abaixo:

- **Critérios de Inclusão**

- Ter idade entre 18 e 45 anos;

- Aceitar a coleta de cabelos, cordão umbilical e placenta da mesma participante;

- Ser isenta de tratamentos capilares (tinturas, permanentes) por pelo menos 6 meses antes da participação na pesquisa;

- Gestantes submetidas a partos fisiológicos (partos normais);

- Esteja no período de gestação a termo;

- Não ser tabagista;

- **Crêterios de Exclusão**

Ter utilizado produtos químicos (tinturas/permanentes) durante a gesta o;

Apresentar cabelos de comprimento incompatível com a coleta;

Gestantes submetidas a partos cesáreos;

Gesta o pré-termo;

Ser tabagista;

Ser soropositiva;

Ser indígena;

4.5 Período da Pesquisa

A pesquisa iniciou-se a partir do momento de aprova o da Secretaria Municipal de Saúde de Santarém - SEMSA (ANEXO 4) e do Comitê de  tica em Pesquisa da Universidade do Estado do Pará (CEP/UEPA) (ANEXO 3), juntamente com autoriza o formal da dire o administrativa do HMS (ANEXO 1). A coleta dos dados ocorreu entre os meses de maio a julho de 2016, durante os períodos matutino, vespertino e noturno, sendo as coletas realizadas na sala de pré-parto, sala de parto e enfermarias do setor de obstetrícia do HMS. Posteriormente, o material biológico foi analisado no Laboratório de Bioprospecc o e Biologia Experimental – LAbBBEX, nas dependências da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), campus Santarém (ANEXO 2).

4.6 Método de Coleta de Dados

Após explica o do projeto, através de comunica o individual e exposi o do TCLE, cada voluntária após concordância e assinatura do termo, respondeu ao questionário (APÊNDICE 2) para coletas de informa es importantes para a discussão dos resultados a serem obtidos. Este estudo coletou amostras de cabelos maternos, cordão umbilical e tecido placentário fetal de gestantes doadoras que utilizaram o Sistema  nico de Saúde da cidade de Santarém – Pará. Além disso, foi realizada medi o de peso, altura e pressão arterial das participantes da pesquisa.

4.6.1 Aplicação de Questionário:

Algumas informações que compõem esse estudo foram registradas em questionário específico de frequência alimentar (FFQ), incluindo informações detalhadas sobre o consumo de diferentes espécies de peixes que refletiam a ingestão média durante o período gestacional. (APÊNDICE 2), o qual é constituído dos seguintes campos: Identificação - dados da gestante (nome, idade, endereço, estado civil, ocupação, peso, altura, pressão arterial, etc.), características familiares como doenças pregressas, tipo de consumo de água e por fim, hábitos alimentares maternos (consumo de peixe, frutas entre outros). Para maior fidedignidade às respostas quanto aos hábitos alimentares das participantes, foram utilizadas réplicas de silicone mimetizando postas de peixes em pesos de 50 e 100g (figura 7). As informações foram obtidas nas enfermarias do setor de obstetrícia do Hospital Municipal de Santarém entre os meses de maio a julho de 2016.

Figura 7 - Postas de peixe confeccionadas em silicone



Fonte: Autora, 2016.

4.6.2 Coleta de cabelos:

Este procedimento justifica-se pelo fato do Hg ingerido pelos humanos ser eliminado nos cabelos, sendo este um excelente biomonitor das concentrações das formas químicas de Hg em humanos. O Hg do cabelo é predominantemente encontrado na forma de MeHg, o qual constitui cerca de 80-98% do Hg total do cabelo. Geralmente, a concentração de Hg no cabelo é 250-300 vezes maior do que no sangue (SAKAMOTO et al, 2015). Amostras de aproximadamente 20-30 fios de cabelos maternos foram retirados, com auxílio de tesoura romba curva da porção occipital da cabeça, sendo estes cabelos retirados das camadas mais

internas, visando reduzir ao mínimo possíveis problemas estéticos. A tesoura utilizada foi previamente descontaminada com álcool a 70% a cada coleta.

Os cabelos foram cortados junto ao couro cabeludo na região occipital da cabeça (figura 8), demarcados com etiqueta autoadesiva para identificação do primeiro segmento capilar (figura 9) e posteriormente, acondicionados em envelopes de papel munidos de identificação. Na presente pesquisa foram analisados os primeiros 3 centímetros do cabelo coletado, conforme protocolo sugerido em SAKAMOTO et al (2015), correspondendo ao Hg eliminado mais recentemente. Essas amostras foram analisadas em duplicata no LABBBEX/UFOPA, para determinação de Hg total em analisador por decomposição térmica DMA 80 (Milestone).

Figura 8 - Coleta de cabelo



Fonte: Autora, 2016

Figura 9 - Identificação do segmento

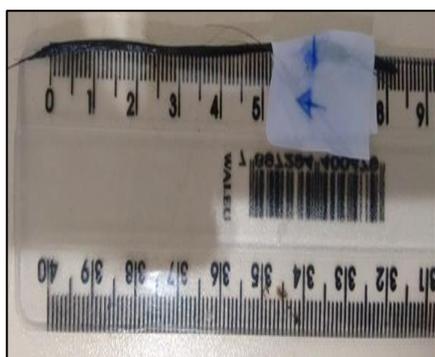


Fonte: Autora, 2016

4.6.2.1 Preparação das amostras de cabelo materno:

A análise para determinação de mercúrio total requer preparação das amostras. Para as amostras de cabelos maternos, os primeiros 3 centímetros da amostra coletada foram lavados com água grau reagente e 10ml de detergente neutro diluído 1000 vezes (figuras 10 e 11).

Figura 10 - Medida do segmento capilar



Fonte: Autora, 2016

Figura 11 - Lavagem do cabelo



Fonte: Autora, 2016.

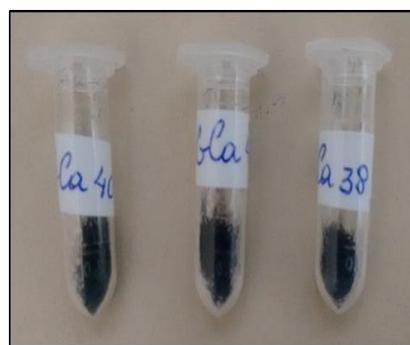
Logo após esse procedimento as amostras de cabelos foram secas em temperatura ambiente e então, foram fracionadas ao máximo com tesoura de aço-inoxidável em segmentos de aproximadamente 0,5 mm e transferidos para um béquer limpo (Figura 12) para melhor homogeneização da fração da amostra selecionada possibilitando o aumento da superfície de contato, conforme protocolo do Mercury Analysis Manual – Ministry of the Environmental - Japan (2004). Após o término de preparação das amostras de cabelos, as mesmas foram acondicionadas em tubos tipo eppendorf (figura 13) em temperatura ambiente até posterior análise.

Figura 12 - Fracionamento da amostra



Fonte: Autora, 2016

Figura 13 - Tubos Eppendorf



Fonte: Autora, 2016

Para a realização das análises, as amostras de cabelo foram submetidas ao procedimento de pesagem em balança analítica em alíquotas de aproximadamente 0,0020g (figura 14), e logo após a concentração de HgT foi analisada no aparelho DMA 80 Milestone (figura 15).

Figura 14 - Pesagem das alíquotas



Fonte: Autora, 2016

Figura 15 - Analisador DMA 80

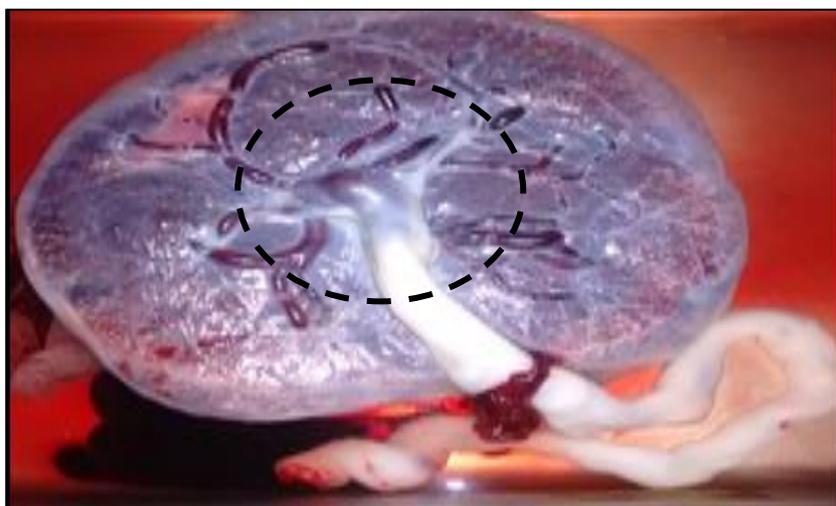


Fonte: Autora, 2016

4.6.2.2 Coleta de tecido placentário fetal e cordão umbilical

As amostras de tecido placentário fetal foram coletadas com auxílio de tesoura de ponta romba e pinça cirúrgica. O âmnio (membrana fetal que reveste a placenta) foi retirado com auxílio de pinça cirúrgica. O tecido coriônico foi retirado da face fetal da placenta (em uma única amostra) na região próxima à inserção do cordão umbilical, demonstrado na área tracejada da figura 16. O local de retirada do referido tecido foi padronizado para esta pesquisa levando-se em consideração que o HgT é igualmente distribuído tanto no tecido placentário quanto no cordão umbilical (SAKAMOTO, 2013).

Figura 16 - Face fetal da placenta e local de retirada do tecido coriônico



Fonte: Autora, 2016

As amostras de tecido do cordão umbilical foram coletadas com auxílio de tesoura de ponta romba e pinça cirúrgica previamente descontaminada. Cerca de 5 centímetros do tecido do cordão foi retirado da porção mais próxima à área de inserção umbilical fetal, logo após ao clampeamento pós-natal, o qual pode ser observado na área tracejada da figura 17. Tal área de retirada do tecido foi uniformizada na presente pesquisa, haja vista que ainda não há padronização de coleta deste material que tenha sido estabelecida pela OMS.

Figura 17 - Local de secção do cordão umbilical



Fonte: Autora, 2016

Após a coleta, tanto o tecido placentário fetal quanto o tecido do cordão umbilical, foram acondicionados em tubo falcon numerado acrescido de 15 ml de água grau reagente (figuras 18 e 19) para lavagem do tecido e retirada de impurezas, após esse processo a água foi desprezada e imediatamente após foi acrescido novamente ao tubo falcon 15 ml de água destilada afim de manter a integridade tecidual das amostras coletadas durante o período de congelamento até posterior análise.

Figura 18 - Tecido placentário



Fonte: Autora, 2016

Figura 19 - Cordão Umbilical



Fonte: Autora, 2016

Os tecidos placentários e os tecidos de cordão umbilical foram separados da amostra matriz em pequenas alíquotas e lavados exaustivamente em placa de Petri com água grau reagente para limpeza do sangue residual da amostra (Figura 20) e prensados usando toalhas de

papel absorventes para remover a água excedente. Todas as matrizes coletadas (cabelos maternos, cordões umbilicais e tecidos placentários fetais) foram analisados em duplicata.

Figura 20 - Lavagem do tecido placentário fetal (a) e cordão umbilical (b).



Fonte: Autora, 2016.

4.6.3 Análises de Mercúrio Total (HgT)

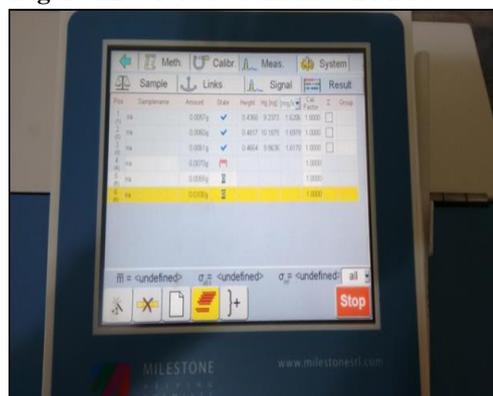
As concentrações de HgT foram realizadas no LABBBEX (UFOPA), as alíquotas de cada amostra foram analisadas em duplicata diretamente em analisador de mercúrio total DMA 80 (Milestone - Italy). O Milestone DMA-80 (figuras 21 e 22) é um analisador de Hg que utiliza o princípio de decomposição térmica, amálgama e absorção atômica. Este equipamento pode analisar tanto matrizes sólidas e líquidas com igual precisão. A análise leva apenas 5 minutos por prova e não requer digestão ácida de amostras. O DMA 80 utiliza-se do princípio de decomposição térmica, onde o material inserido em cubetas de quartzo é aquecido a cerca de 650°C sendo as amostras destruídas por combustão, logo isto elimina a necessidade de qualquer preparação de amostra (DMA MERCURY ANALYSER, 2009).

Figura 21 - Analisador DMA 80 (Milestone)



Fonte: Autora, 2016

Figura 22 – Tela de comandos DMA 80



Fonte: Autora, 2016

Com o aquecimento ocorre o desprendimento do Hg em forma de vapor, o qual é transportado pela pressão do gás oxigênio e adere-se a um amalgamador (“fio de ouro”). Após o aquecimento do amalgamador o Hg é posicionado ao longo do percurso óptico do espectrofotômetro, onde é quantitativamente medido por absorção atômica em 253.65 nm, sendo, nessa fase final, delimitado o nível de HgT encontrado na amostra (DMA-80, 2009).

Assim, o custo da referida técnica de análise de Hg é bem menor quando comparado às técnicas tradicionais, como o CV-AAS, ICP-AES ou ICP-MS. A eficiência do método foi avaliada através da análise de padrão de referência certificado: NIES – Certified Reference Material nº13 HUMAN HAIR. Environment Agency National Institute for Environmental Studies. Onogawa 16-2, Tsukuba Ibaraki, 305 – Japan.

4.7 Método de Análise dos Dados

Os resultados foram processados através de recursos da estatística descritiva (frequências absoluta e relativa, média e desvio-padrão), mediante utilização do programa Excel, componente do *Microsoft Office*® (versão 2013), para *Windows*®. Posteriormente, alguns dados foram transferidos para o aplicativo *BioEstat*® (versão 5.3) de modo a estabelecer primeiramente a normalidade dos dados através do teste Shapiro-Wilk. Para verificar a correlação das variáveis numéricas foi utilizado o teste de Correlação de Spearman. Para ambos os testes adotou-se o $p \leq 0.05$ para a significância estatística.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 01 sintetiza os principais dados coletados durante a aplicação dos questionários:

Tabela 01: Características sociodemográficas das gestantes.

Características	Amostra (n=45)	%
Faixa-etária		
Até 20	15	33
De 21 a 30	19	42
De 31 a 40	08	18
Acima de 40	03	07
Escolaridade		
Fundamental	17	38
Médio	25	56
Superior completo	01	02
Superior incompleto	02	04
Estado civil		
Casada	07	16
Divorciada	01	02
Solteira	17	38
União estável	20	44
Raça		
Branca	02	04
Negra	04	09
Parda	39	87
Ocupação		
Agente Administrativo	01	02
Atendente	01	02
Auxiliar administrativo.	01	02
Doméstica	35	78
Estudante	03	07
Pescadora	01	02
Professora de Informática	01	02
Técnica de Enfermagem	01	02
Vendedora	01	02
Origem da água		
Mineral	04	09
Poço	21	47
Poço e mineral	01	02
Rio	01	02
Torneira	18	40

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Algumas informações que compõem esse estudo foram registradas em questionário específico. A distribuição por faixa etária das voluntárias da pesquisa apontou uma média de idade de $25,2 \pm 7,4$ anos sendo que 42% das gestantes apresentou faixa-etária entre 21 a 30 anos de idade. Dentre as 45 gestantes selecionadas, 56% apresentou nível médio completo e 78% dessa amostra era composta de donas de casa, o qual não é considerado como grupo de risco para exposição mercurial. As voluntárias selecionadas totalizaram 32 residentes na cidade de Santarém/Pará.

Para estatura obteve-se média de $1,57 \pm 0,05$ metros enquanto que a média de peso obtida foi de $64,7 \pm 10,2$ quilos. A tabela 2 apresenta os valores médios das referidas variáveis a partir da estratificação etária. A média para o Índice de Massa Corporal (IMC) encontrada entre as participantes da pesquisa foi de $26,31 \pm 3,8$. O Índice de Massa Corporal (IMC) é um dos indicadores usados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para verificação do estado nutricional, calculado a partir da seguinte fórmula: peso atual (kg) / estatura (m)².

De acordo com a classificação adaptada pela OMS, o IMC baseia-se em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus, onde $IMC \geq 25$ indica sobrepeso, logo, o resultado da média final mostrou sobrepeso das participantes da pesquisa.

Tabela 02: Distribuição dos valores médios das variáveis antropométricas de acordo com a faixa etária das gestantes.

Faixa-etária	Estatura (m)	Massa corporal (Kg)	IMC (Kg/m²)
Até 20 anos	$1,57 \pm 0,05$	$64,53 \pm 10,79$	$26,17 \pm 4,29$
De 21 a 30 anos	$1,56 \pm 0,04$	$66,67 \pm 6,03$	$27,23 \pm 1,23$
De 31 a 40 anos	$1,56 \pm 0,06$	$69,00 \pm 11,50$	$28,41 \pm 4,09$
Acima de 40 anos	$1,57 \pm 0,05$	$62,40 \pm 9,59$	$25,18 \pm 3,13$
Geral	$1,57 \pm 0,05$	$64,76 \pm 10,25$	$26,31 \pm 3,83$

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Com relação aos valores obtidos para pressão arterial (P.A) das voluntárias, observou-se que 62% da população estudada encontrava-se dentro dos valores normais para pressão arterial (120x80 mmHg) e 36% desta mesma população apresentou níveis elevados, caracterizando hipertensão arterial. Os valores de P.A das voluntárias são apresentados na tabela 3.

Tabela 03: Valores médios das pressões arteriais de acordo com a faixa etária.

Faixa-etária	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Até 20 anos	122.0±15.3	81.3±12.5
De 21 a 30 anos	127.9±15.2	85.3±14.7
De 31 a 40 anos	122.5±14.7	83.8±5.2
Acima de 40 anos	133.3±7.1	90.0±10.0

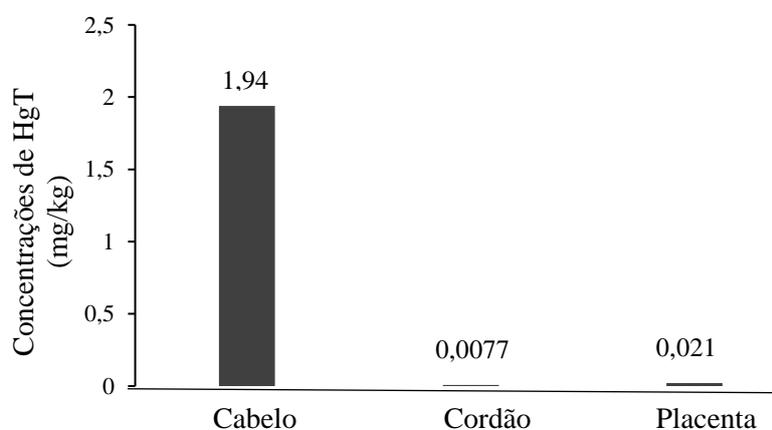
PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

5.1. Concentrações de Hg em cabelos maternos e outros biomarcadores:

Os dados referentes às concentrações de HgT nas matrizes humanas estudadas revelaram que 0,67% do HgT do cabelo materno foi transmitido ao feto por meio da corrente sanguínea, acumulando-se posteriormente, no tecido do cordão umbilical, bem como 1,39% da concentração de HgT do cabelo materno foi transmitido via circulação sanguínea, à parte fetal da placenta e por fim, cerca de 39,5% do HgT presente na placenta fetal foi transmitido por meio da circulação sanguínea ao tecido do cordão umbilical.

Os níveis de HgT na placenta foram maiores que os níveis de HgT no cordão umbilical, tal resultado pode ser altamente associado com as concentrações sanguíneas maternas presentes no tecido placentário, ressaltando ainda, que tais níveis não são influenciados pela paridade materna (ASK et al, 2002). A seguir, a figura 23 mostra os níveis de HgT nos biomarcadores analisados na presente pesquisa:

Figura 23: Médias das concentrações de HgT em cabelos maternos, cordão umbilical e tecido placentário (mg/kg)

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

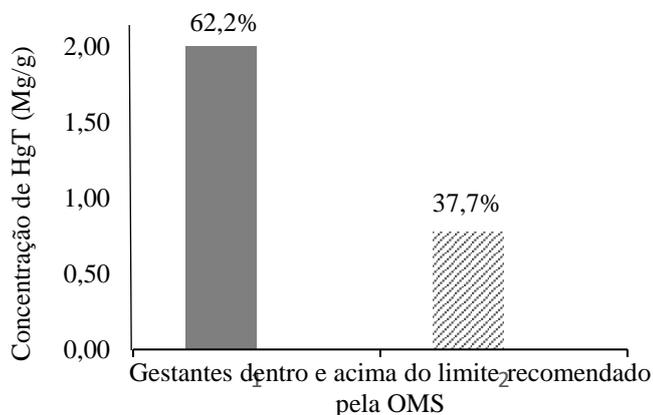
O MeHg é uma das substâncias mais tóxicas para o cérebro fetal e grande parte da exposição fetal ao MeHg é através do consumo materno de peixe. O MeHg passa facilmente através da placenta por meio de um conjugado protéico de cisteína (STRAKA et al, 2016). O presente estudo investigou as relações entre o HgT no tecido do cordão umbilical e outros biomarcadores da exposição fetal em grávidas da cidade de Santarém-Pará, no intuito de avaliar a significância de HgT nos tecidos estudados.

De acordo com a World Health Organization (WHO/UNEP, 2008) a concentração de HgT no cabelo materno é um importante biomarcador para refletir a exposição fetal ao MeHg. Na presente pesquisa, a média das concentrações de HgT encontradas nos cabelos maternos foi de 1.94 mg/kg (intervalo: 0,14 - 8,89 mg/kg), este valor médio está em concordância confiável com os níveis toleráveis pela WHO/UNEP, a qual preconiza 1-2 mg/kg de Hg por Kg de cabelo (equivalente a 1-2 ppm).

As concentrações de HgT encontradas na presente pesquisa corroboram o estudo de Nunes et al (2014), no qual a concentração de Hg no cabelo também foi utilizada como biomarcador para avaliação de exposição de 343 mulheres gestantes na cidade de Lisboa, Portugal. O valor médio para concentração de HgT no referido estudo foi de 1,26 mg/kg (intervalo: 0,07 - 5,3 mg/kg) logo, os valores encontrados estavam de acordo com as normas de tolerância pré-estabelecidas. A pesquisa citada indicou que havia uma certa variabilidade da população e que algumas participantes (37%) superaram os níveis de tolerância de 1-2 ppm de Hg, embora estes níveis não atingissem concentrações associadas a efeitos teratogênicos no feto - 10mg/kg (WHO/UNEP, 2008).

Sakamoto et al (2016), realizaram estudo com 54 gestantes saudáveis entre 21 e 41 anos na província de Kumamoto – Japão e encontraram concentrações médias de HgT em cabelos maternos de 1,35 mg/kg (intervalo: 0.18 - 3.47 mg/kg). Este resultado concorda com os achados da presente pesquisa, uma vez que o valor médio para concentração de HgT encontrado também apresenta-se dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela OMS. Cerca de 37,7% das gestantes desta pesquisa apresentaram concentrações de HgT acima do limite recomendado pela OMS ($3,86 \pm 1,69$) contra 62,2% das voluntárias que apresentaram concentrações dentro do limite tolerável ($0,78 \pm 0,49$). Tal resultado pode ser visualizado no gráfico a seguir:

Figura 24: Porcentagem das voluntárias que apresentaram concentrações de HgT acima e dentro do limite recomendado pela OMS



Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

É de grande importância ressaltar que nas comunidades amazônicas tradicionais os níveis de HgT na gestação e lactação permanecem significativos, pois segundo Marques et al (2016) em seu estudo com 1139 pares de mãe e recém-nascidos residentes em 8 comunidades ao longo das margens dos rios Jamari, Madeira e Mamoré encontraram que a média geral de HgT em cabelos de grávidas da região estudada está em torno de 8,18 mg/kg, considerado pelos autores um dos valores mais altos do mundo.

Em países desenvolvidos com consumo de peixe considerado “moderado ou baixo”, os níveis de HgT tendem a ser menores, por exemplo: na Polônia a média de HgT para população geral está em torno de 0,7mg/kg, na Coreia a média gira em torno de 0,63mg/kg e no Reino Unido a média para Hg é de 0,97 mg/kg (SHEEHAN et al., 2014).

Verificou-se que, apesar de grande parte da população santarena ter como base alimentar o consumo de peixes, de uma forma geral, a média da concentração de HgT encontrada nas gestantes da presente pesquisa não estava acima dos limites aceitáveis de concentração de HgT no cabelo, logo, uma explicação para a não ocorrência de maior valor pode ser pelo fato de as mulheres grávidas mudarem seus hábitos alimentares e também, diminuírem a exposição crônica dos cabelos a contaminantes prejudiciais durante o período gestacional, como por exemplo, as tinturas e os permanentes.

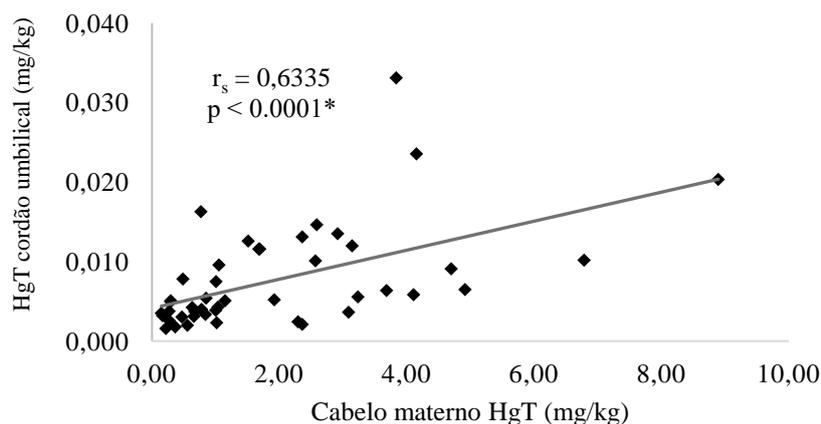
Sakamoto et al. (2010) relataram níveis médios de MeHg em células sanguíneas de gestantes japonesas como sendo em torno de 9,41 mg/kg. Altos níveis de HgT e MeHg em mulheres grávidas e crianças também foram observados em estudos do Mediterrâneo e região Ártica (LLOP et al, 2014; CURREN et al, 2015). Os menores níveis de Hg em

cabelos maternos, cordão umbilical (peso úmido) e tecido placentário (peso úmido) encontrados na presente pesquisa (média: $1,94 \pm 1,85$; $0,0077 \pm 0,006$; $0,021 \pm 0,018$, respectivamente) quando comparados a estudos anteriores de países orientais podem ser explicados pela diferença no consumo de pescados em geral, uma vez que em países orientais o consumo de peixes e mariscos tende a ser maior quando comparado aos hábitos alimentares ocidentais.

5.2 Correlações de HgT em cabelos maternos e outros biomarcadores:

A correlação realizada entre as matrizes cabelo materno e cordão umbilical pode ser analisada no gráfico a seguir:

Figura 25: Correlação entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com as concentrações médias de HgT no cordão umbilical – peso úmido - (mg/kg)



* Resultado significativo para o teste de Correlação de Spearman.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

O HgT no tecido do cordão umbilical (peso úmido) mostrou correlação linear e positiva com o HgT em cabelos maternos (0-3cm do couro cabeludo), onde ($r_s=0,6335$; $p<0,0001*$). As concentrações de HgT no cabelo materno refletem as concentrações de MeHg no sangue da genitora, porém, vale ressaltar que a formação do cabelo durante a gestação sofre variações mensais e a distribuição de MeHg torna-se dispersa ao longo do fio capilar por ondulação artificial dos cabelos.

Portanto, justifica-se o uso dos primeiros 3 centímetros de cabelo materno na presente pesquisa, uma vez que, as concentrações de HgT no cabelo inteiro não refletem

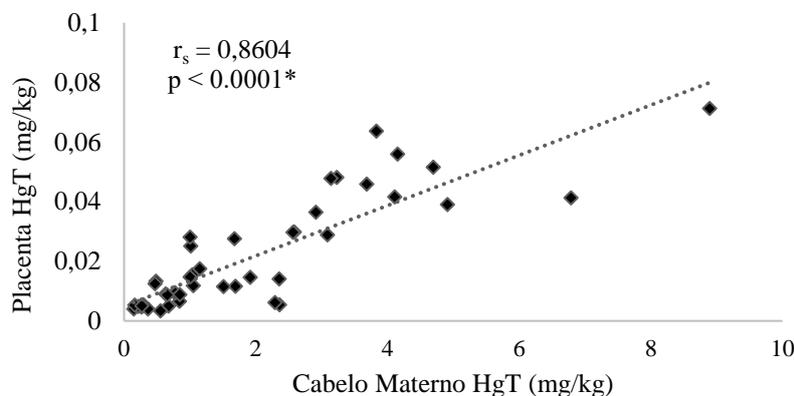
exatamente o nível de HgT no sangue da parturiente, enquanto que os níveis de HgT no cabelo recém-formado refletem os níveis sanguíneos mais atuais (CARRATÚ et al, 2008; KIM et al, 2015).

Além disso, em humanos o crescimento cerebral ocorre em maior escala durante o terceiro trimestre de gestação e o cérebro nesse período é reconhecidamente mais vulnerável à intoxicação por MeHg. Essa exposição mercurial ao longo do período gestacional pode ser refletida pelas concentrações de Hg no cabelo materno, onde cada segmento de 1cm corresponde a aproximadamente 1 mês de crescimento capilar, logo, os 3 primeiros centímetros de cabelo coletados o mais próximo possível do couro cabeludo representam por sua vez, a exposição materna dos últimos 3 meses de gestação (SAKAMOTO et al, 2007; SAKAMOTO et al, 2016). O tecido do cordão é formado principalmente durante o segundo e terceiro trimestre de gestação e o sangue do cordão umbilical é o sangue que circula no corpo fetal na hora do parto. A partir dos dados da meia-vida biológica do MeHg que é cerca de 45 dias, não só o sangue fetal, mas também o tecido do cordão umbilical revelam a carga média de HgT do feto durante o final da gestação (SAKAMOTO et al, 2007).

Em nossa pesquisa, a correlação entre HgT no cordão umbilical (peso úmido) e HgT nos 3 primeiros centímetros de cabelo materno foi positiva ($r_s = 0,6335$; $p < 0.0001$), refletindo dessa forma a exposição mercurial ocorrida no terceiro trimestre de gestação. Estes resultados sugerem que a concentração de HgT no tecido do cordão umbilical é um indicador da carga corporal de HgT materno e fetal no final da gestação, corroborando o estudo de Sakamoto et al. (2016), o qual relata forte correlação entre a concentração de HgT do cordão umbilical com o primeiro centímetro de cabelo materno coletado ($r = 0.854$; $p < 0.01$).

Nossos resultados indicam que as concentrações de HgT no tecido do cordão umbilical são bons biomarcadores para a carga fetal de MeHg, bem como a carga corporal materna de MeHg. Tal fato implica na importância do monitoramento e controle do HgT na gravidez e lactentes. A seguir, a figura 26 mostra a correlação entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com as concentrações médias de HgT no tecido placentário:

Figura 26: Correlação entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com as concentrações médias de HgT no tecido placentário – peso úmido - (mg/kg)



* Resultado significativo para o teste de Correlação de Spearman.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

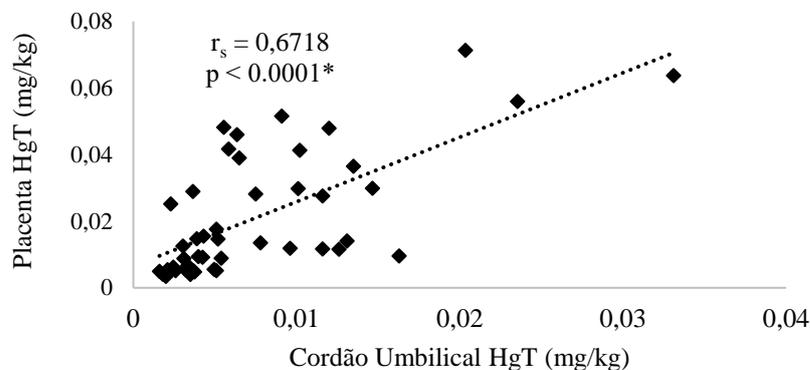
O gráfico indica que as concentrações de HgT no tecido placentário são positivamente correlacionadas com as concentrações de HgT encontradas no cabelo materno, logo, tanto a placenta quanto o cordão umbilical são bons biomarcadores para a carga fetal e materna de MeHg. Nosso resultado difere do encontrado por Ricketts et al (2016), que após coletar e analisar 130 placentas provenientes de mulheres em idade fértil (18-44 anos) residentes na Jamaica e Trinidad e Tobago, mostrou que havia uma fraca associação entre a concentração de Hg na placenta e a concentração de Hg materno (analisados por meio da ingestão de peixe pela mãe).

Em contraste, um estudo realizado por Hsu et al (2007) com 65 grávidas residentes na cidade de Taiwan revelou que o consumo de peixe antes da gravidez foi significativamente correlacionado com as concentrações de Hg no tecido placentário ($p < 0,05$) em detrimento do consumo de peixe durante o período gestacional. Sabe-se que a placenta fornece nutrientes, troca gasosa e eliminação de resíduos para o feto em crescimento. Também atua como uma barreira contra elementos tóxicos como o cádmio (Cd), porém não oferece proteção ao MeHg.

Um estudo recente de Gilman et al. (2015) investigou o papel da placenta na transferência de elementos tóxicos da mãe para o feto, comparando perfis dos elementos entre placenta e cordão. No referido estudo, descobriu-se que a placenta era uma barreira eficaz contra o Hg inorgânico, porém a eficácia mostrava-se reduzida ao MeHg e que a proporção de Hg na placenta para o sangue do cordão umbilical foi maior nas mulheres que não consumiam frutos do mar do que nas que o fizeram. A seguir, a figura 27 mostra

a correlação entre as concentrações de HgT do tecido placentário com as concentrações de HgT do tecido do cordão umbilical:

Figura 27: Correlação entre as concentrações médias de HgT da placenta com as concentrações médias de HgT no tecido do cordão umbilical (mg/kg)



*Resultado significativo para o teste de Correlação de Spearman.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

As concentrações de HgT na placenta (peso úmido) mostraram forte correlação com as concentrações de HgT nos cabelos maternos e HgT no cordão umbilical ($r_s = 0,8604$; $p < 0,0001^*$ e $r_s = 0,6718$; $p < 0,0001^*$, respectivamente). Os níveis de HgT no tecido placentário apresentaram correlação positiva em todos os tecidos examinados, logo, esses resultados mostram que o MeHg é distribuído igualmente entre os tecidos maternos e fetais, implicando que as concentrações de HgT tanto na placenta quanto no tecido do cordão umbilical podem ser biomarcadores úteis para a medição da exposição pré-natal de MeHg em mães e recém-nascidos. O MeHg pode ser facilmente distribuído entre os tecidos de mãe e feto, contrariamente ao que ocorre com outros elementos como o cádmio (Cd) e o selênio (Se), nos quais a barreira placentária atua de forma muito mais seletiva (SAKAMOTO, 2013).

No presente estudo, a proporção de HgT na placenta foi maior (39,5%) do que os níveis encontrados no cordão umbilical, tal resultado pode ser altamente associado com as concentrações sanguíneas maternas presentes no tecido placentário, ressaltando ainda, que tais níveis não são influenciados pela paridade materna (ASK et al, 2002).

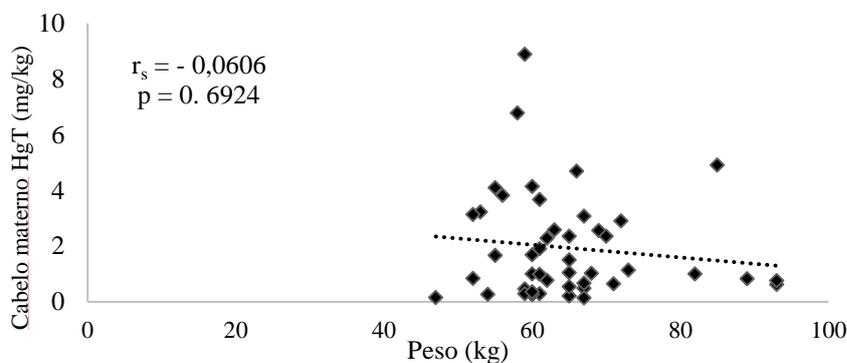
No estudo realizado por Sakamoto et al (2013), foram examinadas as concentrações de diferentes metais entre tecido placentário e cordão umbilical (Cádmio, cobre, zinco, selênio, chumbo e mercúrio), os autores verificaram que entre os elementos examinados, apenas o nível de MeHg foi significativamente maior (1,6 vezes) no tecido

do cordão umbilical do que na placenta. Os autores sugerem que esse fenômeno pode ser explicado pela transferência ativa de MeHg da mãe para o feto através da placenta via proteínas carreadoras de aminoácidos (ASCHNER e CLARKSON, 1988, KAJIWARA et al., 1996 APUD Sakamoto et al, 2013).

A acumulação de MeHg nos fetos durante a gestação tardia é um importante problema de saúde pública para as populações cuja dieta está subsidiada em peixes e frutos do mar, pois já é largamente difundido que o desenvolvimento cerebral durante a fase pré-natal é altamente suscetível à toxicidade do MeHg. (SAKAMOTO et al, 2007).

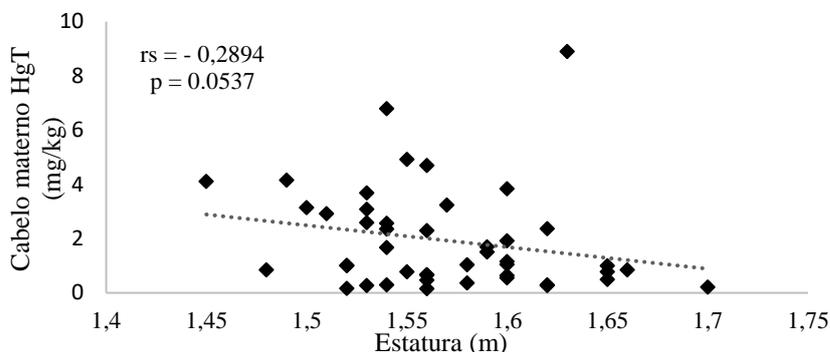
As correlações realizadas entre peso, altura e P.A das gestantes podem ser analisadas nos gráficos a seguir:

Figura 28: Correlação entre o peso e a concentração de HgT materno



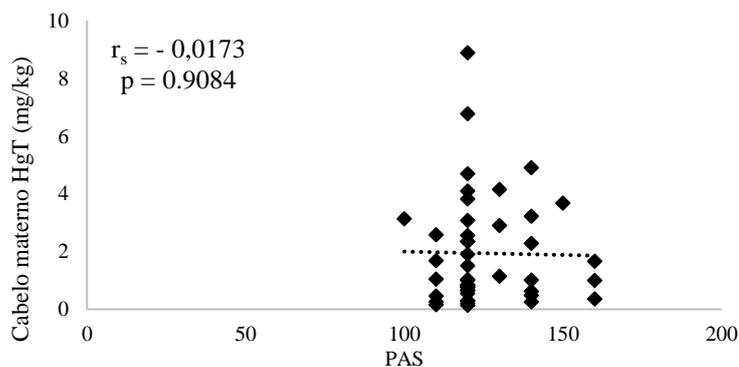
Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

Diante deste resultado podemos avaliar que não houve correlação positiva entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com o peso das voluntárias ($r_s=0,0606$; $p = 0,6924$), resultado este que vai ao encontro do estudo realizado por Gul et al (2016), que quantificou a distribuição e a excreção de Hg relacionada com o tempo (em dias) nas amostras biológicas coletadas em usuários de amálgama dentária, o referido estudo revelou que não houve correlação significativa entre o peso e a concentração de Hg na urina ($r = 0,05$; $p = 0,92$) e plasma ($r = 0,29$, $p = 0,52$) e o mesmo resultado foi observado quando realizada a correlação com os pesos (kg) dos participantes, assim, o estudo mostrou que o peso corporal não afeta a concentração de Hg no organismo. A seguir, a figura 28 mostra que também não foi encontrada correlação positiva entre as concentrações médias de HgT do cabelo materno com a estatura das voluntárias ($r_s = -0,2894$; $p = 0,0537$):

Figura 29: Correlação entre a estatura e a concentração de HgT maternos

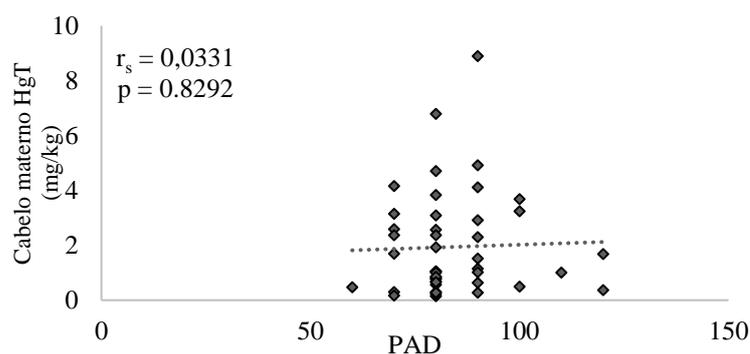
Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

Vupputuri et al (2005) em estudo realizado com 1240 mulheres entre 16-49 anos de idade, o qual incluía aplicação de questionário de frequência alimentar, aferição da P.A, exame físico e exame de sangue, não encontrou correlação significativa entre o HgT do sangue e a PAS e PAD entre as participantes do estudo. Os autores suportam a hipótese de que a ingestão de óleos de peixe podem combater os efeitos nocivos do HgT sobre a regulação da PA. No presente estudo não foram encontradas evidências de relação entre a exposição pré-natal ao HgT e o aumento da P.A (figuras 30 e 31). A ausência de associação entre exposição ao HgT e aumento da P.A em gestantes não deve alterar os esforços em políticas de saúde pública para reduzir a contaminação por Hg nos peixes e no meio ambiente. Nossas descobertas também não devem alterar orientações direcionadas às mulheres que estão ou podem engravidar ou que estão amamentando, uma vez que a exposição ao MeHg por meio do consumo de espécies de peixe específicas pode causar danos ao desenvolvimento neurológico fetal (MOZAFFARIAN et al., 2011).

Figura 30: Correlação entre a PAS materna e a concentração de HgT maternos (mg/kg)

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

Figura 31: Correlação entre a PAD materna e a concentração de HgT maternos (mg/kg)



Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

Dentre as espécies de peixes comerciais reconhecidas como as de maior preferência pela população Santarena (LIMA et al., 2000) estão a citar: o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o tucunaré (*Cichla* spp.), a pescada (*Plagioscion* spp); o pirarucu (*Arapaima gigas*); o surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) e a dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), vale ressaltar que estas espécies foram pouco citadas na presente pesquisa, dando maior atenção ao pirarucu, peixe nobre da região, o qual foi o menos citado. Dentre as espécies de peixes comerciais mais consumidas pelas voluntárias da presente pesquisa, a maior parte delas (cerca de 40%) é constituída por peixes de escamas como o jaraqui (*Semaprochilodus* spp.), o pacu (*Mylossoma* spp.) e o acari (*Hypostomus affinis*).

Com relação aos hábitos alimentares dos peixes mais citados na pesquisa, o jaraqui foi o peixe mais consumido pelas voluntárias durante o período gestacional. Esta espécie é migratória, pode ser encontrada principalmente em várzeas e igarapés. É um peixe herbívoro que em seu ambiente natural alimenta-se principalmente de detritos e plantas superiores, quando em cativeiro poderá aceitar alimentos de origem vegetal como alface, pepino, espinafre e rações de base vegetal. O pacu foi o segundo peixe mais consumido pelas gestantes, é um peixe típico dos rios amazônicos e alimenta-se de frutos, caranguejos e detritos orgânicos encontrados na água. O terceiro peixe mais consumido pelas participantes foi o acari, o qual é uma espécie de peixe que vive no fundo dos rios, até cerca de 30 metros de profundidade e alimenta-se de lodo, vegetais e restos orgânicos em geral. Em cativeiros estes peixes também podem ser alimentados com vegetais, a citar: pepino, abóbora, repolho, alface entre outros. Portanto, os principais peixes consumidos pelas voluntárias da presente pesquisa são considerados herbívoros.

A baixa procura da população estudada por peixes de couro pode ter motivação cultural, uma vez que, a rejeição no que se refere ao consumo pode estar relacionada à crença de que esses peixes conteriam supostamente propriedades negativas que causam danos à saúde, considerados “peixes remeros” que levariam, por exemplo, ao acometimento de variadas doenças em virtude da “reima”, além de conter uma quantidade alta de gordura em sua carne, corroborando com alguns estudos que tratam sobre aversão e tabu alimentar (MURRIETA, 1998; SILVA, 2007). A tabela 4 sintetiza os principais peixes citados durante a pesquisa:

Tabela 04: Peixes mais consumidos pelas voluntárias da pesquisa

Peixes	Período			
	Durante o Defeso		Fora do Defeso	
	n=45	%	n=45	%
Pescada branca	07	16%	07	16%
Surubim	06	13%	03	07%
Aracú	08	18%	08	18%
Filhote	02	04%	02	04%
Matrinxã	00	00%	00	00%
Acari	09	20%	08	18%
Caratinga	04	09%	05	11%
Pirarucu	02	04%	01	02%
Dourada	03	07%	03	07%
Tucunaré	07	16%	01	02%
Apapá	03	07%	04	09%
Aruanã	01	02%	00	00%
Curimatá	04	09%	04	09%
Tambaqui	04	09%	03	07%
Charutinho	01	02%	01	02%
Pacú	15	33%	16	36%
Pirarara	07	16%	05	11%
Jaraqui	16	36%	17	38%
Mapará	02	04%	02	04%
Pirapitinga	01	02%	00	00%

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

De acordo com Murrieta (2001), na Amazônia - de uma forma geral - duas categorias compõem o sistema de classificação local de peixes: o peixe liso (ou peixe de pele) e o peixe de escama. Segundo o autor, ambas as categorias são apreciadas por diferentes razões. Os peixes lisos são normalmente apreciados pelo sabor “forte” e estrutura fibrosa da carne, enquanto que os peixes de escama são caracterizados como tendo um sabor mais “fraco”, leve e suave, sendo assim mais “digeríveis”, mas não

necessariamente mais saborosos (às vezes, é exatamente o oposto). Porém, o comportamento, a dieta, a cor, o cheiro e a aparência são também importantes critérios no processo de classificação e escolha.

A diferenciação entre os peixes de escamas e os de pele (lisos) é ainda mais crítica para um sistema de restrições alimentares muito comum na Amazônia: a reima. A reima é caracterizada por oposições entre alimentos perigosos (“reimosos”) ou não-perigosos (não-reimosos). Os principais peixes considerados reimosos são os “peixes lisos” ou de “pele” (surubim, piaba, filhote, mapará, pirarara, entre outros) e alguns peixes de “escamas” (pescada, curimatã, tucunará amarelo, jatauarana, acari, entre outros). A gravidez, o pós-parto e a menstruação são representados como momentos de maior fragilidade e vulnerabilidade para mulheres (é quando a ingestão de um alimento “reimoso” pode prejudicar não apenas a mulher, mas aqueles que estão ligados física e emocionalmente a ela) (MURRIETA, 2001).

Logo, a “reima” impacta principalmente nas mulheres, não apenas restringindo o seu acesso a determinados alimentos, mas também a sua mobilidade espacial (MURRIETA, 2001). Se de certa forma tais restrições aumentam o controle sobre o corpo feminino e o que é consumido, também uma rede de cuidados e atenções é estabelecida entre as mulheres grávidas, diminuindo assim as responsabilidades cotidianas de cuidado com a prole e manutenção do trabalho doméstico. Tal fato pode justificar, em termos, o baixo consumo de peixe liso pelas voluntárias da presente pesquisa.

É importante salientar que o consumo de peixe pode ser influenciado por diversos fatores, dos quais se destacam os socioeconômicos, os padrões de consumo alimentar, características pessoais, estado de saúde e dimensões culturais. De acordo com Sonoda (2006), o elevado consumo de peixe nas regiões Norte e Nordeste é influenciado pela produção comparativamente elevada nessas regiões. Sendo alimentos altamente perecíveis, são necessários cuidados especiais (da captura até o consumo humano) para evitar a deterioração do peixe ao longo da cadeia produtiva.

Nas áreas próximas de produção, o peixe pode ser consumido num espaço curto de tempo, apresentando melhor qualidade e menor preço. O transporte para outros consumidores distantes do local de produção e a sua comercialização impactam na perda de qualidade e contribuem para o aumento do preço (SARTORI e AMÂNCIO, 2012).

Na presente pesquisa o consumo maior de peixes de valor mais baixo em detrimento do consumo de peixes ditos “nobres”, a citar, pirarucu e tambaqui, pode então ser explicado pelo fato de que parte do pescado comercializado na cidade de

Santarém/Pará é importado de outras regiões adjacentes como Belém e Manaus e dessa forma encarecendo o produto ao consumo pela população de menor poder aquisitivo. Além disso, a baixa qualidade, resultante de problemas de manipulação *in natura*, a conservação e o armazenamento, bem como o acesso facilitado a alimentos processados, também podem alterar os hábitos alimentares de algumas populações (SARTORI e AMÂNCIO, 2012). A seguir, a tabela 05 mostra as características nutricionais das voluntárias da presente pesquisa.

Tabela 05: Características nutricionais das voluntárias

Características do consumo de alimentos	Amostra (n=45)	%
Frequência de consumo de peixe (x/por semana)		
1x	15	33
2x	12	27
3x	12	27
Todos os dias	6	13
Quantidade de peixe por refeição (g)		
50	05	11
100	18	40
150	01	02
200	18	40
300	03	07
Frequência de consumo de Açaí		
Nunca	05	11
Às vezes	27	60
1/2 vezes por semana	07	16
3/4 vezes por semana	05	11
Todo dia	01	2
Frequência de consumo de Castanha do Pará		
Nunca	11	24
Às vezes	25	56
1/2 vezes por semana	04	09
3/4 vezes por semana	02	04
Todo dia	03	07
Frequência de consumo de frutas		
Às vezes	16	35
1/2 vezes por sem.	10	22
3/4 vezes por sem.	04	08
Todo dia	15	33

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Vale ressaltar nesta tabela que 33% (n=15) das voluntárias relataram consumir peixe apenas uma vez por semana e que a maior parte das gestantes referiram o consumo de 100 a 200 gramas de peixe por refeição (40%). Cerca de 33% das voluntárias (n=15) relataram consumir frutas todos os dias, dentre elas, as mais citadas foram banana, laranja

e maçã e que 24% das voluntárias (n=11) referiram nunca consumir castanha-do-Pará. A castanha-do Pará é uma amêndoa oleaginosa de elevado valor energético, rica em proteínas de expressivo valor biológico. Apresenta muitos outros constituintes indispensáveis a uma boa alimentação, a citar o selênio, um antioxidante que vem sendo referido na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares e atua como quelante às concentrações de Hg no organismo, dentre outras funções (SOUZA e MENEZES, 2004).

Passos et al (2007) em seu estudo realizado em comunidades ribeirinhas da região Amazônica mostrou uma associação clara entre o consumo de frutas e menores níveis de Hg encontrados na população estudada. O efeito protetor do consumo de frutas contra a exposição ao Hg por meio da ingestão de peixes pode ser observado tanto em homens quanto em mulheres, está presente em todas as categorias de idade e escolaridade e ocorre independentemente de outros fatores, como o tabagismo e o consumo de álcool. Uma possível explicação para os achados deste estudo é que o teor de fibra alimentar solúvel, bem como de nutrientes probióticos encontrados em algumas frutas podem interferir na absorção gastrointestinal do Hg, auxiliando o processo de desmetilação de MeHg pela microflora intestinal e dessa forma, promovendo a remoção de MeHg do corpo (CLARKSON, 2002).

O Comitê Misto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), na sua 67^a reunião, em 2006, observou que os diferentes estágios de vida do embrião e do feto podem ser mais sensíveis aos efeitos adversos do MeHg sobre o sistema nervoso. No caso dos adultos, o comitê considerou que a ingestão até duas vezes mais elevada do que a ingestão semanal tolerável existente de 1,6 µg/kg de peso corporal não representaria qualquer risco de neurotoxicidade em adultos, embora, no caso das mulheres em idade fértil, deve-se ter em mente que a ingestão não deve exceder o valor referido, a fim de proteger o embrião e o feto dos efeitos adversos.

No que diz respeito a lactentes e crianças com idade até cerca de 17 anos, os dados não permitem tirar conclusões firmes sobre a sua sensibilidade em relação à dos adultos. Embora seja claro que eles não são mais sensíveis do que o embrião ou feto, eles podem ser mais sensíveis do que os adultos, porque o desenvolvimento significativo do cérebro continua na infância e na adolescência. Portanto, o comitê não conseguiu identificar um nível de ingestão maior do que o nível de ingestão tolerável existente que não representaria um risco de neurotoxicidade no desenvolvimento de lactentes e crianças (FAO/OMS, 2007). Na presente pesquisa a maior parte das voluntárias (80%), referiu consumir entre 100 e 200 gramas de peixe por refeição uma vez por semana, levando-se

em consideração que são realizadas duas grandes refeições no dia (almoço e jantar), teríamos uma média de consumo de 200 gramas de peixe por semana. A Environmental Protect Agency dos Estados Unidos – EPA (2004), aconselha as mulheres grávidas e lactantes a evitar o consumo de peixes que contenham níveis relevantes de Hg (peixes carnívoros de grande porte). Em vez disso, recomendam que estes grupos comam até 340g/semana de uma variedade de peixes e mariscos que apresentam níveis reduzidos de Hg, como por exemplo, o camarão e a tilápia. A seguir, a tabela 06 detalha as médias de concentração de HgT de acordo com a frequência de consumo de peixe pelas participantes da pesquisa:

Tabela 06: Valores médios das concentrações de HgT (mg/kg) de acordo com a frequência semanal de consumo de peixe.

Frequência de Consumo	HgT (mg/kg)	
	Média e desvio padrão	(Máx. – Mín.)
1x por semana (n=15)	0.85±1.10	4.69 - 0.16
2x por semana (n=12)	2.10±1.70	6.78 – 0.14
3x por semana (n=12)	2.12±1.24	4.10 – 0.46
Todos os dias (n=6)	3.93±2.62	8.89 – 0.76

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016

Para as participantes que relataram consumo de peixe todos os dias da semana, a média de concentração de HgT foi 78,3% maior (3.93 mg/kg), quando comparada às participantes que relataram um consumo de peixe de apenas uma vez por semana. Este resultado mostra que a concentração média de HgT nos cabelos dessas voluntárias está acima do limite recomendado pela OMS (1-2 mg/kg). A seguir, a tabela 07 mostra os valores médio de HgT de acordo com a quantidade de peixe consumida por refeição:

Tabela 07: Valores médios das concentrações de HgT (mg/kg) de acordo com a quantidade de consumo de peixe por refeição.

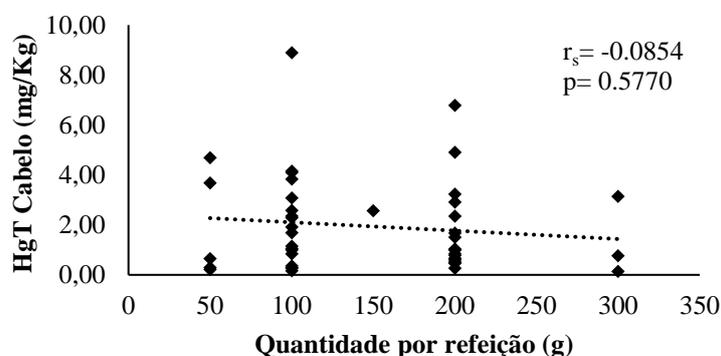
Quantidade de peixe por refeição	HgT (mg/kg)	
	Média e Desvio Padrão	(Máx. – Mín.)
50g (n=5)	1.89±1.90	4.69 – 0.21
100g (n=15)	1.52±1.0	3.83 – 0.16
150g (n=1)	2.5±0	-
200g/300g (n=21)	1.67±1.65	6.78 – 0.14

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016

Com base na análise dos dados acima, foram identificados três *outliers*, os quais foram retirados da análise para não comprometer os resultados. Portanto, a amostra final para o resultado acima correspondeu a 42 casos válidos. Durante a amostragem de dados, o surgimento de *outliers*, poderá ocorrer, dentre outros motivos, quando a amostra

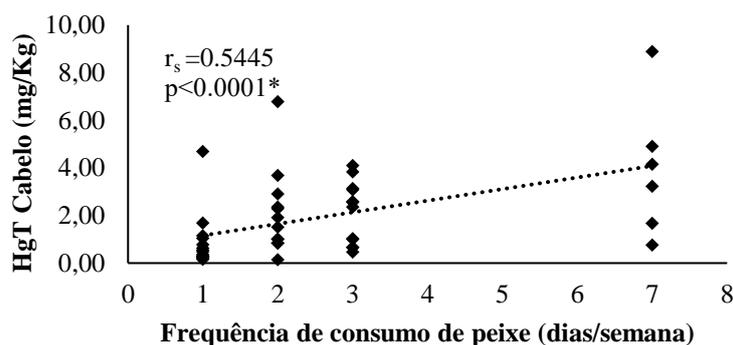
estudada apresenta uma variabilidade expressiva. Na tabela 07 podemos observar que a maioria das gestantes (50%) relatou um consumo de 200 a 300 gramas de peixe por refeição com uma concentração média de HgT no valor 1.67 mg/kg, a qual está em concordância com o limite aceitável estipulado pela OMS, fato este que pode ser justificado devido o consumo rotineiro de peixes herbívoros e de pequeno porte (tanto dentro quanto fora do período do defeso) relatado pela maioria das participantes. As figuras 32 e 33 mostram a correlação entre o HgT do cabelo materno e a quantidade de peixe consumida por refeição assim como o HgT materno relacionado a frequência do consumo de peixe semanal, respectivamente:

Figura 32: Correlação entre as concentrações de HgT do cabelo materno com porção de peixe consumida por refeição.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

Figura 33: Correlação entre as concentrações de HgT do cabelo materno com a frequência do consumo de peixe semanal.



*Resultado significativo para o teste de Correlação de Spearman.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2016.

A região Oeste do Estado do Pará apresenta um histórico de intensa atividade garimpeira, o rio Tapajós, importante afluente do rio Amazonas, foi um dos principais locais estudados em relação à prática de garimpagem e a contaminação por Hg. Hoje em dia a mineração de ouro decresceu expressivamente, porém os níveis de Hg continuam

elevados, possivelmente devido ao intenso desmatamento e transporte do Hg para o sistema aquático (COELHO-SOUZA et al, 2007).

Apesar disso, observa-se que ao longo dos anos, os níveis de Hg sofreram diminuição em algumas áreas de populações não expostas - ainda que em algumas populações os níveis de Hg não fiquem dentro dos níveis de segurança estabelecidos - o que sugere ser uma tendência que poderá perdurar no futuro. Tal fato pode ser explicado por possíveis mudanças nos hábitos alimentares da população, especialmente de gestantes, a citar o aumento do consumo de peixes herbívoros em lugar dos carnívoros devido fatores econômicos e muitas vezes por questões culturais como a “reima”, além disso, a diminuição do consumo da água dos rios através do incentivo ao consumo de água de poço, além do aumento do consumo de frutas e verduras entre outras pequenas medidas que estão dando bons resultados e diminuindo os níveis de Hg (SÁ et al, 2006).

Existem certas medidas que podem minimizar os efeitos da contaminação pelo Hg e uma delas é a reeducação alimentar. Passos et al (2007) mostra em seu estudo conduzido em 13 comunidades ribeirinhas ao longo do Rio Tapajós por meio da coleta de cabelo de 449 voluntários, que a ingestão de frutas pode ajudar a reduzir os efeitos da intoxicação por Hg, pois o efeito protetor do consumo de frutas é observado tanto em mulheres quanto em homens. Outra medida de controle alimentar que pode ser usada é a redução do consumo de peixes carnívoros, pois esses apresentam uma alta concentração de Hg, privilegiando, portanto, a alimentação a base de peixes herbívoros. Também é aconselhável priorizar o consumo de água de poço e cisternas evitando tomar a água dos rios, principalmente dos afluentes que banham áreas de garimpo, para evitar a ingestão do Hg presente na água e em microorganismos. Tais medidas associadas ao esclarecimento dos mecanismos de ação do metal e o monitoramento das populações são de extrema importância para minimizar o efeito da contaminação pelo Hg à saúde humana.

O presente estudo possui algumas limitações, pois o pequeno número de participantes restringiu as análises e diminuiu o poder estatístico. A amostragem conveniente e o pequeno número de participantes neste estudo podem reduzir a representatividade dos achados. Logo, são necessários mais estudos envolvendo a biomonitorização com uma população maior e mais representativa.

Embora o tamanho da amostra tenha sido pequeno, os dados obtidos podem auxiliar no desenvolvimento de estratégias para a redução da exposição ambiental de metais pesados em mulheres grávidas e crianças por meio de estudos realizados a longo

prazo e em larga escala envolvendo biomonitoramento, afim de fornecer novos dados sobre a exposição da população de mulheres em idade fértil aos metais pesados.

6. Considerações Finais

- As médias das concentrações de HgT encontradas no cabelo materno estão condizentes com os limites estabelecidos pela OMS, as concentrações de HgT obtidas nos tecidos do cordão umbilical e placenta sugerem que houve transmissão vertical de HgT;

- A concentração de HgT no tecido do cordão umbilical mostrou forte correlação com os 3 primeiros centímetros do cabelo materno, sugerindo que o cordão umbilical é um bom biomarcador de exposição fetal ao HgT;

- A concentração de HgT no tecido placentário mostrou forte correlação com os 3 primeiros centímetros do cabelo materno, sugerindo que a placenta é um bom biomarcador de exposição fetal ao HgT;

- A concentração de HgT no tecido placentário mostrou uma forte correlação com o tecido do cordão umbilical;

- A média das concentrações de HgT nos cabelos maternos não mostrou correlação com o peso, altura e pressão arterial das participantes;

- Houve correlação positiva entre as concentrações de HgT do cabelo materno com o consumo de peixe semanal, logo, pode-se inferir que existe influência para concentração de Hg no organismo humano associada à frequência de peixe consumido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASK, K. et al. Inorganic Mercury and Methylmercury in Placentas of Swedish Women **Environ Health Perspect** 110:523–526, 2002.

AVRAMESCU, M.L. et al. Biogeochemical factors influencing net mercury methylation in contaminated freshwater sediments from the St. Lawrence River in Cornwall, Ontario, Canada. **Sci. Total Environ.** 409 (5), 968–978, 2011.

AZEVEDO, Fausto Antônio. **Toxicologia do Mercúrio**. RiMA, São Paulo: InterTox, 292p. 2003.

BAKIR F. et al. Methylmercury poisoning in Iraq. **Science**,181; 230–241, 1973.

BARBIERI, C. et al. Area of Wharton's jelly as an estimate of the thickness of the umbilical cord and its relationship with estimated fetal weight. **Reproductive Health**, 8:32, 2011.

BARBOSA, A.C. et al. Mercury Biomagnification in a Tropical Black Water, Rio Negro, Brazil. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 45, 235–246, 2003.

BARKAY, T. et al. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. **FEMS Microbiology Reviews** 27, 355-384, 2003.

BARROCAS, P.R.G. et al. Assessment of mercury(II) bioavailability using a bioluminescent bacterial biosensor: Practical and theoretical challenges. **Journal of Environmental Sciences.** 22(8); 1137–1143, 2010.

BEN-OZER, E.Y. et al. Mercuric chloride damages cellular DNA by a non-apoptotic mechanism. **Mutation Research** 470, 19–27, 2000.

BISINOTI, M.C, JARDIM, W.F. O comportamento do metilmercúrio (METILHg) no ambiente. **Quim Nova**, 27 (4): 593-600, 2004.

BJÖRNBERG, K.A et al. Methyl Mercury and Inorganic Mercury in Swedish Pregnant Women and in Cord Blood: Influence of Fish Consumption. **Environ Health Perspect** 111:637–641, 2003.

BOYD, A. S. et al. Mercury exposure and cutaneous disease. **J. Am. Acad. Dermatol.** v. 43, n. 1, part 1, 1-10, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Política nacional de atenção integral à saúde da mulher: princípios e diretrizes /Secretaria de Atenção à Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

CARMUZE, J.P. et al. **Le Mercure em Amazonie: Rôle de L'home et de l'environnement, risques sanitaires**. IRD editions, 2001.

CARRATÚ, M.R. et al. Prenatal Methylmercury Exposure: Effects on stress response during active learning. Springer Science Bussiness Media, 2008.

CASTILHOS, Z.C. et al. Increase of the Background Human Exposure to Mercury Through Fish Consumption due to Gold Mining at the Tapajós River Region, Pará State, Amazon. **Environ. Contam. Toxicol.** 61:202-209, 1998.

CHEN, C. et al. The Roles of Serum Selenium and Selenoproteins on Mercury Toxicity in Environmental and Occupational Exposure. **Environmental Health Perspectives.** V. 114, N. 2, p. 297-301, 2006.

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

COELHO, A.C.S. **Indicadores do consumo de pescado como ferramenta de apoio a gestão dos recursos pesqueiros no município de Santarém-Pa.** 2015. 50f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Oeste do Pará. Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos, Santarém-Pará, 2015.

COELHO-SOUZA, S.A. et al. Mercury methylation and bacterial activity associated to tropical phytoplankton. **Science of the Total Environment** 364, 188– 199, 2006.

COELHO-SOUZA, S.A. et al. A importância das macrófitas aquáticas no ciclo do mercúrio na Bacia do rio Tapajós (PA). **Oecol. Bras.**, 11(2): 252-263, 2007.

COSTA, et al. Mercury in tropical and subtropical coastal environments. **Environmental Research.** 119; 88–100, 2012.

CURREN, M.S. et al. Assessing determinants of maternal blood concentrations for persistent organic pollutants and metals in the eastern and western Canadian arctic. **Sci. Total Environ.** 527–528, 150–158, 2015.

DAY, R.D. et al. Comparison of mercury burdens in chronically debilitated and healthy loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). **Journal of Wildlife Diseases**, 46(1), 111–117, 2010.

EFSA (European Food Safety Authority), 2012. Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Parma, Italy. **EFSA Journal**;10(12):2985, 2012.

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

ESPANOL CANO, S. Toxicología del mercurio: Actuaciones preventivas en Sanidade laboral y ambiental. In: Jornada Internacional sobre el impacto ambiental del mercurio utilizado por la minería aurífera artesana en Iberoamérica, 2001.

FAO/WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants. Sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Technical Report Series 940*, 2007.

FILIZ, A.A. et al. Positive correlation between the quantity of Wharton's jelly in the umbilical cord and birth weight. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology** 50; 33 e 36, 2011.

FIEMING, E. J. et al. Mercury methylation from unexpected sources: molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium. **Appl Environ Microbiol**;72:457–64, 2006.

US EPA (United States Environmental Protection Agency), 2002. Economic Analysis of Including Mercury Containing Devices in the Universal Waste System, Notice of Proposed Rulemaking. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington. Available at: <http://www.epa.gov/wastes/hazard/recycling/electron/econ-hg.pdf> (accessed 12.08.16).

US EPA and FDA. Advice for: Women Who Might Become Pregnant Women Who are Pregnant Nursing Mothers, Young Children. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Environmental Protection Agency, 2004.

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

GIBB, H; O'Leary, K. G. Mercury Exposure and Health Impacts among Individuals in the Artisanal and Small-Scale Gold Mining Community: A Comprehensive Review. **Environmental Health Perspectives**; V. 122, N. 7, p. 667-672, 2014.

GRANDJEAN, P. et al. Umbilical cord mercury concentration as biomarker of prenatal exposure to methylmercury. **Environ Health Perspect** 113:905-908, 2005.

GREGORY, S. et al. Are prenatal mercury levels associated with subsequent blood pressure in childhood and adolescence? The Avon prebirth cohort study. **BMJ Open**. e012425, 2016.

GUILHERME, L.R.G; et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos Ci.Solo**, n.4, p. 345-390, 2005.

GUNDACKER, C. et al. Perinatal lead and mercury exposure in Austria. **Science of the Total Environment** 408; 5744–5749, 2010.

GUSTIN, MS. Are mercury emissions from geologic sources significant? A status report. **Sci Total Environ**. 304:153-167, 2003.

GUSTIN, MS; et al. Assessing the contribution of natural sources to regional atmospheric mercury budgets. **Sci Total Environ**. 259: 61-71, 2000.

HIGHTOWER, J.M; MOORE, D. Mercury Levels in High-End Consumers of Fish. **Environ Health Perspect** 111:604–608, 2003.

HSU, C.S. et al. Mercury concentration and fish consumption in Taiwanese pregnant women. **BJOG**. 114:81–85, 2007.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2015/estimativa_tcu.shtm Acessado em: 12/07/2016.

IYENGAR, G.V; RAPP, A. Human placenta as a ‘dual’ biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 3: Toxic trace elements in placenta and placenta as a biomarker for these elements. **The Science of the Total Environment**. V. 280; 221-238, 2001.

JECFA, Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization Expert Committee on Food Additives. Summary Report of the Sixty-first JECFA Meeting. Geneva: WHO, 2003.

JOHNSTON, J.N, SAVAGE, G.P. Mercury consumption and toxicity with reference to fish and fish meal. **Nutr Abstr Rev** 1991; 61 (2): 73-116

JIN, L. et al. Exposure of methyl mercury in utero and the risk of neural tube defects in a Chinese population. **Reproductive Toxicology** 61; 131–135, 2016.

KALISH, B.T. et al. Associations of prenatal maternal blood mercury concentrations with early and mid-childhood BP: a prospective study. **Environ Res**.133:327 – 33, 2014.

KASPER, D. et al. Mercury distribution in different tissues and trophic levels of fish from a tropical reservoir, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, 7(4):751-758, 2009.

KEHRIG, H.A. et al. Total and Methyl Mercury in Different Species of Molluscs from Two Estuaries in Rio de Janeiro State. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 17, No. 7, 1409-1418, 2006.

KERIN, E. J. et al. Mercury methylation by dissimilatory iron-reducing bacteria. **Appl Environ Microbiol** n. 72:7919–21, 2006.

KEHRIG,H.A.,et al., Selenium and mercury in widely consumed seafood from South Atlantic Ocean. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 2013.

KHOURY, E. D. T. et al. Manifestações neurológicas em ribeirinhos de áreas expostas ao mercúrio na Amazônia brasileira. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11,p.2307-2318. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v29n11/17.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

KIDD, K.A. et al. Biomagnification of mercury through lake trout (*Salvelinus namaycush*) food webs of lakes with different physical, chemical and biological characteristics. **Science of the Total Environment** 438, 135–143, 2012.

KIM, Y. et al. Biomonitoring of Lead, Cadmium, Total Mercury, and Methylmercury Levels in Maternal Blood and in Umbilical Cord Blood at Birth in South Korea . **Int. J. Environ. Res. Public Health**. v. 12, p.13482-13493, 2015.

KOZIKOWSKA, I. et al. Mercury concentrations in human placenta, umbilical cord, cord blood and amniotic fluid and their relations with body parameters of newborns. **Environmental Pollution**. v. 182; 256-262, 2013.

LACERDA, L.D; MALM, OLAF. Mercury contamination in aquatic ecosystems: an analysis of the critical areas. **Estudos avançados** v. 22, n. 63, p. 173-190 2008.

LAMBORG, CH. Et al. A non-steady-state compartmental model of global-scale mercury biogeochemistry with interhemispheric atmospheric gradients. **Geochim Cosmochim Acta**. 66:1105-1118, 2002.

LEMIRE, M. et al. Selenium and Mercury in the Brazilian Amazon: Opposing Influences on Age-Related Cataracts. **Environ Health Perspect** 118:1584–1589, 2010. doi:10.1289/ehp.0901284 [Online 17 August 2010]

LIMA, A.P. et al. Mercury Contamination in Fish from Santarém, Pará – Brazil. **Environmental Research**. Section A 83, 117 – 122, 2000.

LINTON, D.M; WARNER, G.F. Biological indicators in the Caribbean coastal zone and their role in integrated coastal management. **Ocean & Coastal Management** 46, 261–276, 2003.

LIU, J. et al. Genomic Analysis of the Rat Lung following Elemental Mercury Vapor Exposure. **Toxicological Sciences**. 74, 174–181, 2003.

LLOP, S. et al. Polymorphisms in abc transporter genes and concentrations of mercury in newborns—Evidence from two mediterranean birth cohorts. **PLoS ONE**, V. 9, 2014.

LODENIUS, M. e MALM, O. Mercury in the Amazon. **Rev. Environ. Contam. Toxicol**. 157: 25-52, 1998.

LORSCHIEDER, F. L. et al. Mercury exposure from "silver" tooth fillings: emerging evidence questions a tradicional dental paradigm. **The FASEB Journal**. Vol. 9, 504 – 508, 1995.

MAHAFFEY, K.R. et al. Blood Organic Mercury and Dietary Mercury Intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000. **Environmental Health Perspectives**. V. 112, n. 5, 562-570, 2004.

MALM, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. **Environ Res**. 77:73–78, 1998.

MARQUES, R. Fish Consumption during Pregnancy, Mercury Transfer, and Birth Weight along the Madeira River Basin in Amazonia. **Int. J. Environ. Res. Public Health**. 10, 2150-2163;2013. doi:10.3390/ijerph10062150

McDOWELL, M.A. et al. Hair Mercury Levels in U.S. Children and Women of Childbearing Age: Reference Range Data from NHANES 1999-2000. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 112, No. 11, pp. 1165-117, 2004.

MERCURY ANALYSIS MANUAL – Ministry of the Environment; Japan, march, 2004.

MERGLER, D. et al. Methylmercury Exposure and Health Effects in Humans: A Worldwide Concern. *Ambio* Vol. 36, No. 1, February, 2007.

MERRITT, K.A; AMIRBAHMAN, A. Mercury methylation dynamics in estuarine and coastal marine environments - A critical review. *Earth-Science Reviews* 96, 54–66, 2009.

MOZAFFARIAN, D. et al. Mercury exposure and risk of cardiovascular disease in two US cohorts. *N Engl J Med.* ;364:1116–25, 2011.

MUNTHE, J. et al. Recovery of Mercury-Contaminated Fisheries. *Ambio* Vol. 36, No. 1, 33 – 44, Feb., 2007.

MURRIETA, R. S. O dilema do papa-chibé: consumo alimentar, nutrição e práticas de intervenção na Ilha de Ituqui, baixo Amazonas, Pará. *Rev. Antropol.*, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 97-150, 1998.

MURRIETA, R.S. Dialética do sabor: alimentação, ecologia e vida cotidiana em comunidades ribeirinhas da Ilha de Ituqui, Baixo Amazonas, Pará. *Revista de Antropologia*, São Paulo, USP, V. 44 n° 2, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Toxicological effects of methylmercury. Washington (DC): Academic Press; 2000.

NELSON, PF. Atmospheric emissions of mercury from Australian point sources. *Atmos Environ.* 41:1717–1724, 2007.

NRIAGRU, JO, Becker C. Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories. *Sci Total Environ*, 304:3-12, 2003.

OGRINC, N. et al. Distribution of mercury and methylmercury in deep-sea surficial sediments of the Mediterranean Sea. *Marine Chemistry* 107; 31-48, 2007.

OSKARSSON, A. et al. Mercury levels in the hair of pregnant women in a polluted area in Sweden. *The Science of the Total Environment* 151, 29-35; 1994.

PACYNA, E.G. et al. Mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe in 2000 and their scenarios until 2020. *Sci Total Environ.* 370:147-156, 2006.

PACYNA, EG. et al. Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmos Environ*, 44:2487–2499, 2010.

PAN, H. S. et al. Deficits in the brain growth in rats induced by methylmercury treatment during the brain growth spurt. *Journal of Health Science*, 51 (1), 41-47, 2005.

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

PINHEIRO, M.C.N., NAKANISHI, J., OIKAWA, T., GUIMARÃES, G. A., QUARESMA, M., CARDOSO, B., AMORAS, W., HARADA, M., MAGNO, C., VIEIRA, J.L.F. et al. Exposição humana ao metilmercúrio em comunidades ribeirinhas do Tapajós, Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 33:265-269, 2000.

PINHEIRO, M.C.N. et al; Comparative study of human exposure to mercury in riverside communities in the Amazon region. **Braz J Med Biol Res** 39(3), 2006.

PRADO-LIMA M; Val A.L. Transcriptomic Characterization of Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) Exposed to Three Climate Change Scenarios. **PLoS ONE** 11(3): e0152366, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0152366

PROCTOR, L.K. et al. Umbilical cord diameter percentile curves and their correlation to birth weight and placental pathology. **Placenta** 34; 62-66, 2013.

POULIN, J; GIBB, H. **Evaluación de la carga de morbilidad ambiental a nivel nacional y local**. Editora, Prüss-Üstün A. Organización Mundial de la Salud, Ginebra (OMS, Serie Carga de Morbilidad Ambiental, n.º 16, 2008.

RICKETTS, P. Assessment of fish consumption and mercury exposure among pregnant women in Jamaica and Trinidad & Tobago. **Chemosphere**. 164; 462-468, 2016.

ROULET, M. et al. The geochemistry of mercury in central Amazonian soils developed on the Alter-do-Chão formation of the lower Tapajós River Valley, Pará state, Brazil. **The Science of the Total Environment**. n. 223, 1 - 24, 1998.

ROSSINI, S.R. et al. Chronic insomnia in workers poisoned by inorganic Mercury: physiological and adaptive aspects. **Arq Neuropsiquiatr**. 58(1): 32-38, 2000.

RUDGE, C.V. et al. The placenta as a barrier for toxic and essential elements in paired maternal and cord blood samples of South African delivering women. **J. Environ. Monit.** v. 11, 1322–1330, 2009.

SÁ, A.L. et al. Exposição humana ao mercúrio na região oeste do estado do Pará. **Revista Paraense de Medicina**. V.20 (1), 2006.

SALEHI, ZOHREH; SARI-ESMAILI, ABBAS. Hair mercury levels in pregnant women in Mahshahr, Iran: Fish consumption as a determinant of exposure. **Science of the Total Environment** 408; 4848–4854, 2010.

SALONEN, J. T. et al. Intake of Mercury From Fish, Lipid Peroxidation, and the Risk of Myocardial Infarction and Coronary, Cardiovascular, and Any Death in Eastern Finnish Men. **Circulation**. V. 91, Issue 3, 1995. Disponível em: <http://circ.ahajournals.org/content/91/3/645.full>.

SAKAMOTO, M. et al. Effects of methylmercury in postnatal developing rats. **Environmental Research**. 61, 43-50, 1993.

SAKAMOTO, M. et al. Declining risk of methylmercury exposure to infants during lactation. **Environmental Research** 90, 185–189, 2002.

SAKAMOTO, M. et al. Maternal and fetal mercury and *n*-3 polyunsaturated fatty acids as a risk and benefit of fish consumption to fetus. **Environ Sci Technol**. 38:3860–3863, 2004.

SAKAMOTO, M. et al. Correlations between mercury concentrations in umbilical cord tissue and other biomarkers of fetal exposure to methylmercury in the Japanese population. **Environ Res.**;103:106-111, 2007.

SAKAMOTO, M. et al. Retrospective study on temporal and regional variations of methylmercury concentrations in preserved umbilical cords collected from inhabitants of the Minamata area, Japan. **Ecotoxicol Environ Saf** 73:1144–1149, 2010.

SAKAMOTO, M. et al. Relationships between trace element concentrations in chorionic tissue of placenta and umbilical Cord tissue: Potential use as indicators for prenatal exposure. **Environmental International** 60; 106-101, 2013.

SAKAMOTO, M. et al. Significance of fingernail and toenail Mercury concentrations as biomarkers for prenatal methylmercury exposure in relation to segmental hair mercury concentrations. **Environmental Research** 136; 289–294, 2015.

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** 149; 282–287, 2016.

SALGADO, P.E.T. Metais em Alimentos. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo. Atheneu, p. 405-426, 2003.

SALIN, N.E. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34:43–63, 2009.

SANTOS, E. et al. Mercury Exposures in Riverside Amazon Communities in Para, Brazil. **Environmental Research Section A** 84, 100 – 107, 2000.

SARTORI, A.G.O; AMÂNCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 19(2): 83-93, 2012.

SHENKER, B.J. et al. Mercury-Induced Apoptosis in Human Lymphoid Cells: Evidence That the Apoptotic Pathway Is Mercurial Species Dependent. **Environmental Research Section A**, **84**, 89 – 99, 2000.

SILVA, A. L. da. Comida de gente: preferências e tabus alimentares entre os ribeirinhos do Médio Rio Negro (Amazonas, Brasil). **Rev. Antropol.**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 125-179, 2007.

SONODA, D. **Demanda por pescados no Brasil entre 2002 e 2003**. 2006. 119f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2006.

STRAKA, E. et al. Mercury toxicokinetics of the healthy human term placenta involve amino acid transporters and ABC transporters. *Toxicology*. V. 340, p. 34–42, 2016.

SUZUKI, T. et al. **Mercury Analysis Manual**. Ministry of the Environment – Japan. March, 2004.

TAKEUCHI, T. et al. A Pathological Study of Minamata Disease in Japan. *Acta Neuropathologica* 2, 40-57; 1962.

THURSTON, S.W. et al. Does prenatal methylmercury exposure from fish consumption affect BP in childhood? *Neurotoxicology*. 28:924–30, 2007.

VUPPUTURI, S. et al. Blood mercury level and blood pressure among US women: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. *Environmental Research* n. 97; 195–200, 2005.

WANG, H.S. et al. Mesenchymal Stem Cells in the Wharton’s Jelly of the Human Umbilical Cord. *Stem Cells* ;22:1330–1337, 2004.

WASSERMAN, J.C. et al. O ciclo do mercúrio no ambiente amazônico. **Mundo & Vida** vol. 2 (1/2), 2001.

WHO – World Health Organization, 2008. Guidance for identifying populations at risk from Mercury exposure. UNEP DTIE Chemicals Branch and **WHO Department** of Food Safety, Geneva, Switzerland, Zoonoses and Food borne Diseases, 2008.

XAVIER, B.T.L. **Mineralogia e teores naturais de metais pesados em solos da bacia sedimentar Amazônica**. 2013. 119f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Minas Gerais, 2013.

XUE, F. et al. Maternal fish consumption, mercury levels and risk of preterm delivery. *Environm Health Perspect* 115; 42-47, 2007.

YASUTAKE, A. et al. Current hair mercury levels in Japanese: survey in five districts. *Tohoku J Exp Med*. 199:161–169, 2003.

YOSHIZAWA, K. et al. Mercury and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med*. 347:1755–60, 2002.

ZAREBA, G. et al. Validity of methyl mercury hair analysis: Mercury monitoring in human scalp/nude mouse model. *J. Appl. Toxicol*. 28: 535–542, 2000

ANEXO 1



HOSPITAL
MUNICIPAL
DE SANTARÉM

Av. Pres. Vargas, N.º 1539 - Santa Clara - CEP 68005-110
CNPJ 05.182.233/0001-76 Fone: 3523 - 2155 / Fax: 3523 2175
Hmssemsa.stm@gmail.com

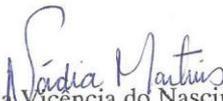


CARTA DE ACEITE INSTITUCIONAL

Em nome do **Hospital Municipal de Santarém (HMS)**, declaro ter conhecimento do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação de mercúrio total na população da região oeste do Pará - Santarém**”, de autoria das pesquisadoras **Melina Laise Nascimento dos Santos e Naelka dos Anjos Fernandes**, pós graduandas do curso de Mestrado em Biociências da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), dando-lhes consentimento para execução do projeto de pesquisa para fins de produção da Dissertação de Mestrado, em **dias e horários previamente acordados**.

Necessário, porém se faz, que **antes** da apresentação e ou publicação dos resultados, **o trabalho final seja apresentado** a esta Instituição Hospitalar com o escopo de analisar e discutir os resultados obtidos, ficando em caráter obrigatório a citação da Universidade Federal do Oeste do Pará e do Hospital Municipal de Santarém, como locais de realização da pesquisa.

Santarém, 06 de maio de 2016.


Enf. Msc. Nádia Vicência do Nascimento Martins
Coordenação de Educação Continuada



APÊNDICE 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCLE n°: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO: “Avaliação da exposição pré-natal de mercúrio total em gestantes de Santarém – Pará”.

FINALIDADE DA PESQUISA:

Vários estudos comprovam a contaminação por mercúrio na região amazônica. A presença desse metal no meio ambiente expõe a população ao risco de contaminação e efeitos danosos à saúde. Diante deste fato, a proposta desse estudo é avaliar os níveis de mercúrio total em gestantes da cidade de Santarém, localizada no Estado do Pará.

METODOLOGIA:

Serão coletadas amostras de cabelos, unhas e placenta de gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde na cidade de Santarém. Nas participantes da pesquisa também serão avaliados peso, altura e pressão arterial. As coletas ocorrerão de acordo com a disponibilidade das mesmas e após a assinatura deste termo. Também será aplicado um questionário para obtenção de informações como ocupação, renda familiar, hábitos alimentares dentre outros. A coleta de dados será realizada somente pela pesquisadora do presente estudo.

DESTINO DAS INFORMAÇÕES DO SUJEITO PESQUISADO:

As informações obtidas serão utilizadas somente para a presente pesquisa e serão analisadas em conjunto com as de outras voluntárias, não sendo divulgada qualquer informação que possa levar a sua identificação. Haverá a coleta de materiais biológicos (cabelo, unha e placenta). Os questionários serão arquivados pela pesquisadora e queimados pelos mesmos após cinco anos de finalizada a pesquisa.

RISCOS, PREVENÇÃO E BENEFÍCIOS PARA O SUJEITO DA PESQUISA:

No decorrer da coleta de dados os participantes estão sujeitos a alguns riscos, como perfurações indesejadas e cortes inadequados durante a coleta de unhas e cabelos, bem como constrangimentos no ato das referidas coletas. Nestes casos, os procedimentos serão imediatamente interrompidos e priorizados a atenção ao participante até seu reestabelecimento completo. Caso algum voluntário (a) sinta-se constrangido e incomodado com o procedimento, as pesquisadoras procurarão de forma mais respeitosa possível contornar a situação procurando realizar a coleta em ambiente reservado a fim de não expor o participante. Com o intuito de evitar estas intercorrências, orientações serão dadas aos mesmos sobre os procedimentos da coleta, como por exemplo, o posicionamento adequado do voluntário e a forma exata de coleta das unhas e cabelos; será utilizada tesoura de ponta romba curva para evitar ao máximo os possíveis riscos de perfurações e cortes. Vale ressaltar que todas as coletas serão realizadas especificamente pelas pesquisadoras que estarão presentes durante todo procedimento.

GARANTIAS E INDENIZAÇÕES:

Será garantido ao participante a preservação de sua identidade e a liberdade de deixar de participar do estudo, sem nenhum prejuízo. Em qualquer momento do estudo o mesmo terá acesso aos pesquisadores responsáveis pela pesquisa, para esclarecimento de dúvidas, bem como informações a respeito dos resultados. Quaisquer tipos de dano comprovadamente causado pelos procedimentos a serem realizados serão reparados e a participante terá direito a ressarcimento de qualquer prejuízo causado e a indenização segundo a lei vigente.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS:

A pesquisadora deste projeto é a aluna de mestrado Naelka dos Anjos Fernandes, que pode ser encontrada na Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, endereço: Rua Vera Paz, s/n, bairro Salé – Prédio da Pós Graduação ou pelo celular 093 99116-1374 ou pelo e-mail: naelkafernandes@hotmail.com. Caso não seja localizada, poderá ainda ser contatado o

pesquisador responsável Prof. Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira, orientador da pesquisa que pode ser encontrado na Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, situada na Avenida Marechal Rondon, s/n – Caranazal ou pelo celular 093 98115-6651 ou pelo e-mail: rbo@ufpa.br. Além destes, poderá também ter esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa localizado na Av. Plácido de castro, 1399, Aparecida, CEP 68040-090, Universidade do Estado do Pará, Santarém-PA ou pelo telefone 093-3512-8000/3512-8013. Você assinará duas vias deste documento, sendo que uma ficará com as pesquisadoras responsáveis e o outro ficará com você para esclarecimento de dúvidas que possam surgir posteriormente.

FINANCIAMENTOS

Este trabalho será realizado com recursos dos próprios pesquisadores e financiamento ou co-participação da instituição de pesquisa – Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA. Não há despesas pessoais para o participante no estudo. Também não haverá nenhum pagamento aos voluntários pela participação na pesquisa.

DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações do que li e que me foram explicadas sobre o trabalho em questão. Discuti com os responsáveis da pesquisa sobre minha decisão em participar nesse estudo, ficando claro quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a serem realizadas, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos.

Ficou claro também que a minha participação não será paga, não terei despesas, poderei desistir a qualquer momento de participar da pesquisa.

Concordo voluntariamente em participar desse estudo podendo retirar meu consentimento a qualquer momento, sem necessidade de justificar o motivo da desistência, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízos. Estou ciente de que serei submetido (a) a coleta de material biológico (cabelos, unhas e placentas). Sendo-me assegurado pelas autoras da pesquisa a garantia de anonimato das informações.

Santarém, _____, de _____ de 2016.

Assinatura do(a) voluntário(a)/ ou responsável

Declaro que assisti a explicação das pesquisadoras e que compreendi tudo que será realizado na pesquisa.

Assinatura de testemunha

Declaro que assisti a explicação das pesquisadoras, e que o (a) voluntário(a) compreendeu e retirou suas dúvidas, assim como eu, a tudo o que será realizado na pesquisa.

Pesquisadora Responsável

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste voluntário para participação no presente estudo.

ANEXO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

DECLARAÇÃO

DECLARO, para os devidos fins, que tenho ciência do pré-projeto intitulado **“AVALIAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NA POPULAÇÃO OESTE DO PARÁ-SANTARÉM**, o qual terá suas análises realizadas no Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, de autoria das alunas **NAELKA DOS ANJOS FERNANDES E MELINA LAISE NASCIMENTO DOS SANTOS**, regularmente matriculadas no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, nível **MESTRADO**, com números de matrícula 201410092 e 201410091, respectivamente, com início em 10/2014 e término em 10/2016.

Santarém – Pa, 14 de outubro de 2015.

Antônio Humberto Hamad Minervino
Coordenador Adjunto do PPGBiotecnologia

Antônio Humberto Hamad Minervino
Professor UFOPA
SIAPE: 1000.0000

APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO

n°: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

PROJETO: “Avaliação da exposição pré-natal de mercúrio total em gestantes de Santarém – Pará”.

Data ____/____/____

A – PERFIL DO VOLUNTÁRIO:

NOME:

1. Idade: _____
2. Endereço: _____ Telefone: _____
3. Estado civil: _____
4. Raça: () branca, () negra, () parda () asiático
5. Peso: _____, Altura: _____
6. Pressão arterial ____/____
7. Ocupação: _____
8. Trabalha/Trabalhou em garimpo/casa de compra de ouro/ extração de ouro? () sim, () não. Quanto tempo? _____
9. Residiu em região de garimpo? () sim, () não. Quanto tempo? _____
10. Nível de Escolaridade: () ensino fundamental; () ensino médio; () ensino superior incompleto; () ensino superior completo; () outro _____
11. Você já teve (0) ou tem (X)?
() malária, () dengue, () febre amarela, () problemas cardíacos, () hepatite, () pressão arterial alta, () pressão artéria baixa, () algum tipo de câncer, qual? _____
Outras
() dor de cabeça, () visão embaçada, () tonturas, () tremores, () diminuição de concentração
12. Você tem filhos? _____, Quantos? _____, Algum nasceu com problemas neurológicos? _____, Quantos? _____

B - HÁBITOS ALIMENTARES:

Qual a origem da água que você ingere? () poço () rios () mineral () torneira

Quantas vezes você comeu peixe por semana? (Período gestacional)

() 1x por semana () 2x por semana () 3x por semana () Todos os dias

Qual a quantidade por refeição? (Período gestacional)

() 50g, () 100g, () 200g,

Quais peixes você comeu entre dezembro a maio (período de defeso)?

Por favor assinale em ordem de consumo: 1: mais consumido, 2: segundo mais consumido e assim sucessivamente.

() pescada branca, () surubim, () aracú, () filhote, () matrinxã, () acarí, () caratinga, () pirarucu, () dourada, () tucunaré, () apapá, () aruanã, () curimatá, () tambaqui, () charutinho, () pacú, () pirarara, () pirapitinga () Jaraqui

Quais peixes você comeu entre junho a novembro?

Por favor assinale em ordem de consumo: 1: mais consumido, 2: segundo mais consumido e assim sucessivamente.

() pescada branca, () surubim, () aracú, () filhote, () matrinxã, () acarí, () caratinga, () pirarucu, () dourada, () tucunaré, () apapá, () aruanã, () curimatá, () tambaqui, () charutinho, () pacú, () pirarara, () pirapitinga () Jaraqui

Açaí: () nunca, () 1-2/semana, () 3-4/semana, () todo dia, () vezes

Castanha do Pará: () nunca, () 1-2/semana, () 3-4/semana, () todo dia, () vezes

Come alguma fruta: () nunca, () 1-2/semana, () 3-4/semana, () todo dia, () vezes

Qual fruta? _____

Você recebeu alguma orientação sobre o não consumo de peixes carnívoros durante a gestação? Sim() Não ()

ANEXO 3 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO PARÁ - CAMPUS XII -
TAPAJÓS UEPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NA POPULAÇÃO OESTE DO PARÁ - SANTARÉM

Pesquisador: RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50534215.7.0000.5168

Instituição Proponente: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Campus XII/UEPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.358.319

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado que visa estudar AVALIAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NA POPULAÇÃO OESTE DO PARÁ - SANTARÉM. Trata-se de uma investigação observacional, qualitativa/quantitativa de caráter analítico e exploratório, cujo OBJETIVO é Avaliar a presença de mercúrio total em populações da região oeste do Pará. Como METODOLOGIA o estudo coletará amostras de cabelos e unhas das populações residentes na cidade de Santarém, assim como também será coletado amostras de cabelos, unhas e placentas de gestantes doadoras que utilizam o Sistema Único de Saúde do mesmo município, além disso será realizada medição de peso, altura e pressão arterial dos participantes da pesquisa. Como critério de participação da pesquisa observa-se: Ser residente no município de Santarém; Gestantes residentes no município de Santarém; Com idade entre 18 e 59 anos; Coletar unhas e cabelos do mesmo participante; Assinar o TCLE. Como critério de exclusão: Utilizar produtos químicos nos cabelos (tinturas e permanentes) em até 6 meses antes da participação na pesquisa; Apresentar cabelos de

Endereço: Av. Plácido de Castro, 1399
Bairro: Aparecida CEP: 68.040-090
UF: PA Município: SANTAREM
Telefone: (93)3512-8013 Fax: (91)3276-8052 E-mail: mgotystf@gmail.com

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO PARÁ - CAMPUS XII -
TAPAJÓS UEPA



Continuação do Parecer: 1.358.319

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18:30:03	DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.docx	28/10/2015 17:47:48	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	SECRETARIA.pdf	27/10/2015 20:55:03	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LABORATORIO.pdf	13/10/2015 22:51:27	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	UEPA.pdf	13/10/2015 22:50:16	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	UFOPAA.pdf	13/10/2015 22:49:09	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	ORIENTADOR.pdf	08/10/2015 14:45:29	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	08/10/2015 14:44:07	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	UFOPA.pdf	06/10/2015 17:02:06	RICARDO BEZERRA DE OLIVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SANTAREM, 09 de Dezembro de 2015

Assinado por:

Maria Goreth Silva Ferreira
(Coordenador)

Endereço: Av. Plácido de Castro, 1399

Bairro: Aparecida

CEP: 68.040-090

UF: PA

Município: SANTAREM

Telefone: (93)3512-8013

Fax: (91)3276-8052

E-mail: mgotystf@gmail.com

ANEXO 4 – AUTORIZAÇÃO DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE



CARTA DE ACEITE

Em nome da Secretaria Municipal de Saúde declaro ter conhecimento do projeto de pesquisa intitulado **"AVALIAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NA POPULAÇÃO OESTE DO PARÁ - SANTARÉM-PA"** de autoria das acadêmicas de Mestrado, **Melina Laíse Nascimento dos Santos e Naelka dos Anjos Fernandes**, dando-lhe consentimento para realizar o trabalho nesta instituição, *Hospital Municipal de Santarém* e coletar dados em nosso serviço, após a aprovação do projeto em questão ao Comitê de Ética, o qual é pré-requisito para o início da pesquisa.

Necessário, porém, se faz que antes da publicação dos resultados o trabalho seja apresentado a esta Secretaria Municipal de Saúde com o escopo de analisar e discutir os resultados obtidos, sendo obrigatório citar na publicação o nome da Universidade Federal do Oeste do Pará/UFOPA e da Secretaria Municipal de Saúde, como locais de realização da pesquisa.

Santarém, 23 de Outubro de 2015.

Rodenilda Oliveira Barroso
Rodenilda Oliveira Barroso
Divisão Técnica

ANEXO 5 – AUTORIZAÇÃO UFOPA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

DECLARAÇÃO

Declaro ter conhecimento do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação de mercúrio total na população Oeste do Pará – Santarém-Pa**” de autoria das alunas de mestrado Melina Laíse Nascimento dos Santos e Naelka dos Anjos Fernandes e sob orientação do prof. Dr Ricardo Bezerra de Oliveira da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA).

Santarém – Pa, 29 de setembro de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Antônio Humberto Hamad Minervino', written over a horizontal line.

Antônio Humberto Hamad Minervino
Coordenador Adjunto do PPGBiociências

ANEXO 6 – ACEITE DO ORIENTADOR

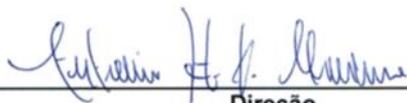
DECLARAÇÃO

DECLARO em nome da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, ter conhecimento do pré-projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NA POPULAÇÃO OESTE DO PARÁ - SANTARÉM**”, de autoria das alunas **NAELKA DOS ANJOS FERNANDES E MELINA LAISE NASCIMENTO DOS SANTOS**, regularmente matriculadas no Programa de Pós-Graduação em Biociências, nível **MESTRADO**, sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Bezerra de Oliveira. Dou-lhes consentimento para realizarem o trabalho nesta Instituição e coletar dados em nosso espaço físico durante o período preestabelecido no cronograma.

Santarém (PA), 13 de Outubro de 2015.



Prof. Dr Ricardo Bezerra de Oliveira
Assinatura do Orientador
UFOPA – Campus Santarém



Direção
Universidade Federal do Oeste do Pará- UFOPA
Campus Santarém



Prof. Dr. Antônio M. H. Amorim
Direção de Pesquisa
Pós-graduação em Biociências
Pós-graduação em Biociências de 2014